

ISSN 0077-4715  
CODEN : ESKHA 5

# 衛生試験所報告

平成7年

*Bulletin of  
National Institute of  
Health Sciences*

No. 113

1995



国立衛生試験所

# 衛生試験所報告

平成7年

---

## *Bulletin of National Institute of Health Sciences*

No. 113 1995

Published by  
National Institute of Health Sciences  
Tokyo, Japan

---

国立衛生試験所

## 目 次

## 総 説

化学物質の免疫毒性……………澤田純一…… 1

## 報 文

防かび剤 N-(fluorodichloromethylthio)phthalimide のラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験  
……………松島裕子・津田充宥・内藤克司・齊藤 実・伊佐間和郎・五十嵐良明・川崎 靖・  
門馬純子・北嶋 聡・鹿庭正昭・土屋利江・中村晃忠・井上 達・黒川雄二……19

ステビオサイドのラットを用いた催奇形性試験  
……………宇佐見 誠・酒見和枝・川島邦夫・津田充宥・大野泰雄……31

$\beta$ -cyclodextrin 13 週間経口投与 F344 ラットにおける肝病変  
……………豊田和弘・林 修次・畝山智香子・川西 徹・高田幸一・高橋道人……36

ジョサマイシンの F344 ラットにおける 13 週間亜慢性毒性試験  
……………池崎信一郎・西川秋佳・古川文夫・今沢孝喜・三井雅之・榎並倫宣・高橋道人……44

Bromodichloromethane 投与ラットに誘発された cholangiofibrosis の細胞増殖活性  
……………安原加壽雄・三森国敏・会田喜崇・小野寺博志・高橋道人……51

乳酸鉄 26 週間混餌投与ラットにおける毒性  
……………竹川 潔・安原加壽雄・三森国敏・小野寺博志・下 武男・高橋道人……58

## ノ ー ト

小胞体  $Ca^{2+}$ ATPase 阻害剤, 2,5-ジ-tert-ブチルヒドロキノンのラットにおける  
単回経口投与毒性試験—モノ-tert-ブチルヒドロキノンの比較—  
……………北嶋 聡・江下希美・鹿庭正昭・松島裕子・齊藤 実・門馬純子・  
津田充宥・川島邦夫・井上 達・黒川雄二……64

## 研究に関する資料

糖鎖含有タンパク製剤の品質評価試験法に関する研究 (I)—エリスロポエチン製剤  
……………川崎ナナ・森本和滋・早川堯夫……69

輸入イズミダイ中の一酸化炭素の検査  
……………武田由比子・川崎洋子・杉田たき子・坂元史歩・佐藤恭子・吉田 良・  
米谷民雄・石綿 肇・山田 隆……74

食品添加物としてのポリビニルピロリドンの成分規格に関する検討  
……………川崎洋子・武田由比子・石綿 肇・山田 隆……77

漆器からの鉛およびカドミウムの溶出……………河村葉子・杉田たき子・辻 郁子・山田 隆……81

農薬の安全性評価の新しい動き—IPCS 農薬合同会議 (JMP) について—……………関沢 純……84

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 (1994 年度) ……………大竹千代子……91  
平成 6 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  
……………石光 進・梅本美佳・三島郁子・辻 澄子・柴田 正……97

## 標準品に関する資料

国立衛生試験所エルゴカルシフェロール標準品 (Control 941)  
……………北島 文・前川京子・吉井公彦・小松裕明・谷本 剛・岡田敏史…… 101

国立衛生試験所コレカルシフェロール標準品 (Control 941)  
……………北島 文・前川京子・吉井公彦・小松裕明・谷本 剛・岡田敏史…… 104

国立衛生試験所酢酸プレドニゾン標準品 (Control 941)  
……………北島 文・前川京子・吉井公彦・小松裕明・谷本 剛・岡田敏史…… 107

国立衛生試験所吉草酸ベタメタゾン標準品 (Control 941)……………北島 文・谷本 剛・岡田敏史…… 111  
国立衛生試験所グリチルリチン酸標準品 (Control 941)

|  |                       |
|--|-----------------------|
| .....岡田敏史・北島 文・谷本 剛・鈴木英世・佐竹元吉...       | 114                   |
| 国立衛生試験所塩化ベルベリン標準品 (Control 941)        |                       |
| .....岡田敏史・北島 文・谷本 剛・鈴木英世・佐竹元吉...       | 121                   |
| 国立衛生試験所ウリナスタチン標準品 (Control 941).....   | 前川京子・谷本 剛・岡田敏史... 127 |
| 国立衛生試験所胎盤性性腺刺激ホルモン標準品 (Control 941)    |                       |
| .....江馬 真・黒坂麗子・天野博夫・中川ゆかり・村井敏美・小川義之... | 131                   |
| 国立衛生試験所硫酸プロタミン標準品 (Control 941)        |                       |
| .....谷本 剛・石光 進・北島 文・岡田敏史...            | 133                   |
| <b>ステートメント</b>                         |                       |
| <b>レギュラトリーサイエンス討論会</b>                 |                       |
| 新医薬品の規格および試験方法の設定に関する技術的問題点について.....   | 内山 充... 135           |
| 日本薬局方にみがきをかけるために一定量法について.....          | 石橋無味雄... 137          |
| 生菜および生菜製剤の国際的な動き.....                  | 佐竹元吉... 140           |
| 酵素製剤の品質確保のあり方.....                     | 谷本 剛・早川堯夫... 143      |
| レギュラトリーサイエンス関連会議報告.....                | 146                   |
| 業務報告.....                              | 159                   |
| 特別研究報告.....                            | 210                   |
| 誌上発表.....                              | 217                   |
| 単行本.....                               | 282                   |
| 行政報告.....                              | 284                   |
| 学会発表.....                              | 290                   |
| 衛試例会.....                              | 315                   |
| 平成6年度に行った主な研究課題.....                   | 319                   |
| 国家検定および検査等の処理状況.....                   | 327                   |
| 国立衛生試験所標準品.....                        | 332                   |
| 衛生試験所報告第113号キーワード索引.....               | 343                   |



## CONTENTS

**Review**

|  |   |
|--|---|
| Jun-ichi Sawada: Immunotoxicity of Chemicals ..... | 1 |
|--|---|

**Originals**

|  |    |
|--|----|
| Yuko Matsushima, Mitsuhiro Tsuda, Katsushi Naito, Minoru Saitoh, Kazuo Isama,<br>Yoshiaki Ikarasi, Yasushi Kawasaki, Junko Monma, Satoshi Kitajima, Msaaki Kaniwa,<br>Toshie Tsuchiya, Akitada Nakamura, Tohru Inoue and Yuji Kurokawa:<br>Twenty-eight Days Repeated Dose Toxicity Test of<br>N-(fluorodichloromethylthio)phthalimide in Rats ..... | 19 |
| Makoto Usami, Kazue Sakemi, Kunio Kawashima, Mitsuhiro Tsuda and Yasuo Ohno:<br>Teratogenicity Study of Stevioside in Rats .....   | 31 |
| Kazuhiro Toyoda, Shuji Hayashi, Chikako Uneyama, Toru Kawanishi, Kouichi Takada<br>and Michihito Takahashi: Hepatic Lesions in F344 Rats Treated Orally with<br>$\beta$ -cyclodextrin for 13 Weeks .....   | 36 |
| Shinichiro Ikezaki, Akiyoshi Nishikawa, Fumio Furukawa, Takayoshi Imazawa,<br>Masayuki Mitsui, Tomonori Enami and Michihito Takahashi:<br>A 13-Week Subchronic Toxicity Study of Josamycin in F344 Rats .....  | 44 |
| Kazuo Yasuhara, Kunitoshi Mitsumori, Yoshitake Aida, Hiroshi Onodera<br>and Michihito Takahashi: Cell Proliferative Activities of Cholangiofibrosis<br>Induced in Rats Treated with Bromodichloromethane .....   | 51 |
| Kiyoshi Takegawa, Kazuo Yasuhara, Kunitoshi Mitsumori, Hiroshi Onodera, Takeo Shimo<br>and Michihito Takahashi: Toxicity in Rats Fed Diet Containing Iron Lactate<br>for 26 Weeks .....  | 58 |

**Notes**

|   |    |
|---|----|
| Satoshi Kitajima, Nozomi Eshita, Masaaki Kaniwa, Yuko Matsushima, Minoru Saitoh,<br>Junko Monma, Mitsuhiro Tsuda, Kunio Kawashima, Tohru Inoue and Yuji Kurokawa:<br>Comparative Studies on a Single Dose Toxicity of Microsomal $Ca^{2+}$ ATPase<br>Inhibitor, 2,5-di(tert-butyl)-1,4-hydroquinone and its Related Analog,<br>mono(tert-butyl)-1,4-hydroquinone, in Rats ..... | 64 |
|---|----|

**Technical Data**

|   |    |
|---|----|
| Nana Kawasaki, Kazushige Morimoto and Takao Hayakawa: Study on Evaluating<br>Methods for the Quality Control of Glycoprotein Products (1)<br>—Erythropoietin Products .....                           | 69 |
| Yuiko Takeda, Yoko Kawasaki, Takiko Sugita, Shiho Sakamoto, Kyoko Sato, Ryo Yoshida,<br>Tamio Maitani, Hajimu Ishiwata and Takashi Yamada: Inspection of Carbon Monoxide<br>in Imported Tilapia ..... | 74 |
| Yoko Kawasaki, Yuiko Takeda, Hajimu Ishiwata and Takashi Ymamada:<br>A Study on the Establishment of the Specification of Polyvinylpyrrolidone<br>as a Food Additive .....                            | 77 |
| Yoko Kawamura, Takiko Sugita, Ikuko Tsuji and Takashi Yamada:<br>Migration of Lead and Cadmium from Lacquered Tableware .....   | 81 |
| Jun Sekizawa: A New Programme on Safety Evaluation of Pesticides<br>—The IPCS Joint Meeting on Pesticides (JMP)— .....  | 84 |
| Chiyoko Ohtake: First Drafts of the Environmental Health Criteria (EHC)   |    |

|   |     |
|---|-----|
| Circulated for Comments by IPCS in 1994~1995 .....  | 91  |
| Susumu Ishimitsu, Mika Umemoto, Ikuko Mishima, Sumiko Tsuji and Tadashi Shibata:<br>Estimated Production by the Official Inspection of Coal-Tar Dyes<br>(including Dye Aluminum Lakes) in 1994 .....                    | 97  |
| <b>Reference Standard Data</b>  |     |
| Aya Kitajima, Keiko Maekawa, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu, Tsuyoshi Tanimoto<br>and Satoshi Okada: Ergocalciferol Reference Standard (Control 941)<br>of the National Institute of Health Sciences .....            | 101 |
| Aya Kitajima, Keiko Maekawa, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu, Tsuyoshi Tanimoto<br>and Satoshi Okada: Cholecalciferol Reference Standard (Control 941)<br>of the National Institute of Health Sciences .....           | 104 |
| Aya Kitajima, Keiko Maekawa, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu, Tsuyoshi Tanimoto<br>and Satoshi Okada: Prednisolone Acetate Reference Standard (Control 941)<br>of the National Institute of Health Sciences .....      | 107 |
| Aya Kitajima, Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada: Betamethasone Valerate Reference<br>Standard (Control 941) of the National Institute of Health Sciences .....  | 111 |
| Satoshi Okada, Aya Kitajima, Tsuyoshi Tanimoto, Hideyo Suzuki and Motoyoshi Satake:<br>Glycyrrhithinic Acid Reference Standard (Control 941)<br>of the National Institute of Health Sciences .....                      | 114 |
| Satoshi Okada, Aya Kitajima, Tsuyoshi Tanimoto, Hideyo Suzuki and Motoyoshi Satake:<br>Berberine Hydrochloride Reference Standard (Control 941)<br>of the National Institute of Health Sciences .....                   | 121 |
| Keiko Maekawa, Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada: Ulinastatin Reference<br>Standard (Control 941) of the National Institute of Health Sciences .....  | 127 |
| Makoto Ema, Reiko Kurosaka, Hiro Amano, Yukari Nakagawa, Toshimi Murai<br>and Yoshiyuki Ogawa: The Human Chorionic Gonadotrophin Reference<br>Standard (Control 941) of the National Institute of Health Sciences ..... | 131 |
| Tsuyoshi Tanimoto, Susumu Ishimitsu, Aya Kitajima and Satoshi Okada:<br>Protamine Sulfate Reference Standard (Control 941)<br>of the National Institute of Health Sciences .....  | 133 |
| <b>Statements</b>   |     |
| <b>Regulatory Science Forum</b>   |     |
| Mitsuru Uchiyama: Technical Implications on the Quality Standard of New Drugs .....   | 135 |
| Mumio Ishibashi: Improving on the Japanese Pharmacopeia-On Assays and Determinations .....  | 137 |
| Motoyoshi Satake: Globalization of Herbal Medicines .....   | 140 |
| Tsuyoshi Tanimoto and Takao Hayakawa: Requirement for Quality Control<br>of Enzyme Preparations .....   | 143 |
| <b>Meeting Reports Related to Regulatory Science</b> .....  |     |
| <b>Annual Reports of Divisions</b> .....  |     |
| <b>Report of Collaborative Study</b> .....  |     |
| <b>Summaries of Papers Published in Other Journals</b> .....  |     |
| <b>Title of Scientific Books</b> .....  |     |
| <b>Scientific Reports to Governmental Agencies</b> .....  |     |
| <b>Titles of Speeches at Scientific Meetings etc.</b> .....   |     |
| <b>NIHS Seminars</b> .....  |     |

---

|  |     |
|--|-----|
| <b>Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 1994</b> .....                    | 319 |
| <b>Survey of the Results of National Tests</b> .....                                   | 327 |
| <b>Reference Standards Prepared by the National Institute of Health Sciences</b> ..... | 332 |
| <b>Subject Index</b> .....   | 343 |

## 化学物質の免疫毒性

澤 田 純 一

## Immunotoxicity of chemicals

Jun-ichi Sawada

Immunotoxicity is the detrimental effects of xenobiotics on immune functions of hosts, which result in enhanced susceptibility to infectious agents and tumours. A variety of environmental chemicals, such as pharmaceuticals, food additives, contaminating chemicals in food and drinking water, pesticides, and airborne chemicals, have been reported to exert immunotoxic effects on experimental animals and humans.

In this paper, the mechanisms of immune responses, the effects of typical immunotoxic chemicals on the immune systems, and the methods for detecting immunotoxicity were described. In addition, the strategies and guidelines for immunotoxicity assessment were briefly outlined and discussed.

**Keywords** : immunotoxicity, chemicals, immunotoxicity testings, risk assessment, guidelines

(Received May 31, 1995)

## 1. はじめに

免疫毒性 (immunotoxicity) とは、化学物質等の外来性物質 (xenobiotics) が宿主の免疫系に影響を与え、病原体や腫瘍への抵抗性の低下等の生体にとって有害な作用をもたらすことを示す言葉であり、免疫毒性学 (immunotoxicology) は種々の免疫毒性物質による免疫毒性の性質を明らかにし、その毒性の発現機構を追求する学問分野と考えられる。ヒトの健康への影響を正しく評価することが究極の目的であることはいうまでもない。免疫系に対する化学物質の影響が注目され始めたのは、1980年代の前半に逆のぼる。筆者がトキシコロジーフォーラム誌に「環境化学物質の免疫毒性」という拙文<sup>1)</sup>を記した1986年の時点で、既に、免疫毒性物質のプロトタイプといえる物質がリストアップされ、方法論上の大きな流れは定まっていたように思われる。本稿では、その後の10年間の免疫毒性学領域の進歩を中心に紹介していきたい。種々の化学物質によりもたらされる生体にとって不都合な免疫系への作用の中にはアレルギーも当然含まれる。したがって、'広義'の免疫毒性には、化学物質が免疫原として働きアレルギー反応を惹起するアレルギー原性も含まれる。しかし、本稿でいう免疫毒性とは、免疫

系細胞に抗原非特異的に作用しその免疫機能に有害な作用を及ぼす (免疫不全や免疫異常亢進をもたらす) 場合の '狭義' の免疫毒性を対象を限った。

免疫系は '非自己' とみなされる外来性または内在性の異物の排除を担当する防御システムの一つであるが、極めて複雑な制御を受けている。免疫系は異なる機能を有する複数の細胞群より構成され、その関連器官が全身に散在し、それらの間を免疫系細胞が循環交通するという点で、他の毒性標的器官と大きく異なっている。さらに、免疫系、内分泌系、神経系は相互に連係し、お互いに影響を及ぼしあっていることが、近年明らかにされてきており、内分泌系および神経系からの影響に基づく二次的な免疫機能の調節という現象を、免疫毒性研究において無視できないことが示されている。これら免疫系に固有の多様性や複雑さが、免疫毒性学の発展を阻害している点は否めないが、その反面、学問対象としては、興味をそそる点でもあり、免疫薬理学と軌を一にして、今後の発展が期待される分野と思われる。

いずれにせよ、免疫不全の状態では、病原体や腫瘍への抵抗性の低下の結果、感染症や悪性腫瘍の発生率の上昇がもたらされ、免疫異常亢進では、アレルギーおよび自己免疫の発現率の上昇がもたらされる。医薬品、医薬部外品、食品添加物、家庭用品に

Table 1. Typical immunotoxic chemicals

|                                       |  |
|---------------------------------------|--|
| Polyhalogenated aromatic hydrocarbons | 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD), polychlorinated biphenyls (PCBs), polybrominated biphenyls (PBBs), hexachlorobenzene (HCB) |
| Polycyclic aromatic hydrocarbons      | 7,12-dimethylbenz[a]anthracene, benzo[a]pyrene (BaP), 3-methylcholanthrene   |
| Metals                                | lead, mercury, cadmium, vanadium   |
| Organotins                            | bis(tri-n-butyl)tin oxide (TBTO), tri-n-butyltin chloride (TBTC), di-n-octyltin dichloride, di-n-butyltin dichloride                   |
| Mycotoxins                            | aflatoxin B1, ochratoxin A, deoxynivalenol, T-2 toxin, zearalenone   |
| Airborne particles                    | asbestos, silica   |
| Gases                                 | nitrogen oxide, ozone  |
| Therapeutic drugs                     | diethylstilbestrol, cyclophosphamide, thalidomide, suramin, chlorpromazine, lithium chloride, diphenylhydantoin, D-penicillamin        |
| Drugs of abuse                        | morphine, cannabinoids, cocaine, ethanol   |
| Organic solvents                      | benzene, toluene, xylene   |
| Others                                | dimethylnitrosoamine, benzidine  |

用いられる化学物質、農薬、食品や飲料水に含まれる汚染化学物質、労働環境中の化学物質、大気から由来する化学物質等、生活環境に存在する物質の中にも、免疫機能の異常をもたらすものが既に数多く報告されており<sup>1-5)</sup> (Table 1)、免疫毒性を有する化学物質のスクリーニング、さらに安全性評価への免疫毒性の適用は、今後とも重要な課題の一つと考えられる。

本稿では、以下、典型的な免疫毒性を示すいくつかの化学物質を例に、免疫毒性のプロトタイプを示した後、免疫毒性の検出系、さらに関連の諸問題について議論を進めていきたい。

## 2. 免疫系を構成する細胞群と化学物質による免疫機能障害の例

免疫系を構成する器官および細胞群は多岐にわたり、その解説を行うことは、本稿の目的ではないので、他の成書<sup>4,6,7)</sup>に譲りたいが、専門外の読者のために、ここで、免疫系細胞群の構成および免疫機能との関連を簡単に説明しておきたい。免疫反応に関与する細胞には、リンパ球、単球もしくはマクロファージ、好中球、好塩基球、好酸球、マスト細胞、ランゲルハンス細胞等の樹状細胞があるが、免疫系

の主役ともいふべき抗原特異性の担い手はリンパ球である。リンパ球は、Bリンパ球 (B細胞)、Tリンパ球 (T細胞)、さらにどちらにも属さない nullリンパ球 (null細胞) の3つのサブポピュレーションに分類される。さらにT細胞は機能的に、いくつかのサブセットに分類される。主なものとして、ヘルパーT細胞 (Th細胞)、キラーT細胞 (Tc細胞; 細胞傷害性T細胞ともよばれる)、サプレッサーT (Ts)細胞、遅延型過敏症のエフェクター細胞 (T<sub>DTH</sub>細胞)等があげられる。Th細胞およびTs細胞は、それぞれエフェクターT細胞や抗体産生細胞の誘導の促進および抑制を行うT細胞であり、免疫応答の調節に重要な細胞群である。Th細胞は分泌するサイトカインの種類によって、さらにTh1細胞 (細胞性免疫の促進) およびTh2細胞 (IgG抗体やIgE抗体等の産生の促進)に分けられている。極めて単純化すると、主要な免疫機能と免疫細胞群の関係は、以下のように説明される (Table 2を参照)。

**体液性免疫に関与する細胞群および抗体:** 体液性免疫の概念は、抗体産生および抗体依存性の感染防御免疫 (感染への抵抗性)を含むもので、その免疫の成立が体液中に存在する抗体に基づくことからそ

Table 2. Immune functions and their effector components

| Effector               | Function  |
|------------------------|---|
| Humoral immunity       |   |
| Antibody               | Neutralization of toxins and viruses                        |
| Antibody/Complement    | Antibody-mediated cytotoxicity                              |
| Antibody/Macrophages   | Antibody-dependent phagocytosis                             |
| Antibody/K cells       | Antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC)<br>ADCC     |
| Cell-mediated immunity |   |
| Tc cells               | T cell-mediated cytotoxicity                                |
| T <sub>DTH</sub> cells | Elicitation of delayed-type hypersensitivity                |
| Non-specific immunity  |   |
| NK cells               | Tumor cell cytotoxicity                                     |
| Macrophages            | Tumor cell cytostasis/cytotoxicity<br>Bactericidal activity |
| Neutrophils            | Bactericidal activity                                       |

の名前が由来する。B細胞は、抗原の体内への侵入に伴い、Th細胞、マクロファージ等の助けを借り、抗体産生細胞（最終的には、形質細胞）へと増殖・分化し、その抗原に特異的な抗体を産生するに至る。Table 2に示したように、抗体は、それ自身または補体や他の細胞とともに、「非自己」細胞の破壊、病原体や外来性物質の不活化や排除を行う。例えば、標的細胞に結合したIgM抗体は補体の存在下、細胞溶解を引き起こす。また、IgG抗体や補体成分が結合した細菌等はマクロファージや好中球により、貪食・殺菌される。また、IgG抗体に対する受容体(Fc $\gamma$ 受容体)を有するリンパ球(K細胞)は、IgG抗体の結合した標的細胞を溶解する。IgA抗体は粘液中に分泌され、粘膜免疫において主要な役割を担う。IgE抗体は、寄生虫等に対する防御にも関するといわれるが、即時型アレルギーの原因ともなる抗体である。

**細胞性免疫に関与する細胞群：**細胞性免疫は、その免疫の他個体への移入が血清ではなくリンパ球によってのみ可能であることから名付けられたもので、その抗原特異性はT細胞上の抗原受容体(T細胞受容体)により担われている。前胸腺細胞は胸腺内で増殖・選択され、成熟したT細胞として、末梢へ移行する。Tc細胞の前駆細胞は、Th1細胞およびマクロファージの存在下、腫瘍細胞やウイルスに特異的な抗原ペプチドをMHCクラスI分子とともに提示する細胞に反応して増殖し、「非自己」とみなされる腫瘍細胞やウイルス感染細胞の破壊を行うTc細胞に分化する。これは、悪性腫瘍への抵抗性(が

ん免疫)やウイルス感染細胞の排除(ウイルス免疫)を担う重要な防御機構と考えられている。T<sub>DTH</sub>細胞(Th1細胞との相違は明確にされていない)は、リンパ節で抗原ペプチドをMHCクラスII分子とともに提示する細胞(樹状細胞)やTh細胞の助けを借りて増殖・成熟すると考えられている。このT<sub>DTH</sub>細胞は、遅延型皮膚反応を開始するのに必要とされ、T<sub>DTH</sub>細胞から放出されるサイトカイン等の作用により、マクロファージ等の種々の細胞が反応部位に集積し、炎症性の反応に至る。

**非特異的免疫に関与する細胞群：**病原体が外部から、皮膚表皮の角質層、気管や消化管等の粘膜を通過して、初めて侵入した時は、マクロファージまたは単球、好中球等の貪食細胞による貪食および殺菌により、抗原に非特異的な防御が行われる。また、非特異的な腫瘍細胞破壊にはナチュラル・キラー細胞(NK細胞)等が関与し、またマクロファージも腫瘍細胞に選択的な細胞毒性を示す。

以下、免疫毒性を示す化合物の代表的なものを挙げ、免疫毒性の実例を紹介したい。

### 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD):

TCDDは最も詳しく研究されている免疫毒性物質である。TCDDに暴露された齧歯類動物では、T細胞の成熟に必要な器官である胸腺の著しい萎縮が示される<sup>8)</sup>。胸腺萎縮をもたらす用量は、動物種により著しく異なり、モルモットが最も感受性が高い<sup>9)</sup>。胸腺の病理組織学的検査により皮質リンパ球(未成熟胸腺リンパ球)の減少が明らかにされており<sup>10)</sup>。胸腺皮質領域の退縮の結果、末梢の成熟T

リンパ球の減少がもたらされるものと考えられる。TCDDによる胸腺萎縮は、glucocorticoid投与の際にみられるものに類似しているが、経時変化および回復に要する時間の点で大きく異なっていることが報告されており、また、影響を受ける胸腺細胞サブセットの選択性においても差がみられる<sup>11,12)</sup>。Greenleeら<sup>13)</sup>は低用量TCDDの免疫毒性の一次的が胸腺上皮細胞である可能性を示唆している。また、ラットにおいても、胸腺上皮細胞の異常が報告されている<sup>14)</sup>。

骨髄毒性に関しては、コロニー (CFU-GM) 形成能の低下<sup>15)</sup>が知られ、B細胞前駆細胞もTCDDの影響を受けやすいことが報告されている<sup>16)</sup>。Fineら<sup>17)</sup>により、胸腺リンパ球よりもむしろ、骨髄の前胸腺細胞が、TCDD感受性に富むことがBALB/cマウスで報告されている。また、骨髄の前胸腺細胞マーカーの長期にわたる低下も示されており<sup>12)</sup>、骨髄細胞への毒性が、胸腺萎縮の一因となっている可能性も否定されていない。

TCDD投与を受けた動物では、抗体産生の他に、遅延型過敏症、移植片対宿主反応、Tリンパ球マイトジェンによるリンパ球分裂反応、*Salmonella typhimurium* や *Listeria monocytogenes* 等の細菌感染に対する抵抗性等のT細胞依存性免疫反応の低下が観察されているが、用いる動物種、投与経路、および各々のアッセイ系により、TCDD感受性にはかなり相違がみられる<sup>4,9,18)</sup>。少なくとも、胸腺器官形成期である出生前後にTCDD暴露を受けた齧歯類では、成体で生ずるよりもより重篤な細胞性免疫 (遅延型過敏症反応) の抑制がもたらされる<sup>19)</sup>。

TCDDによる免疫機能抑制は、マウスの系でよく検討されている。TCDDは比較的低用量で (胸腺重量に有意の変化をもたらさない用量でも) T細胞依存性の抗体産生を抑制するが、T非依存性抗原 (DNP-Ficoll) に対する抗体産生は、T依存性抗原 (ヒツジ赤血球) に対する抗体産生の抑制に比べると弱い<sup>20)</sup>。細胞数当たりで比較した場合には、抗体産生の低下に比して、マクロファージまたはNK細胞の細胞障害活性、Con AおよびLPS刺激によるリンパ球分裂反応、IL-2産生はさらに影響を受けにくい<sup>21,22)</sup>。極めて低用量のTCDD (4 ng/kg) 暴露によるインビトロTc細胞誘導系の抑制の報告があったが、再現されておらず、Tc細胞誘導に対するTCDDの抑制は弱いとする報告が多い<sup>23)</sup>。

ヒトへの低用量TCDD暴露の免疫毒性を推定す

る目的で、マーモセットを用いた検討がある。単回投与では、3~7週後に、10 ng/kg以上で末梢血のCD4<sup>+</sup>/CDw29<sup>+</sup>T細胞 (helper-inducer) およびCD20<sup>+</sup>B細胞の有意な減少が認められる<sup>24,25)</sup>。0.3 ng/kg/週のTCDDを24週間反復投与した場合には、逆にCD4<sup>+</sup>/CDw29<sup>+</sup>T細胞の増加が認められるが、1.5 ng/kg/週に増量すると、CD4<sup>+</sup>/CDw29<sup>+</sup>T細胞およびCD20<sup>+</sup>B細胞の減少、CD4<sup>+</sup>/CD45RA<sup>+</sup>T細胞 (suppressor-inducer) およびCD8<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup>T細胞 (Tc細胞) の増加が一過性に認められる<sup>26)</sup>。

ヒトに対する免疫毒性に関しては、いくつかの疫学調査がある。イタリア、セベソ (Seveso) のTCDD高汚染地域の学童児に関する調査<sup>27,28)</sup>や、米国空軍によるベトナムでのAgent Orangeの使用に従事した関係者の調査<sup>29)</sup>では、免疫学的な異常を明らかにすることはできなかった。イギリスの化学工業プラント事故によりTCDD暴露を受けた工場労働者に関する臨床的研究では、血清IgDおよびIgAレベルの低下、Tリンパ球マイトジェンに対するリンパ球分裂反応の低下が観察され、クロル座瘡と免疫機能低下の間に相関が認められている<sup>4)</sup>。米国ミズーリー州におけるTCDD汚染地域に関する疫学調査では<sup>30,31)</sup>、遅延型過敏症の反応性の低下傾向および末梢血T細胞サブセット数のわずかな異常が報告されている。ヒトの場合には、齧歯類に比較すると、TCDDに対する感受性が低いものと予想されている<sup>30)</sup>。さらに、Neubertら<sup>32)</sup>によると、ヒトはマーモセットよりもTCDDに感受性が低く、TCDD暴露労働者の調査では、CD45R0<sup>+</sup>またはCD29<sup>+</sup>リンパ球等のわずかな割合の上昇が認められるのみであるといわれている。

TCDDによる免疫抑制は、細胞のサイトゾルに存在するTCDDレセプター (Ahレセプターとも呼ばれる) により仲介される場合が多いものと現在考えられている。AhレセプターはPolandとGlover<sup>33)</sup>により見出されたもので、aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH) と呼ばれるP450酵素 (CYP1A1, CYP1A2等) の誘導に必要な細胞内可溶性レセプターであり、hsp90等との9S複合体として細胞質に存在する。TCDD結合に伴って、hsp90に代りArntと呼ばれるタンパクと結合して活性化されたAhレセプター複合体 (6S) が核内に移行し、dioxin responsive enhancer (DRE), xenobiotic responsive element (XRE), またはAh-res-

ponsive element (AhRE) と呼ばれる塩基配列を有する DNA に結合し、種々の遺伝子の発現を促すことが知られている<sup>34,35)</sup>。しかし、どのような遺伝子の活性化 (または、不活性化) が胸腺萎縮等に直接関与しているのかに関しては、依然として不明のまま残されている。マウスにおいては、TCDD 感受性に系統差があることが知られており、C57BL/6, C3H/HeN 等は高感受性、DBA/2 および AKR は低感受性の系統の代表とされる。これら純系マウスおよび交雑系を用いた遺伝学的解析より、TCDD による胸腺萎縮<sup>36)</sup>、ヒツジ赤血球<sup>37)</sup> および TNP-LPS<sup>38)</sup> に対する一次免疫応答の低下が Ah 遺伝子座に連鎖する形質であることが示されている。また、TCDD の同族体の胸腺萎縮作用が Ah レセプターへの結合親和性と相関すること<sup>36,38)</sup> も、示されている。さらに、TCDD 暴露によるインビボ Tc 細胞誘導の阻害の場合にも、Ah レセプターの関与が示されている<sup>39)</sup>。一方、TCDD の投与後、腹腔マクロファージのスーパーオキシドアニオンの産生が高まることがラットおよびマウスで示されているが、この現象も Ah レセプターを介するものと考えられる<sup>40)</sup>。

最近の報告により、TCDD の作用が必ずしも Ah レセプターを介さない場合があることが知られている。TCDD は細胞内蛋白質リン酸化を上昇させる等、直接、細胞の情報伝達系に変化をもたらす<sup>41,42)</sup>。また、Ah レセプターへの親和性の低い TCDD 同族体 (2,7-DCDD) が抗体産生を抑制すること<sup>43)</sup> や低感受性のマウスにおいても免疫抑制が示されること<sup>44)</sup> も知られている。TCDD の免疫毒性を検討する際には、このような Ah レセプターを介さない作用も十分に考慮する必要がある。

急性の TCDD 毒性の指標である死亡率や酸化的ストレスの増大には、TNF- $\alpha$  が関係することが報告されている<sup>45,46)</sup>。従来知られている免疫毒性の一部が、このようなサイトカイン類のレベルの上昇による可能性も否定できない。急性の TCDD の作用の一つとして、炎症反応の増強がみられるが、これも TNF 等のサイトカインのレベルの増大が関与するものと推定されている<sup>47)</sup>。

#### tributyltins :

有機スズ化合物は、プラスチック生産、農業、給水管や船舶の塗料等の用途に広く用いられている。bis(tri-n-butyltin)oxide (TBTO) は給水関連に用いられており、その毒性に関心もたれていた。

また、tri-n-butyltin chloride (TBTC) は PVC 安定化剤および触媒として用いられている。tributyltin には、TCDD と同様に胸腺萎縮をもたらす作用があり、皮膚細胞の著しい減少をもたらす<sup>48)</sup>。ラットの場合、10 mg/kg 以上の TBTO の経口投与で有意の胸腺萎縮がもたらされる<sup>49)</sup>。tributyltin はインビトロおよびインビボでラット胸腺細胞の DNA 断片化をもたらすことから、胸腺細胞のアポトーシスを誘導するものと考えられている<sup>50-52)</sup>。この胸腺細胞アポトーシスには、細胞内 Ca 濃度の上昇が関与するものと推定されている<sup>53)</sup>。また、TBTC は、胸腺細胞の F-actin の脱重合を促進することも報告されている<sup>54)</sup>。

短期 (6~9 週)<sup>55)</sup> および長期 (4~6 および 15~17 箇月)<sup>56)</sup> の食餌投与による TBTO 暴露を受けたラットの免疫機能の変化に関するデータが得られている。短期暴露では、80 mg/kg 含有食餌で、胸腺萎縮や脾臓細胞数の減少とともに、T 細胞マイトジェンによる細胞分裂、ovalbumin および tuberculin に対する遅延型過敏症反応、*L. monocytogenes* や *Trichinella spiralis* 感染への抵抗性、*T. spiralis* に対する IgE 抗体のレベル、ヒツジ赤血球に対する二次抗体産生 (IgG) 等の顕著な低下が認められている。脾臓の T 細胞および B 細胞の両者の減少がみられるが、T 細胞の減少の方が大きい。長期暴露においては、50 mg/kg 食餌で、胸腺萎縮、*L. monocytogenes* や *T. spiralis* 感染への抵抗性、*T. spiralis* に対する IgE 抗体のレベルの低下が認められているが、他のパラメーターに関しては、回復の傾向がみられる。

また、tributyltin はインビトロで、好中球の食食およびリゾチーム放出を、 $\mu$ M オーダーで阻害することが示されている<sup>57)</sup>。

#### benzo[a]pyrene (BaP) :

発癌性物質として知られる BaP は、免疫毒性物質でもあり、抗体産生を抑制する。しかし、細胞性免疫および NK 細胞活性は影響を受けにくい<sup>58)</sup>。BaP も、他の多環芳香族炭化水素と同様に Ah レセプターへの結合能をもつことから、Ah レセプター介在性の免疫毒性が予想されていたが、BaP による抗体産生抑制が必ずしも Ah 遺伝子座に連鎖しない<sup>59)</sup> ことから、Ah レセプターに依存しない毒性発現機構の存在が推定される。脾臓細胞による抗体産生の低下が、脾臓の付着性細胞 (恐らくマクロファージ) の機能低下によることが示されている<sup>60)</sup>。



また BaP は、IL-1 および IL-2 の産生を阻害することも知られている<sup>61,62</sup>。

最近の研究により、P450 酵素の阻害剤である  $\alpha$ -naphthoflavone により BaP による免疫毒性が阻害されること<sup>63</sup>、また、BaP の代謝産物である BaP-7,8-diol や 7,8-diol, 10-epoxide (BPDE) が免疫毒性を示すこと<sup>64</sup>が示されている。さらに、マウス脾臓細胞の中で BaP 代謝能を示す細胞がマクロファージであることが明らかにされ<sup>65,66</sup>、マクロファージが BaP を BaP-diol や BPDE に代謝することが確認されている<sup>67</sup>。究極毒性物質と考えられる BPDE により傷害を受けたマクロファージが IL-1 等のサイトカインの放出の抑制をうけ<sup>61</sup>、T 細胞の活性化を促進できないことが、抗体産生の低下につながっているものと推定されている<sup>68</sup>。

#### 鉛：

鉛は、環境中にある有害重金属の中で、最も暴露の可能性の高いものである。神経、腎、造血系への毒性の他に、免疫系への毒性も知られている。ヒトにおいては、疫学調査により、鉛の血中濃度が高い (>500 ng/ml) 場合には、血清中の補体レベルの低下、IgA レベルの上昇が認められるとする報告が多い<sup>69</sup>。リンパ球に関しては、Th 細胞 (CD4 陽性細胞) の減少が認められる<sup>70</sup>。また、鉛暴露による自己免疫性糸球体腎炎の発症率の上昇が知られている<sup>71</sup>。好中球の *Candida albicans* 殺菌活性の低下も報告されている<sup>72</sup>。

鉛の暴露を受けたマウスおよびラットでは、*S. typhimurium*、*L. monocytogenes*、ウイルス等の感染への抵抗性が低下することから、細胞性免疫機能の低下が窺われる。また、エンドトキシンへの感受性が増すことも報告されている<sup>69</sup>。一方、マクロファージの抗原処理・提示機能は低下するが、食食および IL-1 放出は影響を受けにくい<sup>73</sup>。

インビトロでは、5~100  $\mu$ M の鉛は、IgM 抗体産生を上昇させ、直接 B 細胞に作用すると推定されている<sup>74,75</sup>。また、1  $\mu$ M 以上で、IL-4 に依存せず、B 細胞表面の MHC クラス II 分子の濃度を上昇させることが示されている<sup>75</sup>。T 細胞に対する影響としては、Th1 細胞クローン株の活性化を阻害する一方で、Th2 細胞クローン株の活性化を促進することが報告されている<sup>76</sup>。鉛の免疫毒性の発現機構には、まだ不明な点が多いが、恐らく、Th1 細胞への抗原提示の段階を鉛が阻害することに基づいて、細胞性免疫の低下がもたらされるものと推定されて

いる<sup>69</sup>。また、B 細胞の活性化が促進される結果、自己免疫の発症が増えるものと考えられる。

#### 水銀：

水銀は、免疫抑制を示すと同時に、自己免疫の誘起でよく知られている重金属である。ラット、マウス、ウサギにおいて HgCl<sub>2</sub> による自己免疫の誘起が示されている<sup>77,78</sup>。ヒトの自己免疫に関してはデータが乏しい<sup>78</sup>が、ヒトでも同様な現象が起こる可能性があるものと推定される。

Brown Norway (BN) ラットは、HgCl<sub>2</sub> による自己免疫発症のモデル動物としてよく用いられる。1 mg/kg (3 回/週) の投与で、B 細胞のポリクローナルな増殖、糸球体基底膜等に対する自己抗体、IgE 抗体、タンパク尿の増大が示される。BN ラットにおける HgCl<sub>2</sub> 誘起自己免疫は、少なくとも、MHC クラス II 分子 (RT1) 遺伝子を含む 2 つの遺伝子により支配されている<sup>77,78</sup>。

鉛と同様に水銀も B 細胞の MHC クラス II 分子数を増加させることが示されている<sup>79</sup>。HgCl<sub>2</sub> 投与 BN ラットにおいては、自己のクラス II 分子に反応する W3/25 (CD4) 陽性の T 細胞が誘導されることが明らかにされている<sup>80</sup>。この自己反応性 T 細胞は、投与後 4~6 日後に既にみい出され、投与および無処理の BN ラットの B 細胞のクラス II 分子に反応して分裂する<sup>81</sup>。マウスと同様に BN ラットにおいても、HgCl<sub>2</sub> によって IL-4 が誘導され<sup>78</sup>、interferon- $\gamma$  産生が低下する<sup>82</sup>ことから、HgCl<sub>2</sub> は Th2 細胞を活性化するものと推定されている。正確な機構は不明であるが、これらの現象はいずれも B 細胞活性化の促進に働くことから、自己免疫の発症につながっているものと考えられる。また、抗  $\alpha 4$  integrin 抗体によって、自己免疫性腎炎の発症が阻止されることも報告されている<sup>83</sup>。

#### $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC)：

マリハナに関しては、その主要成分である  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC) の免疫毒性が詳しく調べられている。ヒトでは、マクロファージ機能、T 細胞分裂、NK 細胞や LAK 細胞 (lymphokine-activated killer cells) の活性、IL-2 受容体数の低下が報告されている。マウスでは、これらに加えて、インターフェロンおよび IL-2 産生の低下も示されている。このように、THC 暴露に伴い細胞性免疫と体液性免疫の両者ともに低下が見られる。一方、THC 投与により IL-1 および TNF は、逆に上昇する<sup>84</sup>。これらの免疫機能の変化が、中枢神経系へ

の作用による二次的なものか否かに関しては、まだ完全に理解されていない。カンナビノイド受容体は、低レベルではあるがリンパ球にも表現されている<sup>85)</sup>。また、マクロファージ上には、中枢神経系のタイプと異なる受容体が存在することが明らかにされている<sup>86)</sup>。

#### モルヒネ：

モルヒネは鎮痛作用でよく知られる麻薬であるが、その乱用に伴う免疫機能の異常が数多く報告されている。ヒトでは、細菌防御免疫にとり重要な役割を果たしている好中球や単球の貪食作用や殺菌作用の低下、T細胞(CD4陽性)数の減少、null細胞数の増加が古くから知られている<sup>87)</sup>。また、リンパ球のマイトジェンによる分裂<sup>88)</sup>やNK細胞活性<sup>89)</sup>の低下も報告されている。実験動物では、さらに、interferon産生<sup>90)</sup>、抗体産生<sup>91)</sup>、遅延型過敏症反応<sup>92)</sup>、同種脾臓細胞への反応性<sup>93)</sup>の低下、ならびに胸腺細胞数の減少<sup>94)</sup>が示されている。

リンパ球およびマクロファージにはオピオイド受容体が存在することが示されている。しかし、モルヒネは中枢への作用があるため、その免疫毒性が直接のものか、または中枢神経系を介する二次的なものか否かを明らかにする必要がある。現在までに得られたデータによると、モルヒネの免疫系への作用には、両者が関与する場合がある。中枢作用の場合には、中枢(視床下部)のオピオイド受容体へのモルヒネ作用の後、HPA axisを介して、血中のglucocorticoidレベルが上昇し、胸腺萎縮や抗体産生低下につながることを報告されている<sup>95)</sup>。CD4<sup>+</sup>T細胞のIL-2レセプター誘導能の抑制の現象もglucocorticoidレベルの上昇を介するものと考えられている<sup>96)</sup>。また、急性のモルヒネによるNK細胞活性の中枢を介する抑制には、 $\alpha$ -アドレナリン受容体が関与するとの報告もある<sup>97)</sup>。

オピオイド受容体を介する直接作用としては、マクロファージのIgG抗体依存性の貪食、走化活性、スーパーオキシドアニオンの生成、TNF- $\alpha$ の産生等の低下、PGE2放出の増大が知られている。インビトロ二次抗体産生の低下やT細胞のカルシウムとりこみも報告されている<sup>95)</sup>。他に、免疫系に対する作用の中には、アンタゴニストであるnaloxoneやnaltrexoneによる阻害がかからない場合もある(naloxoneやnaltrexon自身の免疫毒性作用もあるため、問題を複雑にしている)。

#### 医薬品等：

免疫抑制剤または免疫賦活剤としての医薬品は、その使用目的に応じて免疫機能に変化をもたらすのは当然である。しかし、本来他の目的で投与された医薬品が、副作用として、免疫系の変化をもたらすことも数多く知られている<sup>9)</sup>。最もよく知られている例としては、細胞分裂阻害作用を有する各種の抗癌剤がある。逆に、抗癌剤のcisplatinやtaxolには、マクロファージの活性化を促進する作用も知られている<sup>98,99)</sup>。催奇形性を有することで著名なthalidomideにも免疫調節作用が知られている<sup>100)</sup>。抗トリパノゾーマ剤であるsuraminは最近抗エイズ薬として注目されているが、免疫機能を低下させる場合があることが知られている<sup>101)</sup>。nifedipine等のカルシウム拮抗薬<sup>102)</sup>、合成エストロゲン diethylstilbestrol<sup>9)</sup>、抗エストロゲン tamoxifen<sup>103)</sup>、抗エイズ薬 zidovudine (AZT)<sup>104)</sup>等も免疫系細胞の機能低下をもたらすことが報告されている。pentoxifylline<sup>105)</sup>やthalidomide<sup>106)</sup>は、TNF- $\alpha$ 放出を阻害することでも知られている。一方、薬物性自己免疫としては、diphenylhydantoin、D-penicillamine、cyclosporin A等により誘起されるものがよく知られている<sup>107)</sup>。

#### 農薬：

前述した有機スズ化合物の他に、亜ヒ酸鉛、有機塩素系殺虫剤 DDT, chlordane, lindane ( $\gamma$ -HCH)、有機リン系殺虫剤の azinphos-methyl, parathion, malathion, carbamate 系殺虫剤の carbaryl, 除草剤 2,4,5-T, chlorpropham (chlor-IPC), atrazine, 抗真菌剤 captan, hexachlorobenzene, quintozone, maneb, zineb 等に関しては、古くからその免疫毒性が報告されているが、免疫毒性を示す用量は比較的高く、致死用量に近くなると明瞭な免疫毒性は示されない場合が多い<sup>108,109)</sup>。

#### 石綿：

石綿繊維の吸入により、石綿症 (asbestosis) と呼ばれる間質性肺線維症が発症することが知られているが、これは、抗体および補体レベルの上昇や自己免疫症を伴うことが多い。一般に、T細胞のマイトジェンによる分裂およびNK細胞活性の低下が示される場合が多い<sup>110)</sup>。

動物への吸入実験では、初期には繊維の沈着部位である肺胞管分岐部へのマクロファージの集積が顕著に認められる。このマクロファージ集積は、石綿繊維により補体が活性化され、C5aが生成するこ

とによるものと考えられている<sup>111)</sup>。さらに、石綿繊維刺激により肺上皮細胞がIL-8を産生することも報告されており、好中球集積の一因と推定される<sup>112)</sup>。石綿繊維はやがて肺間質へ移動し、そこでは、線維芽細胞やマクロファージにより貪食されていることが示されている。マクロファージは種々のサイトカイン、成長因子、オキシダント等を放出し、また線維芽細胞もサイトカイン類を放出することが報告されている。これらの因子の作用により炎症性反応が持続され、線維芽細胞等の増殖および結合組織タンパクの分泌の促進の結果、最終的な線維症像を呈するに至るものと推定されている<sup>110,113)</sup>。

### 3. 免疫毒性試験法および免疫毒性評価の戦略

多数の化学物質より、免疫毒性物質をピックアップするためには、スクリーニング法が特に重要とされる。しかしながら、免疫毒性指標を選択する上で最大のネックは、免疫機能の多様性にある。免疫毒性物質のスクリーニングにおいて、多数の免疫機能検査項目【例えば、文献(114,115)を参照】をすべて検討することは殆ど不可能に近い。それゆえ、免疫毒性の指標としてどのような項目を選択すれば、未知の免疫毒性物質を漏れなくかつ効率的にピックアップできるかを明らかにすることが最も重要な課題となってくる。

免疫毒性試験法項目としては、血液学および病理組織学的な項目に加えて、インビボおよびインビトロの多数の生物学的アッセイ系が採用可能と考えられるが、安全性評価を目的とする場合には、純粋な免疫学的研究とは異なり、それなりの方法論的な標準化、統一化が必要とされる。それは、単に技術上の利便性のみならず、異なった機関や研究室から得られる免疫毒性データを相互に同じ土俵で比較することが必要とされるためである。現在のところ、インビボにおける免疫毒性とよく相関するインビトロ免疫毒性検出系は、特殊な例外を除いては、十分に確立されておらず、化学物質をインビボ投与する(holisticな)アッセイ系で免疫毒性を検出することが最も効率的と考えられている。

インビボで化学物質の免疫毒性を試験する場合には、大きく分けて、(i) 別群の投与動物を用意して、抗原による免疫、感染実験、腫瘍移植を行う方法、(ii) 従来の毒性試験に用いた動物を利用して、これらの被検動物の臓器や血液検体等を利用して、免疫学的パラメーターを測定する方法がある。前者の

方法としては、抗体産生(PFCアッセイ、抗血清の抗体力価測定)、細胞性免疫(抗原特異的T細胞分裂、遅延型皮膚反応等)、同種腫瘍、細菌感染、ウイルス感染への抵抗性を測定する。後者の方法としては、免疫系器官の重量測定や病理組織学的観察、末梢白血球百分比測定、リンパ球サブポピュレーション計数(免疫染色やflow cytometry)、NK細胞活性測定、サイトカイン産生能測定、マクロファージの貪食活性測定等があげられる。

ある物質の免疫毒性の作用機構を明らかにするためには、種々の免疫系細胞群の機能低下の有無を明らかにし、その一次標的を特定しなければならない。しかし、免疫系のもつ多様な活性を逐一用いてその活性への影響をみていくことには多大な労力、時間、被検動物、さらに資金が必要とされる。このため、通常用いられる手法としては、体液性免疫、細胞性免疫、非特異的免疫の代表的なアッセイ法を検討し、その活性低下より標的を絞って、さらに詳しい検討を加える2段階のアプローチが用いられる。

オランダ National Institute of Public Health and Environmental Protection (NIPHEP) の Vosらは従来よりラットを用いる2段階の試験プロトコルを用いている<sup>116-119)</sup>。彼等のプロトコル(Table 3)では、先ず第1段階(Tier I)のスクリーニングとして、通常のラットを用いる毒性試験項目に加えて、免疫系の細胞の計数、免疫系器官の秤量、血清免疫グロブリンレベルの測定、免疫系器官の病理組織学的検査等を行う。彼等のTier Iにおいては、被験化学物質の投与以外の処置を行わない。他の一般毒性パラメーターの変化を伴わずTier Iで異常が示された場合には、次の第2段階の機能試験法の検討を加え、免疫毒性の性格を明らかにし、必要ならば、さらに第3の段階ともいえる毒性機序等の解明に進む。Tier IIでは、いくつかの抗原を用いる免疫操作や感染実験等が必要とされ、個々の機能試験項目に応じて、別途の実験を組む必要がある。従来、一般毒性試験には、ラットを用いる28日または90日の連続投与による毒性試験が用いられることが多く、ラットを用いて得られた他の毒性試験データと免疫毒性試験データを比較しうるものがラットを用いることの利点である。彼等は、実際にTier Iの試験項目を用いて18種の農薬の免疫毒性を検討している。そのうち、11種の農薬で明らかな免疫系の異常が示されている。そのうち、5種では、免疫毒性指標における変化が特に著しく、

Table 3. Tiered immunotoxicity assays in NIPHEP (Netherland) (modified from Refs. 117 and 118)

|  |  |
|--|--|
| Tier I (Screening assays)  |  |
| Weights of thymus, spleen and lymph nodes  |  |
| Total and differential leukocyte counting  |  |
| Serum IgM, IgG and IgA concentrations*   |  |
| Bone marrow cellularity  |  |
| Histopathology of thymus, spleen, lymph node, Peyer's patches and mucosa-associated lymphoid tissue (GALT, BALT, or nasal lymphoid tissue) |  |
| Enumeration of lymphocyte subsets in spleen and lymph nodes (histochemistry and flow cytometry) -- optional                                |  |
| Tier II (Functional tests)   |  |
| Cell-mediated immunity   | Sensitization to T-dependent antigens (e.g., ovalbumin, tuberculin, <i>Listeria</i> ) and delayed-type hypersensitivity response     |
|  | Mitogen responses ( <i>Listeria</i> antigen, Con A, PHA)   |
| Humoral immunity   | Serum titration of IgM, IgG, IgE responses to T-dependent antigens (ovalbumin, tetanus toxoid, SRBCs, <i>Trichienella spiralis</i> ) |
|  | Serum titration of T-independent IgM response to LPS   |
| Macrophage function  | Mitogen response (LPS)   |
|  | Phagocytosis and killing of <i>Listeria monocytogenes</i> by adherent spleen and peritoneal cells                                    |
| Natural killer cell function   | Cytolysis of YAC-1 lymphoma cells by adherent spleen and peritoneal cells  |
|  | Cytolysis of YAC-1 lymphoma cells by non-adherent spleen and peritoneal cells  |
| Host resistance  | <i>Trichinella spiralis</i> challenge (muscle larvae counts and worm expulsion)  |
|  | <i>Listeria monocytogenes</i> challenge (splenic clearance)  |
| Autoimmunity   | Adjuvant arthritis   |

\* "IgE" was added later.

他の毒性パラメーターに比較して、Tier Iの免疫毒性指標の感度が充分に高いことを窺わせる結果を得ている<sup>119)</sup>。

一方、免疫生物学がマウスの系で著しい発展をみたという経緯もあり、米国では National Toxicology Program (NTP) 予算による支援の下、National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS) を中心にマウスを用いる種々の免疫機能試験法の評価が進められた<sup>120-123)</sup>。NIEHSのLusterらを中心とするマウスを用いる免疫毒性試験法の評価においても、やはり2段階のプロトコルを採用している。第1段階では、NTP 亜急性毒性試験項目に既に含まれていた免疫関連器官に関する項目に加えて、免疫器官の病理組織学的検査および少数の免疫機能試験の項目(抗SRBC-PFCアッセイ、NK細胞アッセイ、LPSおよびCon A刺激またはMLCによるリンパ球分裂)が追加されている。第2段では、細胞表面マーカー、IgG抗体産生、細胞障害性T細胞または遅延型過敏症、マクロファージ機能、腫瘍細胞、感染菌、ウイルス、寄生虫に対する宿主抵抗性等の項目があげられている(Table 4)。NTPプロトコルの特徴は、主としてB6C3F1マウスへの14日反復投与を用いている点、また、Tier Iに免疫機能試験項目を加えている点にある。

マウスを用いる利点はTier Iで得られた結果をもとに、直ちにTier IIおよびさらに詳細な機構の検討に移れることにある。また、既にマウスで得られている免疫学的なバックグラウンドデータおよび豊富な免疫研究用試薬等を利用でき、かつ遺伝学的解析も容易とされる。Lusterらの報告によると、それまでに検討された化合物に関しては、Tier Iで異常が認められずTier IIのみで異常が認められた化合物は見い出されなかったとされる<sup>120)</sup>。

米国NTPによりマウスにおける個々の免疫機能パラメーターの低下と宿主抵抗性の低下との相関関係が明らかにされており、貴重なデータを提供している。51の毒性物質に関する免疫毒性に関するデータを統計的に処理した結果、PFCアッセイおよびリンパ球サブポピュレーションの細胞表面マーカーを用いる計数が最も多くの化合物による免疫異常を検出し、この2項目に適当な項目をさらに1つ足せば、90%以上の免疫毒性物質を予知することが充分可能であることが報告されている<sup>121,122)</sup>。このような手法は、免疫毒性試験項目を必要かつ十分なまでに絞り込むのに非常に有力と考えられる。ただし、この結果の解釈に当たっては、陽性の判断するのに用いられた投与量が比較的高いものも含まれる点で注意が必要とされよう。この結果は、必ずし

Table 4. Tiered immunotoxicity testing panel of NTP (USA) (modified from Refs. 120)

| Parameter                          | Procedures  |
|------------------------------------|---|
| <b>Tier I (Screen)</b>             |   |
| Immunopathology                    | Hematology--Complete blood count and differential<br>Weights--Body, spleen, thymus, kidney, liver<br>Cellularity--Spleen, bone marrow<br>Histology--Spleen, thymus, lymph node  |
| Humoral-mediated immunity          | IgM antibody plaque-forming cells to T-dependent antigen (SRBC)<br>LPS mitogen response   |
| Cell-mediated immunity             | Lymphocyte blastogenesis to mitogens (Con A, PHA)<br>Mixed leukocyte response (MLR)   |
| Nonspecific immunity               | Natural killer (NK) cell activity (YAC-1)   |
| <b>Tier II (Comprehensive)</b>     |   |
| Immunopathology                    | Splenic B and T cell numbers (surface markers*)   |
| Humoral-mediated immunity          | IgG antibody response to SRBCs  |
| Cell-mediated immunity             | Cytotoxic T lymphocyte (CTL) cytotoxicity (P815)<br>Delayed hypersensitivity response (DHR)   |
| Nonspecific immunity               | Macrophage function<br>Quantitation of resident peritoneal cells<br>Phagocytic ability (basal and activated by MAF)   |
| Host resistance models (endpoints) | Syngeneic tumor cells<br>PYB6 sarcoma (tumor incidence)<br>B16F10 melanoma (lung burden)<br>Bacterial models<br><i>Listeria monocytogenes</i> (mortality**)<br><i>Streptococcus</i> species (mortality**)<br>Viral models<br>Influenza (mortality**)<br>Parasite models<br><i>Plasmodium yoelii</i> (parasitemia) |

\* sIg, Thy-1.2, CD4 and CD8  
\*\* changed to "morbidity" later.

も直ちに他の試験項目が必要でないということの意味するものではない。極端な例をいうと、胸腺重量低下は必ずしもすべての免疫毒性化合物によりもたらされる訳ではないが、胸腺重量低下をもたらす化合物は常に（時には重篤な）免疫異常をもたらす。このように、胸腺関連の項目またはそれを代替する項目を除外することができない。同様に、他のパラメーターの必要性も個別に十分に検討される必要がある。

このように、国際的には、毒性試験に繁用されるラットを用いて従来の毒性試験法を拡大利用する方向と<sup>125)</sup>、免疫機能試験を重視しマウスを用いる方向の2つ大きな流れがある。ラットを用いる病理組織学的検査を中心とする方法は、従来の反復投与経口毒性試験の拡大である点で、その導入は実際的な面からも比較的容易であろうし、また毒性試験に用いる動物の匹数を増やさないという動物愛護の精神に沿っている。一方、陽性化学物質の免疫毒性の詳細な標的部位および発症機構の検討には、ラットよ

りマウスが適していると考えられる。化学物質の免疫毒性を検討するに当たって、第1段階のスクリーニング法の選択は重要なポイントであるが、ラット、マウスともに一長一短があり、一概に優劣を議論することは難しく、免疫毒性評価の目的に応じて、選択されるべきものと考えられる。以上のように、多数の化学物質のもたらす多様な免疫毒性を段階的アプローチによりスクリーニングし、その性質を明らかにしようとする方向が現在の大勢といえよう。第2段階の検査項目は第1段階で示された結果に基づいて適宜選択されるべきで、必ずしもすべての項目を行うべき性質のものではない。

欧州諸国においては早くから免疫毒性に注目し、CEC (Comission of the European Communities) および IPCS (International Programme on Chemical Safety) 等の援助の下でその試験法確立のための活動<sup>126-128)</sup>を行っており、現在も免疫毒性国際共同研究 (IPCS/CEC-International Collaborative Immunotoxicity Study; ICICIS) の主体となってい

Table 5. Immunological parameters evaluated in ICICIS (Phase II)

|                   |  |
|-------------------|--|
| Organ weight      | Spleen, thymus, mesenteric and popliteal lymph nodes, adrenals, liver, kidney, lung, and heart   |
| Hematology        | Erythrocytes, hemoglobin, hematocrit and calculated ratios<br>Platelets<br>Leukocytes and differential count<br>Bone marrow cell count   |
| Pathology tests   | Cellularity--thymus, spleen, popliteal, mesenteric and tracheobronchial (optional) lymph nodes, and Peyer's patches<br>Cell surface markers (W3/13, W3/25, OX/4, and OX/8) -- optional |
| Functional Assays | Mitogen assay (Con A and STM)<br>Natural killer (NK) cell activity (YAC1)<br>Plaque forming cell (PFC) assay (SRBC)  |

る (ICICIS は、初期には ICIP、後に ICIS とも呼ばれていた)。ICICIS には日本より国立衛生試験所が参加している。ICICIS の事業目的は、モデル化合物 (第 I 期でアザチオプリン、第 II 期でシクロスポリン A) を用いて、免疫毒性試験法の評価を国際的に行うことにある。主な評価対象試験法は、ラットを用いる免疫器官の病理組織学的検査および免疫機能試験である<sup>129-131)</sup>。Table 5 に、ICICIS で行った評価対象試験項目を示した。ICICIS の項目は NTP の Tier I にも近いがラットを用いる点で大きく異なっており、OECD ガイドライン 407 (1981) に“拡大病理学的検査” (免疫関連器官の重量測定および病理組織学的検査等) といくつかの機能試験を追加した形となっている。この共同研究により、2つのモデル化合物の示す免疫系の変化を、追加された拡大病理学的検査または機能試験により検出することができることが示された。現在のところ、拡大病理学的検査と機能試験のいずれが良いかとの結論が出せる段階ではないが、スクリーニング法としては、拡大病理学的検査が充分実用に耐えるという印象が得られている。また用いたラットの系統による免疫毒性物質への感受性の差も明らかにされている。なお、2つのモデル化合物に関する限りでは機能試験の中で PFC アッセイが感度もよく信頼できる方法であることが示された。

一方、OECD では、OECD 毒性試験ガイドライン 407「げっ歯類を用いる 28 日間反復経口投与毒性試験」の改訂案 (1994 年) が提出されているが、免疫関連の検査項目としては、胸腺、脾臓の重量、胸腺、脾臓、リンパ節、骨髄、腸管 (パイエル氏板を含む) の病理組織学的検査等がとり入れられている<sup>132)</sup>。因みに、このガイドラインでは、ラットを

用いることが勧められている。OECD ガイドラインは、毒性試験の基本的な枠組みであるため、それに沿ったものを各国が踏襲している関係上、ラットを用いる方法が今後増えるものと推定される。

米国 FDA は、食品添加物に関する安全性評価のための毒性試験法のガイドライン案 (Redbook II)<sup>133)</sup> を 1993 年に発表している。この中で免疫毒性試験法の詳細な試験項目のリストを提出し (Table 6)、被験物質の毒性および使用量に応じた段階的な試験法の採用を勧めている。

我国においても、食品添加物の安全性に関する毒性試験法ガイドラインの案の作成が進行中であるが、一般毒性試験に免疫毒性関連の病理学的検査の追加が行われる形となり、免疫毒性が疑われた場合には、骨髄構成細胞比、脾臓リンパ球組成、NK 細胞活性等についても検査することが望まれているようである<sup>134)</sup>。

ここで、化学物質の自己免疫誘起活性の検出法について、簡単に触れたい。化学物質投与により、その化学物質とは無関係の自己抗原に対する自己免疫が成立する現象が知られている。既に前節で述べたように、水銀を始めとする重金属や多数の医薬品が自己免疫を誘起することが知られている<sup>78,135,136)</sup>。このような自己免疫誘起活性の検出には、前述のような試験項目では必ずしも充分とは言いがたい。一つの方法として、化学物質の足蹠皮下注による膝窩リンパ節での GVH 様反応を指標とする方法が提案されている<sup>137)</sup>。1989 年に Hanover で開催された国際ワークショップ<sup>128)</sup> では、Table 7 のような検出システムも提案されているので参考にされたい。

Table 6. Immunotoxicity testing recommendations for direct food additives (FDA) (1993)

---

Basic testing (Rat model)  
 CBC, WBC differential  
 Total serum protein, albumin-to-globulin (A/G) ratio  
 Histopathology, gross and microscopic (spleen, thymus, lymph nodes, Peyer's patches, and bone marrow)  
 Lymphoid organ and body weights

Retrospective level I testing: included as a possible requirement in standard toxicity study  
 Electrophoretic analysis of serum proteins\* (when positive or marginal effect noted in basic testing)  
 Immunostaining of spleen and lymph nodes for B and T cells\* (quantification of total Ig)  
 Serum autoantibody screen and deposition of Ig (micrometry for semi-quantitation of the proliferative response)

Enhanced level I testing: included as a possible requirement for more complete screening in the standard toxicity study core group, with a satellite animal group, or in a follow-up study  
 Cellularity of spleen (lymph nodes, thymus when indicated)  
 Quantification of total B and T cells (blood and/or spleen)  
 Mitogen stimulation assays for B and T cells (spleen)  
 NK functional analysis (spleen)  
 Macrophage quantification and functional analysis (spleen)  
 When indicated or for more complete analysis, other endpoints such as total hemolytic complement activity or CH-50 assay with serum

---

Level II testing: includes a satellite group or follow-up study for screening of functional immune effects  
 Kinetic evaluation of the humoral response to a T-dependent Ag (primary and secondary responses with either SRBC, TT, or other)  
 Kinetic evaluation of the primary humoral response to a T-independent Ag such as P<sub>vax</sub>, TNP-LPS, or other recognized Ag  
 DTH response to known sensitizer of known T-cell affector  
 Reversibility evaluation

Enhanced level II testing: includes a satellite group or follow-up study for evaluation of potential immunotoxic risk  
 Tumor challenge (MADB106 or other with the rat; PYB6 sarcoma with a mouse model)  
 Infectivity challenge (*Trichinella*, *Candida* or other with the rat; *Listeria* or other with mouse)

---

Abbreviations: CBC=complete blood count; WBC=white blood cell; Ig=immunoglobulin; NK=natural killer;  
 IL-2=interleukin-2; Ag=antigen; SRBC=sheep red blood cells; TNP-LPS=trinitrohenylated lipopolysaccharide.  
 \*Recommended for inclusion in basic testing.

---

Table 7. Proposed detection system for autoimmunity-inducing substances (modified from Refs. 128)

---

Phase 1  
 Popliteal lymph node (PLN) assay  
 PLN weight index, number of cells in PLN, <sup>3</sup>H-thymidine incorporation, or characterization of cells in PLN

Phase 2  
 The auricular lymph node assay and topical sensitization in mice  
 Studies involving other parenteral routes of administration of the chemical, such as inhalation, to screen for immediate-type hypersensitivity reactions  
 Tests to detect autoantibodies  
 Determination of serum immunoglobulin levels  
 Quantitative and qualitative analysis of leukocytes  
 Tests for expression of immunoregulatory cytokines in the PLN and other relevant tissues  
 Tests for deposition of immune reactions

---

#### 4. 免疫毒性評価の問題点

これからの議論に先だて、免疫毒性を評価する必要性に触れる必要があると思われる。免疫毒性を評価する必要性が叫ばれているゆえんは、ヒトにおける多数の免疫不全症の例によっている。例えば、後天性免疫不全症候群 (AIDS) では、通常見られ

ない腫瘍や日和見感染が数多く認められ、それらが直接の死因となる場合も多い。他に、人為的な続発性免疫不全症候群が近年増加する傾向が指摘されている。例えば、移植後の免疫抑制剤の長期服用に伴い、反復感染が多発したり、時には腫瘍の発生も認められている。抗癌剤の長期化学療法においては、二次腫瘍発生率が高まる。また、自己免疫疾患の免

疫抑制剤による治療においても、腫瘍発生率が高いことも報告されている<sup>138)</sup>。薬物乱用による免疫抑制や薬物性自己免疫については先に述べたところである。

免疫毒性を示す物質の多くは、同時に他の標的臓器に対しても毒性を示すことが多い。多くの細胞増殖阻害や細胞毒性を示す化学物質は、リンパ球やその前駆細胞の増殖を抑制する結果、免疫機能の低下をもたらす。すなわち、免疫系にのみ選択的な毒性を示す物質の方が少ないともいえる。このことは、免疫毒性を指標として採択する必要がないということの意味するものではない。免疫抑制作用のみが著しく強い物質が存在することは紛れもない事実である。また、化学物質が免疫毒性によって二次的に発がんの発症率を上昇させることも予想されるため、免疫毒性に関するデータが、変異原性や染色体異常を示さない発がん物質の正確な作用を決定する上で重要な情報となることもあろう。さらに、免疫系に加えて、神経系や内分泌系に対して並行して生ずる毒性が相乗的に働く可能性も否定されていない。

免疫不全がもたらす障害には疑問の余地はないと考えられるが、免疫毒性評価には解決されるべき問題が残されている。各々の化学物質に関する検討の結果、極く限られた項目のみ陽性とされた場合に、その化合物の使用をどの程度規制すべきかという問いに対する答えを一律に引き出すことは難しい。多様な免疫機能は相互に相補的に働いており、ある機能に低下がもたらされても、他の機能による部分的な代償作用に補われて、明らかな異常が表に出てこない場合もある。また、低濃度の慢性暴露の場合、初期に認められた異常がしばらく後に実際に回復する場合も多く、一時的にある免疫機能が部分的に低下したにしても、その他の機能が正常であれば、健康には全く影響が無いかもしれない。逆に、ある免疫機能の低下を内包する個体においては、別のある免疫機能のわずかな低下が相乗的に働き重篤な毒性をもたらす可能性も否定できない。例えば、幼児、高齢者または低栄養のケースでは、免疫機能が元来低く、外来異物による免疫毒性の影響を受けやすいものと予想される。現在のところ、動物で明らかにされた個別の免疫パラメーターの変化が意味することは、あくまでヒトにおいても同様な免疫パラメーターの変化をもたらす可能性が高いということを示すもので、それ以上のものではない。

上の問題を言い換えると、ある免疫パラメーター

の変化（またはそれらの組み合わせ）がどの程度もたらされた場合に人体にとって危険である（感染や腫瘍への抵抗性が低下する）という判断を下せるかということである。ヒトでの低用量慢性暴露において、動物を用いる免疫毒性試験で設定されているパラメーターの変化が臨床症状とどのように相関しているかを示す定量的データをとることが難しく<sup>139)</sup>かつ少ない<sup>140)</sup>こともあり、個々の免疫パラメーターの変化の許容に関する閾値の設定は漠然とされたまま残されている。ヒトでの感染や腫瘍に対する抵抗性の低下と個々の免疫パラメーターの変化の相関に関する疫学データの蓄積が今後とも必要とされる。ヒトでの健康状態と免疫パラメーターがどの程度関連しているかを推定する意味で、実験動物において（シミュレーション系として）その相関を検討することは重要と考えられる。この問題を詰めていくと、感染や腫瘍への宿主抵抗性のモデルを用いてすべての化学物質の免疫毒性を検討すべきであるという結論に達するが、現在用いられている複数の宿主抵抗性モデル系で充分であるという保証は得られておらず、現実性の点でも困難がある。したがって、低用量慢性暴露による部分的な免疫機能低下を示す動物モデル系を複数用いて、感染および腫瘍への抵抗性への影響を詳しく検討し、その代替パラメーターの変化との定量的な関係を明らかにすることが今後とも必要と思われる。

ここで、免疫毒性物質間の相互作用について追記しておきたい。免疫抑制剤の併用による相乗的な免疫抑制が報告されている。この現象は免疫抑制剤の副作用を軽減する方法として注目されている<sup>141,142)</sup>ところであるが、逆の意味では、免疫毒性を有する物質が相互に相乗的に作用する可能性を示すものである。この点で、連続して同時に暴露を受ける可能性のある免疫毒性物質（薬剤を含めて）間の相互作用（相乗作用）の有無を再検討する必要があるように思われる。

自然環境においては、放射線、電磁波、UV光が免疫機能に影響を与えることが知られている。土壌や河川の農薬、PCB類、有害重金属による汚染、大気のアロマ族炭化水素、NO<sub>x</sub>、SO<sub>2</sub>、SO<sub>3</sub>、粉塵等による汚染、海洋の有機スズによる汚染、また、労働環境中の有機溶媒や粉塵、食品や飲料水の農薬やマイコトキシンによる汚染等が問題となっている。これらの環境汚染化学物質には免疫毒性を示すものが多いが、複合汚染が多く、原因の特定が難しい。



最近、大気汚染等により気道の反応性やIgE抗体産生が上昇し、即時型アレルギーが増加しているとの議論もあり<sup>143,144)</sup>、気道免疫系に対する化学物質の影響が注目を集めている。環境汚染物質のヒトでの免疫毒性評価は、勢い疫学調査に頼るところが大であるが、技術的な難しさもあり、データに乏しい。サルやマーモセットを用いるデータによって補う必要もあろうが、限界もある。これらの環境汚染物質の免疫毒性を実験動物を用いて検討する際に必要とされる重要なポイントは、(1)低用量慢性暴露の影響を見る必要性、(2)環境をシミュレートした暴露(吸入、経口、皮膚吸収など)および適切なパラメーターの選択、(3)複合汚染の免疫系への作用の評価法の開発の点にあると思われるが、種々の技術的な問題があり未だ十分に解決されていないところである。免疫機能の変化が、鋭敏であることを利用し、逆に、環境汚染の度合いを測定する試みもある。例えば、海洋汚染を魚類の免疫機能低下をパラメーターとしてモニターすることが試みられている<sup>145)</sup>。

## 5. おわりに

免疫毒性の特性は標的としての免疫系の複雑さにある。複雑であっても、複数の独立した標的細胞群の集合体と考えることが可能であれば、個々の細胞群への毒性を、他の臓器毒性と同様な考え方で処理しうる。しかしながら、この項目のあまりの多さに加えて、各々の細胞群の機能が相互に独立していないことがきわめて難しい問題を提供しているといえよう。

前節で述べたように、宿主抵抗性と個々の免疫パラメーターの間の定量的な関係はまだ十分に明らかにされていない。さらに、個々のパラメーターの感度も大きく異なっている。免疫毒性評価においては、評価の定まっていないパラメーターを含む複数の感度の異なるパラメーターを同時に考慮しなければならない。このため、従来のリスクアセスメントの手法を単純に応用できないケースも多いものと想定される。しかしながら、当面は免疫パラメーターの変化を“potential risk”と捉えてリスクアセスメントを行うことが賢明と考えられる。いずれにせよ、当該化学物質の使用上の特殊性を考慮の上、ケースバイケースで慎重な総合的判断をすることが必要とされよう。

## 文 献

- 1) 澤田純一：トキシコロジーフォーラム 9, 570~577 (1986)
- 2) 大沢基保：トキシコロジーフォーラム 8, 684~692 (1985)
- 3) Descotes, J., *Immunotoxicology of Drugs and Chemicals*, Elsevier, Amsterdam (1986)
- 4) Dean, J. H., Murray, M. J. and Ward, E. C.: *Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons (Third Edition)*, MacMillan, New York, p. 245~285 (1986); 寺尾允男, 澤田純一訳：トキシコロジー (第三版) (福田英臣, 内山 充, 佐藤哲男監訳), 同文書院, p. 256~298 (1988)
- 5) Gleichmann, E., Kimber, I. and Purchase, I. F. H.: *Arch. Toxicol.*, **63**, 257~273 (1989)
- 6) 多田富雄監訳：免疫学イラストレイテッド, 南光堂 (1990)
- 7) 花岡正男, 玉置憲一：免疫細胞, 文光堂 (1993)
- 8) Harris, M. W., Moore, J. A., Vos, J. G. and Gupta, B. N.: *Environ. Health Perspect.*, **5**, 101~109 (1973)
- 9) Vos, J. G., Moore, J. A. and Zinkl, J. G.: *Environ. Health Perspect.*, **5**, 149~162 (1973)
- 10) Gupta, B. N., Vos, J. G., Moore, J. A., Zinkl, J. G. and Bullock, B. C.: *Environ. Health Perspect.*, **5**, 125~140 (1973)
- 11) Lundberg, K.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **178**, 16~23 (1991)
- 12) Silverstone, A. E., Frazier, D. E. Jr., Fiore, N. C., Soultz, J. A. and Gasiewicz, T. A.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **126**, 248~259 (1994)
- 13) Greenlee, W. F., Dold, K. M., Irons, R. D. and Osborne, R.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **79**, 112~120 (1985)
- 14) De Waal, E. J., Rademakers, L. H. P. M., Schuurman, H.-J., van Loveren, H., Vos, J. G.: *Arch. Toxicol.*, **67**, 558~564, 1993
- 15) Luster, M. I., Hong, L. H., Boorman, G. A., Clark, G., Hayes, H. T., Greenlee, W. F., Dold, K. and Tucker, A. N.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **81**, 156~165 (1985)
- 16) Chastain, J. E. Jr. and Pazdernik, T. L.: *Int. J. Immunopharmacol.*, **7**, 849~856 (1985)
- 17) Fine, J. S., Silverstone, A. E. and Gasiewicz, T. A.: *J. Immunol.*, **144**, 1169~1176 (1990)
- 18) Dean, J. H. and Lauer, L. D.: *Public Health Risk of the Dioxins*, ed. by Lawrence, W. W., William Kaufmann, Los Altos, pp. 275~294

- (1984)
- 19) Thomas, P. T. and Faith, R. E.: *Immunotoxicology and Immunopharmacology*, ed. by Dean, et al., Raven Press, New York, pp. 305~313 (1985)
  - 20) Dooley, R. K. and Holsapple, M. D.: *Immunopharmacology*, **16**, 167~180 (1988)
  - 21) Vecchi, A., Mantovani, A., Sironi, M., Luini, W., Spreafico, F. and Garattini, S.: *Arch. Toxicol., Suppl.* **4**, 163~165 (1980)
  - 22) Dooley, R. K., Morris, D. L. and Holsapple, M. P.: *Immunopharmacology*, **19**, 47~58 (1990)
  - 23) Hanson, C. D. and Smialowicz, R. J.: *Toxicology*, **88**, 213~224 (1994)
  - 24) Neubert, R., Jacob-Mueller, U., Stahlmann, R., Helge, H. and Neubert, D.: *Arch. Toxicol.*, **64**, 345~359 (1990)
  - 25) Neubert, R., Stahlmann, R., Korte, M., van Loveren, H., Vos, J. G., Golor, G., Webb, J. R., Helge, H. and Neubert, D.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **685**, 662~686 (1993)
  - 26) Neubert, R., Golor, G., Stahlmann, R., Helge, H. and Neubert, D.: *Arch. Toxicol.*, **66**, 250~259 (1992)
  - 27) Reggiani, G.: *Arch. Toxicol.*, **40**, 161~188 (1978)
  - 28) Reggiani, G.: *J. Toxicol. Environ. Health*, **6**, 27~43 (1980)
  - 29) Wolfe, W. H., Michalek, J. E., Miner, J. C., Rahe, A., Silva, J., Thomas, W. F., Grubbs, W. D., Lustik, M. B., Karrison, T. G., Roegner, R. H. and Williams, D. E.: *J. Am. Med. Assoc.*, **264**, 1824~1831 (1990)
  - 30) Knutsen, A. P.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **33**, 673~681 (1984)
  - 31) Hoffman, R. E., Stehr-Green, P. A., Webb, K. B., Evans, R. G., Knutsen, A. P., Schramm, W. F., Staake, J. L., Gibson, B. B. and Steinberg, K. K.: *J. Am. Med. Assoc.*, **255**, 2031~2038 (1986)
  - 32) Neubert, R., Maskow, L., Webb, J., Jacob-Mueller, U., Nogueira, A. C., Delgado, I., Helge, H. and Neubert, D.: *Life. Sci.*, **53**, 1995~2006 (1993)
  - 33) Poland, A. and Glover, E.: *J. Biol. Chem.*, **251**, 4936~4945 (1976)
  - 34) Landers, J. P. and Bunce, N. J.: *Biochem. J.*, **276**, 273~287 (1991)
  - 35) Okey, A. B., Riddick, D. S. and Harper, P. A.: *Trends Pharmacol. Sci.*, **15**, 226~232 (1994)
  - 36) Poland, A. and Glover, E.: *Mol. Pharmacol.*, **17**, 86~94 (1980)
  - 37) Vecchi, A., Sironi, M., Canegrati, M. A., Recchia, M. and Garattini, S.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **68**, 434~441 (1983)
  - 38) Harper, N., Connor, K. and Safe, S.: *Toxicology*, **80**, 217~227 (1993)
  - 39) Kerkvliet, N. I., Baecher-Steppan, L., Smith, B. B., Youngberg, J. A., Henderson, M. C. and Buhler, D. R.: *Fund. Appl. Toxicol.*, **14**, 532~541 (1990)
  - 40) Alsharif, N. G., Lawson, T. and Stohs, S. J.: *Toxicology*, **92**, 39~51 (1994)
  - 41) Holsapple, M. P., Morris, D. L., Wood, S. C. and Snyder, N. K.: *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **31**, 73~100 (1991)
  - 42) Karras, J. G. and Holsapple, M. P.: *Exp. Clin. Immunogenet.*, **11**, 110~118 (1994)
  - 43) Holsapple, M. P., McCay, J. A. and Barnes, D. W.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **83**, 445~455 (1986)
  - 44) Holsapple, M. P., Dooley, R. K., McNerney, P. J. and McCay, J. A.: *Immunopharmacology*, **12**, 175~186 (1986)
  - 45) Taylor, M. J., Lucier, G. W., Mahler, J. F., Thompson, M., Lockhart, A. C. and Clark, G. C.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **117**, 126~132 (1992)
  - 46) Alsharif, N. Z., Hassoun, E., Bagchi, M., Lawson, T. and Stohs, S. J.: *Pharmacology*, **48**, 127~136 (1994)
  - 47) Moos, A. B., Baecher-Steppan, L. and Kerkvliet, N. I.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **127**, 331~335 (1994)
  - 48) Penninks, A. H., Snoeij, N. J., Pieters, R. H. H. and Seinen, W.: *Immunotoxicity of Metals and Immunotoxicology*, ed. by Dayan, A. D. et al., Plenum Press, New York, pp. 191~207 (1990)
  - 49) Snoeij, N. J., Penninks, A. H., Seinen, W.: *Int. J. Immunopharmacol.*, **10**, 891~899 (1988)
  - 50) Aw, T. Y., Nicotera, P., Manzo, L. and Orrenius, S.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **283**, 46~50 (1990)
  - 51) Raffray, M. and Cohen, G. M.: *Arch. Toxicol.*, **65**, 135~139 (1991)
  - 52) Raffray, M. and Cohen, G. M.: *Arch. Toxicol.*, **67**, 231~236 (1993)
  - 53) Chow, S. C., Kass, G. E. N., McCabe, M. J. Jr. and Orrenius, S.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **298**, 143~149 (1992)
  - 54) Chows, S. C. and Orrenius, S.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **128**, 19~26 (1994)

- 55) Vos, J. G., De Klerk, A., Krajnk, E. I., Kruizinga, W., van Ommen, B. and Rozing, J.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **75**, 387~408 (1984)
- 56) Vos, J. G., De Klerk, A., Krajnk, E. I., van Loveren, H. and Rozing, J.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **105**, 144~155 (1990)
- 57) Elferink, J. G. R., Deierkauf, M. and van Steveninck, J.: *Biochem. Pharmacol.* **35**, 3727~3732 (1986)
- 58) Ward, E. C., Murray, M. J. and Dean, J. H.: *Immunotoxicology and Immunopharmacology*, ed. by Dean, J. H. et al., Raven Press, New York, pp. 291~303 (1985)
- 59) White, K. L. Jr., Lysy, H. H. and Holsapple, M. P.: *Immunopharmacology*, **9**, 155~164 (1985)
- 60) Blanton, R. H. Myers, M. J. and Bick, P. H.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **93**, 267~274 (1988)
- 61) Lyte, M. L. and Bick, P. H.: *Int. J. Immunopharmacol.*, **8**, 377~381 (1986)
- 62) Lyte, M. L., Blanton, R. H., Myers, M. J. and Bick, P. H.: *Int. J. Immunopharmacol.*, **9**, 307~312 (1987)
- 63) Kawabata, T. T. and White, K. L. Jr.: *Cancer Res.*, **47**, 2317~2322 (1987)
- 64) Kawabata, T. T. and White, K. L. Jr.: *Cancer Res.*, **49**, 5816~5822 (1989)
- 65) Ladics, G. S., Kawabata, T. T., Munson, A. E. and White, K. L. Jr.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **116**, 248~257 (1992)
- 66) Ladics, G. S., Kawabata, T. T., Munson, A. E. and White, K. L. Jr.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **116**, 258~266 (1992)
- 67) Ladics, G. S., Kawabata, T. T., Munson, A. E. and White, K. L. Jr.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **115**, 72~79 (1992)
- 68) White, K. L. Jr. Kawabata, T. T. and Ladics, G. S.: *Immunotoxicology and Immunopharmacology (Second Edition)*, Raven Press, pp. 123~142 (1994)
- 69) McCabe, M. J. Jr.: *Immunotoxicology and Immunopharmacology (Second Edition)*, ed. by Dean, J. H. et al., pp. 143~162 (1994)
- 70) Fischbein, A., Tsang, P., Luo, J.-C. J., Roboz, J. P., Jiang, J. D. and Bekesi, J. G.: *Clin. Immunol. Immunopathol.*, **66**, 163~168 (1993)
- 71) Wedeen, R. P., Mallik, D. K. and Batuman, V.: *Arch. Intern. Med.*, **139**, 53~57 (1979)
- 72) Queiroz, M. L. S., Costa, F. F., Bincoletto, C., Perlingeiro, R. C. R., Dantas, D. C. M., Cardoso, M. P. and Almeida, M.: *Int. J. Immunopharmacol.*, **16**, 239~244 (1994)
- 73) Kowolenko, M., Tracy, L., Mudzinski, S. and Lawrence, D. A.: *J. Leuk. Biol.*, **43**, 357~364 (1988)
- 74) Lawrence, D. A.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **57**, 439~451 (1981)
- 75) McCabe, M. J. Jr. and Lawrence, D. A.: *J. Immunol.*, **145**, 671~677 (1990)
- 76) McCabe, M. J. Jr. and Lawrence, D. A.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **111**, 13~23 (1991)
- 77) Mathieson, P. W.: *Autoimmunity*, **13**, 243~247 (1992)
- 78) Pelletier, L., Castedo, M., Bellon, B., and Druet, P.: *Immunotoxicology and Immunopharmacology (Second Edition)*, ed. by Dean, H. H. et al., Raven Press, New York, pp. 539~552 (1994)
- 79) Dubey, C., Bellon, B. Hirsch, F., Kuhn, J., Vial, M. C., Goldman, M. and Druet, P.: *Clin. Exp. Immunol.*, **86**, 118~123 (1991)
- 80) Pelletier, L., Pasquier, R., Hirsch, F., Sapin, C. and Druet, P.: *J. Immunol.*, **137**, 2548~2554 (1986)
- 81) Rossert, J., Pelletier, L., Pasquier, R. and Druet, P.: *Eur. J. Immunol.*, **18**, 1761~1766 (1988)
- 82) Van der Meide, P. H., de Labie, M. C. D. C., Botman, C. A. D., van Bennekom, W. P., Olsson, T., Aten, J. and Weening, J. J.: *Eur. J. Immunol.*, **23**, 765~681 (1993)
- 83) Molina, A., Sanchez-Madrid, F., Bricio, T., Martin, A., Barat, A., Alvarez, V. and Mampaso, F.: *J. Immunol.*, **153**, 2313~2320 (1994)
- 84) Friedman, H., Shivers, S. C. and Klein, T. W.: *Immunotoxicology and Immunopharmacology (Second Ed.)*, ed. by Dean, J. H. et al., Raven Press, New York, pp. 303~322 (1994)
- 85) Kaminski, N. E.: *Immunotoxicology and Immunopharmacology (Second Ed.)*, ed. by Dean, J. H. et al., Raven Press, New York, pp. 349~362 (1994)
- 86) Munro, S., Thomas, K. L. and Abu-Shaar, M.: *Nature*, **365**, 61~65 (1993)
- 87) Yahya, M. D. and Watson, R. R.: *Life Sci.*, **41**, 2503~2510 (1987)
- 88) MacDonough, R. J., Madden, J. J., Falek, A., Shafer, D. A., Pline, M., Gordon, D., Bokos, P., Kuehnie, J. C. and Mendelson, J.: *J. Immunol.*, **125**, 2539~2543 (1980)
- 89) Novick, D. M., Ochshorn, M., Ghali, V.,

- Crosson, T. S., Mercer, W. D., Chiorazzi, N. and Kreek, M. J.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **250**, 606~610 (1989)
- 90) Hung, C. Y., Lefkowitz, S. S. and Geber, W. F.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **142**, 106~111 (1973)
- 91) Lefkowitz, S. S. and Chiang, C. Y.: *Life Sci.*, **17**, 1763~1767 (1975)
- 92) Bryant, H. U. and Roudebush, R. E.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **255**, 410~414 (1990)
- 93) Maity, R., Mukherjee, R. and Skolnick, P.: *Immunopharmacology*, **29**, 175~183 (1995)
- 94) Freier, D. O. and Fuchs, B. A.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **265**, 81~88 (1993)
- 95) Peterson, P. K., Molitor, T. W. and Chao, C. C.: *Biochem. Pharmacol.*, **46**, 343~348 (1993)
- 96) Saini, A. and Sei, Y.: *Life Sci.*, **52**, 1751~1758 (1993)
- 97) Carr, D. J. J., Gebhardt, B. M. and Paul, D.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **264**, 1179~1186 (1993)
- 98) Sodhi, A. and Kumar, R.: *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, **7**, 65~77 (1994)
- 99) Manthey, C. L., Perera, P.-Y., Salkowski, C. A. and Vogel, S. N.: *J. Immunol.*, **152**, 825~831 (1994)
- 100) Nogueira, C., Neubert, R., Helge, H. and Neubert, D.: *Life Sci.*, **55**, 77~92 (1994)
- 101) Levine, A. M., Gill, P. S., Cohen, J., Hawkins, J., Formenti, S., Aguilar, S., Meyer, P. R., Krailo, M., Parker, J., and Rasheed, S.: *Ann. Intern. Med.*, **105**, 32~37 (1986)
- 102) Chitwood, K. K. and Heim-Duthoy, K. L.: *Pharmacology*, **13**, 447~454 (1993)
- 103) Teodorczyk-Injeyan, J., Cembrzynska-Nowak, M., Lalani, S. and Kellen, J. A.: *Anti-cancer Res.*, **13**, 279~284 (1993)
- 104) Viora, M., Camponeschil, B., D'Ambrosio, A., Di Carlo, S., Bacosi, A., Zuccaro, P. and Pacifici, R.: *Immunol. Infect. Dis.*, **4**, 47~52 (1994)
- 105) Dezube, B., Sherman, M. L., Fridovich-Keil, J. L., Allen-Ryan, J. and Pardee, A. B.: *Cancer Immunol. Immunother.*, **36**, 58~60 (1993)
- 106) Moreira, A. L., Sampaio, E. P., Zmuidzinas, A., Frindt, P., Smith, K. A. and Kaplan, G.: *J. Exp. Med.*, **177**, 1675~1680 (1993)
- 107) Kammüller, M. E. and Bloksma, N.: *Immunotoxicology and Immunopharmacology* (Second Edition), ed by Dean, J. H. et al., Raven Press, pp. 573~588 (1994)
- 108) Ercegovich, D. D.: *Fed. Proc.*, **32**, 2010~2016 (1973)
- 109) Barnett, J. B. and Rodgers, K. E.: *Immunotoxicology and Immunopharmacology* (Second Edition), ed by Dean, J. H. et al., Raven Press, pp. 191~212 (1994)
- 110) Warheit, D. B. and Hesterberg, T. W.: *Immunotoxicology and Immunopharmacology*. (Second edition), Raven Press, pp. 363~376 (1994)
- 111) Warheit, D. B., George, G., Hill, L. H., Snyderman, R. and Brody, A. R.: *Lab. Invest.*, **52**, 505~514 (1985)
- 112) Rosenthal, G. J., Germolec, D. R., Blazka, M. E., Corsini, E., Simeonova, P., Pollock, P., Kong, L.-Y., Kwon, J. and Luster, M. I.: *J. Immunol.*, **153**, 3237~3244 (1994)
- 113) Warheit, D. B., Hill, L. H., George, G. and Brody, A. R.: *Am. Rev. Respir. Dis.*, **134**, 128 (1986)
- 114) Norbury, K. C.: *Pharmacol. Rev.*, **34**, 131~136 (1982)
- 115) Rose, N. R. and Margolick, B. M.: *Clinical Toxicology*, ed by Newcombe, D. S. et al., Raven Press, New York, p. 9~25 (1992)
- 116) Vos, J. G.: *Arch. Toxicol. Suppl.* **4**, 95~108 (1980)
- 117) Vos, J., van Loveren, H., Wester, P. and Vethaak, D.: *Trends Pharmacol. Sci.*, **10**, 289~292 (1989)
- 118) Krajnc-Franken, M. A. M., van Loveren, H., Schuurman, H. J. and Vos, J. G.: *Immunotoxicity of Metals and Immunotoxicology*, Plenum Press, New York, p. 241~264 (1990)
- 119) Schuurman, H.-J., Kuper, C. F. and Vos, J. G.: *Toxicology*, **86**, 187~212 (1994)
- 120) Luster, M. I., Munson, A. E., Thomas, P. T., Holsapple, M. P., Fenters, J. D., White, K. L. Jr., Lauer, L. D., Germolec, D. R., Rosenthal, G. J. and Dean, J. H.: *Fund. Appl. Toxicol.* **10**, 2~19 (1988)
- 121) Luster, M. I., Portier, C., Pait, D. G., White, K. L. Jr., Gennings, C., Munson, A. E., and Rosenthal, G. J.: *Fund. Appl. Toxicol.* **18**, 200~210 (1992)
- 122) 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.: *Toxicol. Lett.* **64/65**, 71~78 (1992)
- 123) 吉田 彪：免疫薬理, **10**, 121~126 (1992)
- 124) Luster, M. I., Portier, C., Pait, D. G., Rosenthal, G. J., Germolec, D. R., Corsini, E., Blaylock, B. L., Pollock, P., Kouchi, Y.,

- Craig, W., White, K. L., Munson, A. E. and Comment, C. E.: *Fund. Appl. Toxicol.* **21**, 71~82 (1993)
- 125) Koller, L. D. and Exon, J. H.: *Immunotoxicology and Immunopharmacology*, Raven Press, New York, p. 99~111 (1985)
- 126) Berlin, A., Dean, J., Draper, M. H., Smith, E. M. B. and Spreafico, F. (ed): *Immunotoxicology*, Martinus Nijhoff, Hingham (1987)
- 127) IPCS: Report of a Technical Review Meeting, London (Feb. 1986)
- 128) Dayan, A. D., Hertel, R. F., Heseltine, E., Kazantzis, G., Smith, E. M. and Van der Venne, M. T. (ed.): *Immunotoxicity of Metals and Immunotoxicology*, Plenum Press, New York, pp. 3~15 (1990)
- 129) 寺尾允男: 衛生試験所報告, **106**, 1~10 (1988)
- 130) ICICIS: General conclusions from the collaborative studies of azathiopurine and cyclosporin A. (1995)
- 131) 落合敏秋, 松本清司, 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, 池淵秀治, 沢田純一: 衛生試験所報告, **111**, 91~99 (1993)
- 132) OECD: OECD Guideline for the Testing of Chemicals. Draft Updated Guideline 407. Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents. (Oct. 1994)
- 133) Center for Food Safety and Applied Nutrition, US Food and Drug Administration: Toxicological principles for the safety assessment of direct food additives and color additives used in food. "Redbook II" (Draft). (1993)
- 134) 三森国敏, 高橋道人: JSIT Newsletter (免疫毒性研究会), No. 1, p. 5~6 (1995)
- 135) Mongey, A.-N. and Hess, E. V.: *J. Lab. Clin. Med.*, **122**, 652~657 (1993)
- 136) Kilburn, J. H. and Warshaw, R. H.: *Immunotoxicology and Immunopharmacology* (Second Edition), Raven Press, New York, p. 523~538 (1994)
- 137) Descotes, J.: *Toxicol. Lett.* **64/65**, 101~107 (1992)
- 138) Burrell, R.: *Mol. Aspects Med.*, **14**, 1~81 (1993)
- 139) Biagini, R. E., Ward, E. M., Vogt, R. and Henningsen, G. M.: *Immunotoxicology and Immunopharmacology* (Second Edition), Raven Press, pp. 31~50 (1994)
- 140) Luster, M. I., Germolec, D. R. and Rosenthal, G. J.: *Ann. Allergy*, **64**, 427~432 (1990)
- 141) Thomson, A. W.: *Immunol. Today*, **10**: 6~9 (1989)
- 142) Murase, M., Starzl, T. E., Demetris, A. J., Demetris, A. J., Valdivia, L., Tanabe, M., Cramer, D. and Makowka, L.: *Transplantation*, **55**, 701~708 (1993)
- 143) Takafuji, S., Suzuki, S., Koizumi, K., Tado-koro, K., Miyamoto, T., Ikemori, R. and Muranaka, M.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **76**, 639~645 (1987)
- 144) Balmes, J. R.: *Environ. Health Perspect.*, **101**, Suppl. 4, 219~224 (1993)
- 145) Zelikoff, J. T.: *Immunotoxicology and Immunopharmacology* (Second Edition), Raven Press, pp. 71~95 (1994)

防かび剤 N-(fluorodichloromethylthio) phthalimide の  
ラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験

松島裕子・津田充宥・内藤克司・斉藤 実・伊佐間和郎  
五十嵐良明・川崎 靖・門馬純子・北嶋 聡・鹿庭正昭  
土屋利江・中村晃忠・井上 達・黒川雄二

Twenty-eight Days Repeated Dose Toxicity Test of  
N-(fluorodichloromethylthio) phthalimide in Rats

Yuko Matsushima, Mitsuhiro Tsuda, Katushi Naito, Minoru Saitoh,  
Kazuo Isama, Yoshiaki Ikarashi, Yasushi Kawasaki, Junko Momma,  
Satosi Kitajima, Masaaki Kaniwa, Tosie Tutiya, Akitada Nakamura,  
Tohru Inoue and Yuji Kurokawa

N-(Fluorodichloromethylthio) phthalimide (Fluor-folpet) has been widely used as an anti-mold and anti-bacterial agent. In this study, 28 days repeated-dose oral toxicity study of fluor-folpet was carried out in Slc:Wistar rats.

An oral toxicity study for fluor-folpet, the twenty-eight days test, repeated-dose, oral administration, was performed as follows: Five week-old rats, male and female, 10 rats, each/group, were treated with intragastric administration of fluor-folpet with a dose of 0 (1% Sodium CMC, control), 20, 80 and 320 mg/kg, body weight. Recovery test, for 14 days after the last treatment, was examined for the control and the 320 mg/kg groups.

The 320 mg/kg groups, both males and females, showed significantly reduced their body-weight gain compared with the control group. In the 320 mg/kg group, five out of 20 male rats and four out of 20 female rats died from dyspnea during the treatment period.

In the female rats in the 320 mg/kg group, serum ChE level was decreased to 50% of control level and  $\gamma$ -GT was increased in a dose-dependent manner, but these serum levels recovered after 14 days non-treatment period.

No histopathological change, relating to the treatment, in liver was observed. Increased weight of the kidney and vacuolation in renal tubules were found in both sexes of 320 mg/kg group. Hyperkeratosis and hyperplasia of the stomach epithelium were observed at the dose more than 80 mg/kg in male, and more than 20 mg/kg in female.

A supplemental study, repeated-dose, oral administration in rats carried out to examine the dyspnea revealed that severe acute toxic damages in epithelium of nasal cavity and meatus nasopharyngeus were induced by intragastric administration of fluor-folpet. Fluor-folpet is shown to be cytotoxic.

In conclusion, the no-observed-effect level (NOEL) for fluor-folpet was not found under the experimental conditions employed in this repeated-dose toxicity study.

**Keywords** : fluor-folpet, forestomach-hyperplasia, wistar rat, Nasal cavity epithelium injury, a twenty-eight-day repeated oral dose toxicity test

(Received May 31, 1995)

はじめに

N-(Fluorodichloromethylthio) phthalimide (以

下 fluor-folpet) は、かびおよび細菌に対して幅広い抗菌スペクトルを示し、熱、酸およびアルカリに対しても安定なことから、軟質塩化ビニール樹脂、

軟質ウレタンフォーム、ポリウレタンエラストマー等の防かび処理剤、殺菌塗料剤、殺虫剤、殺藻剤(防汚剤)として広く使用されている<sup>1)</sup>。

Fluor-folpetの母核構造物質であるN-(trichloromethylthio)phthalimide (以下Folpet)は農薬として使用されていたが<sup>2)</sup>、マウスに十二指腸腫瘍を発生させることが知られている<sup>3)</sup>。Fluor-folpetの毒性に関しては、単回投与による急性毒性が検討されているのみであり、反復投与によりfolpetと同様の毒性が予想されるとともに、フッ素置換により毒性がどのように修飾されるかは毒性学的にも興味深い。

今回我々は、家庭用品に使用される化学物質の安全性評価研究の一環として、Wistarラットの雌雄を用いてfluor-folpetの28日間反復強制経口投与毒性試験を実施した。さらに、本被験物質による鼻腔上皮への障害が顕著であったことからニュートラルレッド法による細胞毒性試験を実施した。

### 試験材料および方法

#### 1. 被験物質

N-(Fluorodichloromethylthio)phthalimide (一般名Fluor-folpet, 商品名Preventol A3, CAS Reg. No. 719-96-0)は、バイエルジャパンより入手した。本品は、分子量280.05, 密度0.7 g/cm<sup>3</sup>, 融点142~146°Cで水に難溶(20°Cで0.0015 w/v%), アセトン(12.0), メタノール(1.2), キシレン(3.6)に若干溶解し, 光および熱(分解温度230°C)に対しては安定, 耐酸, 耐アルカリ性(ただし, 強アルカリで徐々に分解)であり, 生ゴム臭を有する白色粉末の物質である。Fig. 1にその化学構造を示した。

#### 2. 調製被験物質の定量法

試料液: 0.2%懸濁液を用いて調製当日と室温1週間放置後の濃度を測定し, 安定性を確認した。さらに, 28日間反復投与毒性試験で用いる各試料懸濁液濃度を定量した。

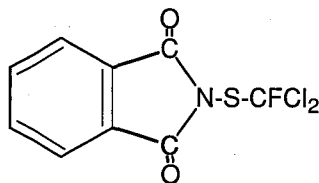


Fig. 1. N-(Fluorodichloromethylthio)phthalimide

試験溶液: 試料液を精製水で2倍に希釈し, その2 mlにクロロホルム20 mlを加えて室温で30分間激しく振とう後, 遠心分離し, クロロホルム層を試験溶液とした。

HPLC: 試験溶液の20  $\mu$ lを次の条件のHPLC法により分析した。

分析装置: 高速液体クロマトグラフLC-6A (島津製作所)

フォトダイオードアレイ紫外可視検出器SPD-M6A (島津製作所)

カラム: Senshu Pak Silica-1151-N (4.6  $\phi$ mm  $\times$  150 mm)

カラム温度: 40°C

移動相: ヘキサン/クロロホルム (3/1 v/v)

流速: 1.0 ml/min

検出波長: 238 nm

#### 3. 動物, 飼育環境および群分け

4週齢のSlc: Wistarラット(日本エスエルシー株)を雌雄各73匹購入し, 1週間の馴化飼育後, 山崎らの方法<sup>4)</sup>により1群10匹とし6群に群分けし, さらに, 各群は体重別無作為化割付けにより5匹ずつに分け, 5週齢で試験を開始した。各群の一方の5匹については, 尿検査, 血液学的検査および血清生化学検査, 臓器重量測定, 病理組織学的検査を, 残りの5匹は血液凝固能検査を実施した。なお, 320 mg/kg群では, 雄5匹, 雌4匹が途中死亡したため, 雄は投与25日目, 雌は23日目の体重を基に体重別無作為化割付けにより, 28日間試験雄5匹・雌5匹, 28日間試験凝固能検査雄3匹・雌4匹, 回復試験雄4匹・雌4匹, 回復試験凝固能検査雄3匹・雌3匹に分け直した。

試験は, 温度24 $\pm$ 1°C, 湿度55 $\pm$ 5%, 換気回数18回/時, 照明12時間(5時~17時)に設定されたバリア方式の動物室で実施した。動物は, アルミ製金網ケージで個別飼育し, F-2固型飼料(船橋農場株)および水道水を自由に摂取させた。

#### 4. 投与用量の設定および投与方法

用量設定試験は, 急性毒性試験で得られたLD<sub>50</sub>値, 2800 mg/kgの約1/5量である600 mg/kgを最高投与量として0 (1% CMC), 5, 10, 20, 75, 150, 300, 450および600 mg/kgの9用量を設定し, 各群雌雄各4匹を用いて17日間反復経口投与を行った。その結果, 300 mg/kg以上の群で体重増加抑制がみられ, 450 mg/kg以上の群で死亡例がみられた。病理組織学的検査では75 mg/kg以上

の群で前胃上皮の過形成がみられたが、20 mg/kg 群では体重増加、臓器重量、病理組織検査は対照群と同じであった。

用量設定試験の結果を考慮し、28 日間試験では 0 (1% CMC, 対照群), 20, 80 および 320 mg/kg/day の 4 用量を設定し、さらに 0 と 320 mg/kg 群には 14 日間の休薬による回復群を設けた。各群の投与懸濁液の容量が 0.5 ml/100 g 体重となるように試料調製し、テフロン経口ゾンデを用いて 28 日間強制経口投与した。

### 5. 検査項目

一般状態および死亡の有無は毎日観察した。体重

と飼料摂取量は、初回投与から 3 日間は毎日、その後 2~3 日毎、回復期間中は週 1 回測定した。飲水量の測定は、検体投与期間中は各群より任意の 5 匹に対して毎週、回復期間中は 1 回行った。尿検査は、試験開始 25 日目 (回復群は試験終了前日) の投与後、自然排尿した新鮮尿を採取し pH, 蛋白質, ブドウ糖, ケトン体, ビリルビン, 潜血, ウロビリノーゲンおよび比重を尿検査用試験紙 (ラプスティック, マイルス/三共(株)) を用いて行った。血液学および血清生化学検査に用いた動物は、採血に先立って 16 時間絶食し、エーテル麻酔下にて眼窩静脈より採血した。血液学的検査は、多項目自動血球計

Table 1. Hematological and serum biochemical examinations

| Abbreviation | Items of measurement               | Kit Maker    |
|--------------|------------------------------------|--------------|
| Hematology   |                                    |              |
| RBC          | Red blood cell count               |              |
| Hb           | Hemoglobin concentration           |              |
| PCV          | Packed cell volume                 |              |
| MCV          | Mean cell volume                   |              |
| MCH          | Mean cell hemoglobin               |              |
| MCHC         | Mean cell hemoglobin concentration |              |
| Plt          | Platelet count                     |              |
| WBC          | White blood cell count             |              |
| Biochemistry |                                    |              |
| TP           | Total protein                      | Wako 1)      |
| Alb          | Albumin                            | Wako         |
| A/G          | Albumin-globulin ratio             |              |
| BUN          | Blood urea nitrogen                | Shinotest 2) |
| CRN          | Creatinine                         | BMJ 3)       |
| UA           | Uric acid                          | BMJ          |
| Glc          | Glucose                            | BMJ          |
| NEFA         | Non-esterified fatty acids         | Wako         |
| PL           | Phospholipids                      | Wako         |
| TG           | Triglycerides                      | BMJ          |
| TCho         | Total cholesterol                  | BMJ          |
| FCho         | Free cholesterol                   | BMJ          |
| ALP          | Alkaline phosphatase               | BMJ          |
| ALT(GPT)     | Alanine aminotransferase           | BMJ          |
| Amy          | $\alpha$ -Amylase                  | BMJ          |
| AsT(GOT)     | Asparatate aminotransferase        | BMJ          |
| ChE          | Cholinesterase 5)                  | BMJ          |
| $\gamma$ -GT | $\gamma$ -Glutamyltransferase      | BMJ          |
| LAP          | Leucine aminopeptidase             | BMJ          |
| LDH          | Lactate dehydrogenase              | BMJ          |
| Ca           | Calcium                            | Wako         |
| Mg           | Magnesium                          | Wako         |
| P            | Inorganic phosphorus               | Wako         |
| Na           | Sodium                             | Daiichi 4)   |
| K            | Potassium                          | Daiichi      |
| Cl           | Chlorine                           | Daiichi      |

1) Wako pure Chemical Industries. 2) Shinotest Laboratory.

3) Boehringer Mannheim Yamanouchi. 4) Daiichi pure Chemicals Co., Ltd..

5) Butyrylthiocholine as substrate.



数装置 (M-2000 型, 東亜医用電子(株)) を用いて, 血清生化学検査は, 臨床生化学自動分析装置 (7150 型, 日立製作所(株)) を用いてそれぞれ Table 1 に示した項目について測定した。白血球分類は, 血液細胞自動分析装置 (MICROX HEG120A 型, 立石電気(株)) で検査した。血液凝固能検査は, 動物を 16 時間絶食後, エーテル麻酔下で頸静脈より 3.8% クエン酸ナトリウム液を入れた注射筒で採血し, プロトロンビン時間 (PT) および活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) を血液凝固能測定装置 (CR10-14 型, AHS ジャパン(株)) を用いて測定した。血液学的および血清生化学検査に用いた動物は, エーテル麻酔下で, 頸動脈切断により放血致死させた後, 剖検し, 脳, 心臓, 肺, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 精巣, 卵巣, 下垂体, 副腎, 顎下腺 (舌下腺の一部を含む) および胸腺の重量を測定した。上記の臓器に加え胸骨, 大腿骨, 食道, 気管, 甲状腺, 胃, 小腸, 大腸, 脾臓, 腸間膜リンパ節, 精巣上体, 精囊, 前立腺, 子宮, 膣, 膀胱, 脊髄, 坐骨神経を 10%ホルマリン溶液で固定し, 常法に従いパラフィン切片を作製し, H-E 染色を施し病理組織学的検査を行った。

#### 6. 統計学的解析<sup>5)</sup>

体重, 飼料摂取量, 飲水量, 尿検査, 血液学的検

査, 血清生化学検査, 血液凝固能検査および臓器重量の結果は, 各群の分散比を Bartlett の方法で検定し, 等分散の場合は一元配置の分散分析を行い, 不等分散の場合は Kruskal-Wallis の方法により検定した。群間に有意差が認められた場合の多重比較は, 例数が等しければ Dunnett 型で, また例数が異なれば Scheffe 型でそれぞれ対照群と各投与群間との有意差検定を行った。回復試験の体重, 飼料摂取量, 血液学的検査, 血清生化学検査, 血液凝固能検査および臓器重量の結果は t-検定を行った。尿検査の結果は, Pitman 検定を行った。

#### 7. 呼吸器系障害を病理組織学的に精査するための追加試験

呼吸困難の発症には性差がみられなかったので一方の性を用いた。発症の用量相関性を見るために公比を用いて, 本試験に近似の用量とし, さらに高用量も追加した。

試験は, 雌性 Slc : Wistar ラットを用い各群 4 匹で, 公比を 3 にとり 0 (1% CMC), 30, 90, 270 および 810 mg/kg の 5 用量を設定し, 10 日間反復強制経口投与した。試験期間中に呼吸困難の症状が現れた動物は速やかに, 投与期間生存した動物は試験終了時に, エーテル麻酔下で放血致死させ, 咽頭より鼻腔内に 10%ホルマリン溶液を注入した。ホ

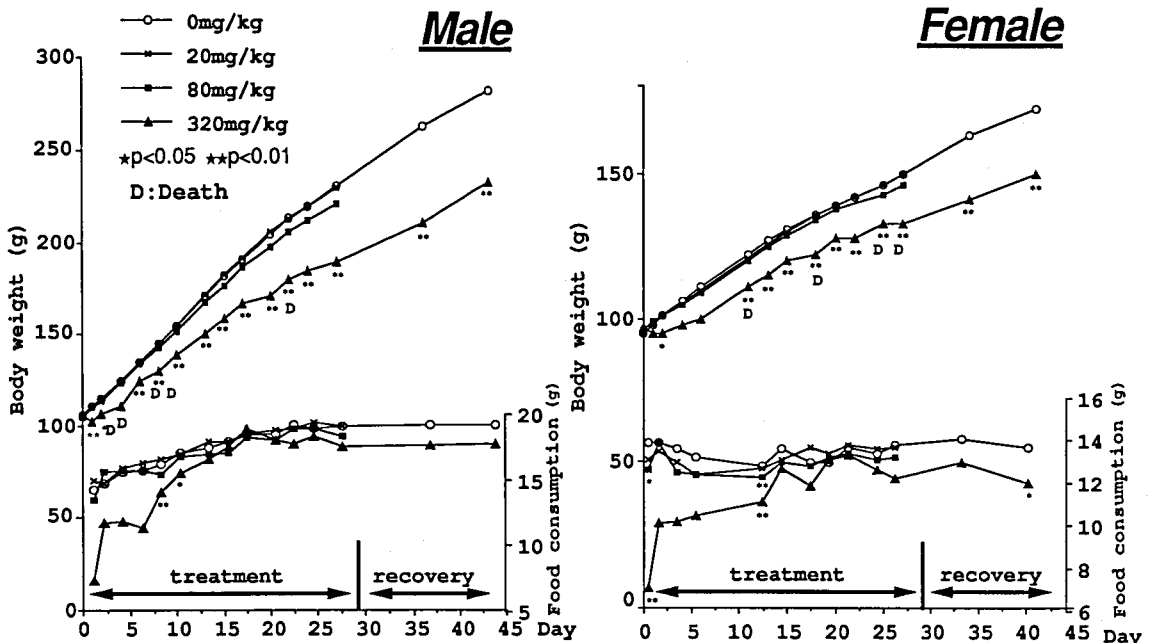


Fig. 2. Growth and food consumption curves in male and female rats treated with fluor-folpet for 28 days

ルマリン溶液に固定後、脱灰し、鼻腔は 8 カ所、気管は 4 カ所、肺は 3 カ所切りだした。常法に従いパラフィン包埋、H-E 染色を施し病理組織学的に検査した。

### 8. 細胞毒性試験

牛胎児血清 5% 含有の Eagle's MEM を用いて、V79 細胞  $9 \times 10^3$  コ/穴を 24 時間培養後、種々の濃度の被験物質を加え、さらに 24 時間培養した。上清を取り除き、ニュートラルレッド (NR) 溶液を加えて 3 時間培養後、ホルマリン溶液を加えて固定、洗浄した。さらに、1% 酢酸/50% エタノール溶液を加え NR を抽出し、540 nm における吸光度を測定した。被験物質未添加時の吸光度を 100% とし、これを 50% に減少させる被験物質の濃度を求めた。

## 結 果

### 1. 調製被験物質の定量

試料液 0.2% 調製当日の濃度は  $0.2 \pm 0.002\%$  であり、1 週間放置後の濃度は  $0.20 \pm 0.004\%$  であった。

試料液 0.4% (20 mg/kg 用)、1.6% (80 mg/kg 用) および 6.4% (320 mg/kg 用) の濃度は、それぞれ  $0.41 \pm 0.002\%$ 、 $1.60 \pm 0.011\%$  および  $6.39 \pm 0.095\%$  であった。

### 2. 検 査

#### 1) 一般状態および死亡の有無

雌雄とも 320 mg/kg 群では、投与初期に下痢がみられた。投与期間中に鼻音を発する動物が、80 mg/kg 群では雄 4 匹、雌 1 匹に、320 mg/kg 群では雄 4 匹、雌 7 匹に散発的にみられた。320 mg/kg 群で、雌雄各 20 匹中雄 5 匹、雌 4 匹が呼吸困難のため途中死亡した。

#### 2) 体重変化と飼料摂取量 (Fig. 2)

雌雄とも 320 mg/kg 群で飼料摂取量の減少に伴った有意な体重増加抑制がみられ、休薬期間後も回復しなかった。

#### 3) 飲水量

雌雄とも 320 mg/kg 群で投与期間中は、対照群に比し有意に飲水量の増加がみられたが、回復期間

Table 2. Serum chemistry in male rats treated with fluor-folpet for 28 days

| Group (mg/kg) | 28 days dosing test |              |              |               | 14 days recovery test |               |
|---------------|---------------------|--------------|--------------|---------------|-----------------------|---------------|
|               | 0                   | 20           | 80           | 320           | 0                     | 320           |
| Effective No. | 5                   | 5            | 5            | 5             | 5                     | 4             |
| TP g/dl       | 6.16 ± 0.10         | 6.20 ± 0.10  | 6.03 ± 0.17  | 5.94 ± 0.10*  | 6.36 ± 0.13           | 6.30 ± 0.15   |
| Alb g/dl      | 4.29 ± 0.07         | 4.34 ± 0.08  | 4.20 ± 0.12  | 4.11 ± 0.04** | 4.55 ± 0.09           | 4.49 ± 0.11   |
| A/G           | 2.29 ± 0.09         | 2.33 ± 0.08  | 2.30 ± 0.12  | 2.25 ± 0.17   | 2.53 ± 0.24           | 2.49 ± 0.14   |
| BUN mg/dl     | 12.79 ± 1.03        | 12.92 ± 0.63 | 13.16 ± 2.04 | 10.31 ± 1.09* | 17.36 ± 1.49          | 18.66 ± 0.32  |
| CRN mg/dl     | 0.23 ± 0.02         | 0.20 ± 0.02  | 0.19 ± 0.02* | 0.18 ± 0.03*  | 0.27 ± 0.03           | 0.30 ± 0.01   |
| UA mg/dl      | 0.89 ± 0.08         | 0.86 ± 0.13  | 1.10 ± 0.27  | 1.00 ± 0.15   | 0.68 ± 0.07           | 0.85 ± 0.24   |
| Glc mg/dl     | 143 ± 7             | 142 ± 15     | 177 ± 89     | 109 ± 4*      | 140 ± 6               | 132 ± 8       |
| NEFA mEq/l    | 0.74 ± 0.08         | 0.75 ± 0.10  | 0.87 ± 0.27  | 0.79 ± 0.07   | 0.87 ± 0.08           | 0.63 ± 0.08** |
| PL mg/dl      | 124 ± 19            | 112 ± 2      | 121 ± 32     | 97 ± 12       | 131 ± 8               | 120 ± 19      |
| TG mg/dl      | 142 ± 49            | 126 ± 19     | 150 ± 112    | 81 ± 16       | 233 ± 19              | 128 ± 20**    |
| TCho mg/dl    | 58 ± 9              | 52 ± 2       | 56 ± 11      | 49 ± 7        | 58 ± 7                | 60 ± 12       |
| FCho mg/dl    | 10.68 ± 2.69        | 8.63 ± 0.37  | 10.31 ± 3.71 | 9.73 ± 1.74   | 10.59 ± 1.63          | 10.48 ± 3.00  |
| ALP mU/ml     | 303 ± 26            | 296 ± 30     | 334 ± 92     | 337 ± 35      | 211 ± 18              | 249 ± 14*     |
| ALT mU/ml     | 38 ± 7              | 40 ± 4       | 35 ± 11      | 42 ± 7        | 46 ± 8                | 43 ± 5        |
| Amy mU/ml     | 5897 ± 328          | 5927 ± 356   | 5769 ± 620   | 5269 ± 328    | 5683 ± 379            | 5292 ± 407    |
| AsT mU/ml     | 75 ± 5              | 76 ± 6       | 69 ± 3       | 70 ± 5        | 81 ± 12               | 75 ± 6        |
| ChE mU/ml     | 167 ± 27            | 153 ± 7      | 159 ± 10     | 157 ± 14      | 186 ± 34              | 196 ± 44      |
| γ-GT mU/ml    | 0.26 ± 0.14         | 0.52 ± 0.35  | 0.57 ± 0.32  | 0.35 ± 0.39   | 0.77 ± 0.18           | 0.52 ± 0.29   |
| LAP mU/ml     | 43 ± 1              | 42 ± 1       | 42 ± 1       | 38 ± 2**      | 42 ± 2                | 46 ± 1**      |
| LDH mU/ml     | 468 ± 79            | 484 ± 87     | 423 ± 82     | 605 ± 276     | 361 ± 24              | 349 ± 42      |
| Ca mg/dl      | 10.0 ± 0.1          | 10.0 ± 0.1   | 10.1 ± 0.2   | 10.1 ± 0.2    | 10.1 ± 0.1            | 10.1 ± 0.1    |
| Mg mg/dl      | 2.15 ± 0.05         | 2.08 ± 0.08  | 2.16 ± 0.14  | 2.27 ± 0.13   | 2.10 ± 0.08           | 2.26 ± 0.14   |
| P mg/dl       | 8.1 ± 0.4           | 8.3 ± 0.2    | 8.6 ± 0.4*   | 8.9 ± 0.4**   | 7.2 ± 0.2             | 8.0 ± 0.6*    |
| Na mEq/l      | 134 ± 1             | 133 ± 1      | 133 ± 1      | 135 ± 1       | 136 ± 1               | 137 ± 0       |
| K mEq/l       | 5.0 ± 0.3           | 4.8 ± 0.2    | 4.7 ± 0.2    | 4.7 ± 0.3     | 4.5 ± 0.2             | 4.6 ± 0.3     |
| Cl mEq/l      | 101 ± 1             | 101 ± 1      | 98 ± 4       | 101 ± 1       | 101 ± 1               | 101 ± 2       |

Values represent mean ± S.D..

\* and \*\* show significant difference from the control at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively.

では差がみられなかった。

#### 4) 尿検査

雌雄ともに投与に起因する変化はみられなかった。

#### 5) 血液学的検査

雄の320 mg/kg群でMCVが有意に減少し、回復群では有意に増加した。MCHCは雄の320 mg/kg群で有意に増加した。雌の320 mg/kg群でMCVが有意に減少し、WBCは有意に増加した。雌の回復群で好酸球が有意に増加した。

#### 6) 血清生化学検査 (Table 2, 3)

雄については、320 mg/kg群でTP, Alb, Glc, LAPおよびBUNが有意に減少した。80 mg/kg以上の群でCRNが有意に減少した。回復群でNEFAおよびTGが有意に減少し、AIPおよびLAPは有意に増加した。80 mg/kg以上の群および回復群でPが有意に増加した。雌については、320 mg/kg群でUAが有意に増加し、ChEは有意に減少した。20および320 mg/kg群で $\gamma$ -GTが有意に増加した。80 mg/kg以上の群でPが有意に増加し、Clが有

意に減少した。80 mg/kg群でNaが有意に減少した。回復群でAITが有意に減少した。

#### 7) 血液凝固能検査

雌の回復群でプロトロンビン時間が有意に増加した。

#### 8) 臓器重量 (Table 4, 5)

雄では、絶対重量は、320 mg/kg群で心臓および胸腺、回復群で肝臓と胸腺に有意の減少がみられた。相対重量は、全投与群および回復群で腎臓が用量に伴って有意に増加した。320 mg/kg群で精巣と副腎が有意に増加し、胸腺が有意に減少した。回復群で脾臓、精巣、副腎および顎下腺が有意に増加した。雌では絶対重量は、320 mg/kg群で胸腺が有意に減少した。相対重量は、320 mg/kg群および回復群で腎臓が有意に増加した。320 mg/kg群で胸腺が有意に減少した。回復群では肺が有意に増加した。

#### 9) 病理組織学的所見 (Table 6, Photo 1)

主な所見として、雄では80と320 mg/kg群の全

Table 3. Serum chemistry in female rats treated with fluor-folpet for 28 days

| Group (mg/kg)      | 28 days dosing test |              |              |               | 14 days recovery test |              |
|--------------------|---------------------|--------------|--------------|---------------|-----------------------|--------------|
|                    | 0                   | 20           | 80           | 320           | 0                     | 320          |
| Effective No.      | 5                   | 5            | 5            | 5             | 5                     | 4            |
| TP g/dl            | 5.93 ± 0.11         | 5.95 ± 0.11  | 5.90 ± 0.26  | 5.71 ± 0.18   | 5.96 ± 0.12           | 5.80 ± 0.20  |
| Alb g/dl           | 4.21 ± 0.06         | 4.21 ± 0.13  | 4.20 ± 0.18  | 4.04 ± 0.19   | 4.36 ± 0.11           | 4.16 ± 0.14  |
| A/G                | 2.45 ± 0.13         | 2.44 ± 0.20  | 2.47 ± 0.09  | 2.43 ± 0.22   | 2.75 ± 0.33           | 2.55 ± 0.20  |
| BUN mg/dl          | 14.06 ± 0.77        | 14.50 ± 1.30 | 13.96 ± 0.97 | 11.88 ± 4.10  | 15.26 ± 1.53          | 16.27 ± 0.57 |
| CRN mg/dl          | 0.27 ± 0.02         | 0.24 ± 0.02  | 0.23 ± 0.02  | 0.24 ± 0.04   | 0.26 ± 0.04           | 0.27 ± 0.06  |
| UA mg/dl           | 0.62 ± 0.05         | 0.72 ± 0.12  | 0.74 ± 0.09  | 0.80 ± 0.10*  | 0.72 ± 0.14           | 0.82 ± 0.11  |
| Glc mg/dl          | 119 ± 4             | 125 ± 10     | 121 ± 8      | 107 ± 6*      | 133 ± 4               | 126 ± 20     |
| NEFA mEq/l         | 0.69 ± 0.15         | 0.63 ± 0.12  | 0.68 ± 0.10  | 0.76 ± 0.10   | 0.60 ± 0.07           | 0.69 ± 0.07  |
| PL mg/dl           | 149 ± 5             | 151 ± 16     | 152 ± 19     | 154 ± 13      | 142 ± 10              | 142 ± 7      |
| TG mg/dl           | 67 ± 10             | 63 ± 10      | 71 ± 20      | 79 ± 21       | 85 ± 22               | 66 ± 7       |
| TCho mg/dl         | 82 ± 6              | 84 ± 13      | 81 ± 11      | 80 ± 8        | 76 ± 11               | 79 ± 5       |
| FCho mg/dl         | 16.42 ± 2.11        | 16.99 ± 2.83 | 16.41 ± 3.34 | 16.03 ± 2.18  | 15.86 ± 3.91          | 15.83 ± 1.53 |
| AIP mU/ml          | 225 ± 16            | 256 ± 14     | 238 ± 7      | 227 ± 33      | 196 ± 25              | 200 ± 5      |
| AIT mU/ml          | 37 ± 14             | 34 ± 5       | 34 ± 6       | 39 ± 11       | 39 ± 6                | 31 ± 3*      |
| Amy mU/ml          | 2791 ± 385          | 3128 ± 182   | 3147 ± 782   | 3625 ± 410    | 3197 ± 498            | 3221 ± 170   |
| AsT mU/ml          | 76 ± 4              | 83 ± 10      | 77 ± 3       | 76 ± 5        | 77 ± 8                | 77 ± 9       |
| ChE mU/ml          | 1624 ± 173          | 1400 ± 146   | 1417 ± 375   | 728 ± 251**   | 1842 ± 312            | 1504 ± 390   |
| $\gamma$ -GT mU/ml | 0.11 ± 0.12         | 0.58 ± 0.28* | 0.46 ± 0.30  | 0.88 ± 0.34** | 1.23 ± 0.32           | 1.62 ± 0.88  |
| LAP mU/ml          | 47 ± 1              | 48 ± 4       | 44 ± 3       | 43 ± 2        | 45 ± 2                | 47 ± 2       |
| LDH mU/ml          | 307 ± 42            | 445 ± 254    | 452 ± 57     | 350 ± 61      | 359 ± 130             | 410 ± 144    |
| Ca mg/dl           | 9.6 ± 0.0           | 9.5 ± 0.1    | 9.6 ± 0.2    | 9.6 ± 0.3     | 9.4 ± 0.2             | 9.4 ± 0.1    |
| Mg mg/dl           | 2.14 ± 0.09         | 2.19 ± 0.06  | 2.15 ± 0.07  | 2.10 ± 0.15   | 2.10 ± 0.07           | 2.12 ± 0.07  |
| P mg/dl            | 6.3 ± 0.4           | 6.3 ± 0.4    | 6.9 ± 0.4*   | 7.3 ± 0.4**   | 5.4 ± 0.2             | 6.3 ± 0.8    |
| Na mEq/l           | 136 ± 1             | 135 ± 1      | 134 ± 0**    | 136 ± 0       | 137 ± 1               | 137 ± 1      |
| K mEq/l            | 4.6 ± 0.2           | 4.3 ± 0.3    | 4.3 ± 0.2    | 4.2 ± 0.3     | 4.2 ± 0.1             | 4.3 ± 0.4    |
| Cl mEq/l           | 105 ± 1             | 104 ± 1      | 102 ± 1**    | 102 ± 1**     | 104 ± 1               | 105 ± 1      |

Values represent mean ± S.D..

\* and \*\* show significant difference from the control at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively.

Table 4. Absolute and relative organ weights in male rats treated with fluor-folpet for 28 days

| Group(mg/kg)                    | 28 days dosing test |             |             |             | 14 days recovery test |             |
|---------------------------------|---------------------|-------------|-------------|-------------|-----------------------|-------------|
|                                 | 0                   | 20          | 80          | 320         | 0                     | 320         |
| Effective No.                   | 5                   | 5           | 5           | 5           | 5                     | 4           |
| Body weight g                   | 212±18              | 211±10      | 197±9       | 182±18**    | 266±12                | 220±26**    |
| <b>Absolute organ weight</b>    |                     |             |             |             |                       |             |
| Brain g                         | 1.72±0.03           | 1.73±0.05   | 1.73±0.04   | 1.67±0.05   | 1.79±0.04             | 1.74±0.03   |
| Heart g                         | 0.65±0.04           | 0.67±0.03   | 0.62±0.02   | 0.56±0.05*  | 0.76±0.07             | 0.66±0.07   |
| Lung g                          | 0.79±0.07           | 0.78±0.06   | 0.76±0.05   | 0.72±0.06   | 1.03±0.42             | 0.80±0.10   |
| Liver g                         | 6.76±0.93           | 6.89±0.55   | 6.43±0.36   | 6.08±0.62   | 7.98±0.58             | 6.45±0.85*  |
| Kidney g                        | 1.37±0.12           | 1.55±0.08   | 1.49±0.12   | 1.47±0.11   | 1.68±0.08             | 1.53±0.23   |
| Spleen g                        | 0.42±0.06           | 0.45±0.02   | 0.39±0.08   | 0.37±0.04   | 0.49±0.02             | 0.45±0.06   |
| Testis g                        | 2.51±0.23           | 2.53±0.14   | 2.52±0.13   | 2.58±0.23   | 2.83±0.13             | 2.68±0.19   |
| Pituitary mg                    | 6.3±0.5             | 6.7±0.7     | 7.3±1.5     | 6.3±0.9     | 7.4±1.0               | 6.6±1.0     |
| Adrenal gl. mg                  | 35.1±5.7            | 36.9±4.5    | 37.5±4.6    | 37.8±5.5    | 36.9±4.9              | 38.4±5.5    |
| Submandibular gl.#g             | 0.38±0.04           | 0.39±0.03   | 0.37±0.02   | 0.34±0.04   | 0.40±0.03             | 0.41±0.06   |
| Thymus g                        | 0.33±0.03           | 0.32±0.05   | 0.29±0.07   | 0.21±0.04** | 0.33±0.04             | 0.26±0.02*  |
| <b>Relative organ weight</b>    |                     |             |             |             |                       |             |
| Brain (g/100g B.W.)             | 0.82±0.06           | 0.82±0.04   | 0.88±0.05   | 0.92±0.09   | 0.67±0.02             | 0.80±0.10   |
| Heart (g/100g B.W.)             | 0.31±0.02           | 0.32±0.01   | 0.31±0.02   | 0.31±0.01   | 0.29±0.04             | 0.30±0.01   |
| Lung (g/100g B.W.)              | 0.37±0.03           | 0.37±0.02   | 0.39±0.02   | 0.40±0.02   | 0.39±0.16             | 0.37±0.01   |
| Liver (g/100g B.W.)             | 3.18±0.24           | 3.26±0.13   | 3.26±0.08   | 3.34±0.09   | 3.00±0.10             | 2.93±0.07   |
| Kidney (g/100g B.W.)            | 0.65±0.03           | 0.73±0.02** | 0.76±0.02** | 0.81±0.03** | 0.63±0.02             | 0.69±0.03** |
| Spleen (g/100g B.W.)            | 0.20±0.02           | 0.21±0.01   | 0.20±0.04   | 0.20±0.01   | 0.18±0.01             | 0.21±0.01** |
| Testis (g/100g B.W.)            | 1.19±0.06           | 1.20±0.06   | 1.28±0.08   | 1.42±0.06** | 1.06±0.06             | 1.23±0.10*  |
| Pituitary (mg/100g B.W.)        | 3.0±0.1             | 3.2±0.4     | 3.7±0.6     | 3.4±0.3     | 2.8±0.3               | 3.0±0.2     |
| Adrenal gl. (mg/100g B.W.)      | 16.5±1.9            | 17.4±1.6    | 19.0±2.0    | 20.7±1.6**  | 13.8±1.6              | 17.5±1.7*   |
| Submandibular gl.#(g/100g B.W.) | 0.18±0.01           | 0.19±0.02   | 0.19±0.01   | 0.19±0.01   | 0.15±0.01             | 0.18±0.01** |
| Thymus (g/100g B.W.)            | 0.15±0.01           | 0.15±0.02   | 0.15±0.03   | 0.12±0.01** | 0.12±0.01             | 0.12±0.01   |

#: Including a part of the sublingual gland.

Values represent mean ±S.D..

\* and \*\* show significant difference from the control at p<0.05 and p<0.01, respectively.

例に前胃上皮の過角化症および過形成がみられた。対照群で3例、投与群の全例で尿細管上皮に好酸性小体がみられたが、程度の差は無かった。320 mg/kg 群の2例に尿細管上皮の空胞変性がみられた。雌では20 mg/kg 群で2例、80と320 mg/kg 群で全例に前胃上皮の過角化症が、20 mg/kg 群で2例、80と320 mg/kg 群の全例で過形成がみられた。80と320 mg/kg 群でそれぞれ1例と5例に尿細管上皮、乳頭管および集合管上皮の空胞化がみられた。回復群では、雄の320 mg/kg 群に前胃上皮の過角化症が4例、過形成が2例にみられた。雌の320 mg/kg 群で前胃上皮の過角化症が1例、過形成が4例にみられた。対照群で尿細管上皮の空胞変性が1例にみられた。

### 3. 呼吸器系障害を病理組織学的に精査するための追加試験 (Table 7)

呼吸困難は、270と810 mg/kg 群に各2匹ずつみられた。その症状が現れてから30分以内に屠殺した2例の動物の鼻咽頭管および鼻腔内の呼吸上皮

に空胞変性および剥離がみられた (Photo 2)。しかし、それらの障害は喉頭咽頭付近ではみられなかった。呼吸困難を呈してから1日以上経過した動物では、さらに嗅上皮にも空胞変性および剥離がみられ、鼻咽頭管では、呼吸上皮の扁平上皮化生、空胞変性、剥離、局所的に潰瘍がみられた。これらの動物の気管には少量の滲出液が、肺には局所的に軽度の鬱血および泡沫細胞がみられた。

### 4. 細胞毒性試験

Fluor-folpet の IC 50 値は 16.9 μg/ml であった。

## 考 察

1% CMC 水溶液に懸濁した被験物質の調製当日および1週間放置後の濃度に大きな差はなく安定であり、28日間試験の各試料含有率もほぼ100%であることが確認された。

雌雄とも320 mg/kg 群では、投与2日目より有意な体重増加抑制がみられ、休薬後も回復しなかった。同群の飼料摂取量は、投与初日から対照群に比

Table 5. Absolute and relative organ weights in female rats treated with fluor-folpet for 28 days

| Group(mg/kg)                      | 28 days dosing test |             |             |               | 14 days recovery test |              |
|-----------------------------------|---------------------|-------------|-------------|---------------|-----------------------|--------------|
|                                   | 0                   | 20          | 80          | 320           | 0                     | 320          |
| Effective No.                     | 5                   | 5           | 5           | 5             | 5                     | 4            |
| Body weight g                     | 137 ± 11            | 138 ± 10    | 135 ± 9     | 123 ± 6       | 159 ± 16              | 141 ± 16     |
| <b>Absolute organ weight</b>      |                     |             |             |               |                       |              |
| Brain g                           | 1.63 ± 0.03         | 1.61 ± 0.07 | 1.63 ± 0.03 | 1.58 ± 0.03   | 1.64 ± 0.06           | 1.62 ± 0.02  |
| Heart g                           | 0.47 ± 0.04         | 0.48 ± 0.06 | 0.47 ± 0.01 | 0.43 ± 0.03   | 0.50 ± 0.05           | 0.46 ± 0.03  |
| Lung g                            | 0.69 ± 0.15         | 0.60 ± 0.05 | 0.63 ± 0.09 | 0.62 ± 0.03   | 0.60 ± 0.08           | 0.61 ± 0.04  |
| Liver g                           | 3.99 ± 0.39         | 3.92 ± 0.51 | 4.09 ± 0.32 | 3.99 ± 0.19   | 4.14 ± 0.29           | 3.92 ± 0.30  |
| Kidney g                          | 0.98 ± 0.07         | 1.02 ± 0.11 | 1.04 ± 0.07 | 1.10 ± 0.08   | 1.03 ± 0.07           | 1.01 ± 0.05  |
| Spleen g                          | 0.31 ± 0.03         | 0.30 ± 0.05 | 0.30 ± 0.02 | 0.26 ± 0.04   | 0.32 ± 0.05           | 0.30 ± 0.03  |
| Ovary g                           | 52.3 ± 6.2          | 51.0 ± 7.8  | 52.8 ± 6.4  | 46.5 ± 4.6    | 55.6 ± 11.5           | 47.4 ± 3.6   |
| Pituitary mg                      | 7.5 ± 1.0           | 8.9 ± 2.7   | 8.3 ± 1.2   | 6.0 ± 0.8     | 8.8 ± 1.3             | 7.4 ± 0.5    |
| Adrenal gl. mg                    | 42.2 ± 3.4          | 46.8 ± 5.1  | 46.7 ± 6.0  | 45.9 ± 5.0    | 46.9 ± 7.6            | 47.6 ± 5.2   |
| Submandibular gl. #g              | 0.28 ± 0.02         | 0.28 ± 0.01 | 0.28 ± 0.01 | 0.27 ± 0.02   | 0.29 ± 0.03           | 0.29 ± 0.02  |
| Thymus g                          | 0.27 ± 0.02         | 0.26 ± 0.04 | 0.26 ± 0.02 | 0.18 ± 0.05** | 0.25 ± 0.04           | 0.20 ± 0.04  |
| <b>Relative organ weight</b>      |                     |             |             |               |                       |              |
| Brain (g/100g B.W.)               | 1.20 ± 0.08         | 1.17 ± 0.06 | 1.21 ± 0.07 | 1.29 ± 0.08   | 1.04 ± 0.09           | 1.16 ± 0.12  |
| Heart (g/100g B.W.)               | 0.34 ± 0.02         | 0.35 ± 0.02 | 0.35 ± 0.03 | 0.35 ± 0.02   | 0.32 ± 0.01           | 0.33 ± 0.03  |
| Lung (g/100g B.W.)                | 0.51 ± 0.11         | 0.44 ± 0.02 | 0.47 ± 0.07 | 0.50 ± 0.03   | 0.38 ± 0.02           | 0.44 ± 0.04* |
| Liver (g/100g B.W.)               | 2.92 ± 0.25         | 2.84 ± 0.15 | 3.02 ± 0.09 | 3.24 ± 0.05   | 2.61 ± 0.15           | 2.80 ± 0.12  |
| Kidney (g/100g B.W.)              | 0.72 ± 0.02         | 0.74 ± 0.03 | 0.77 ± 0.03 | 0.89 ± 0.04** | 0.65 ± 0.03           | 0.72 ± 0.05* |
| Spleen (g/100g B.W.)              | 0.22 ± 0.02         | 0.22 ± 0.02 | 0.22 ± 0.02 | 0.21 ± 0.03   | 0.20 ± 0.02           | 0.21 ± 0.02  |
| Ovary (g/100g B.W.)               | 38.2 ± 2.4          | 37.1 ± 4.9  | 39.1 ± 4.5  | 37.9 ± 5.3    | 35.0 ± 6.6            | 34.0 ± 4.4   |
| Pituitary (mg/100g B.W.)          | 5.5 ± 0.5           | 6.4 ± 1.5   | 6.2 ± 0.8   | 4.9 ± 0.9     | 5.5 ± 0.7             | 5.3 ± 0.3    |
| Adrenal gl (mg/100g B.W.)         | 30.9 ± 2.3          | 34.1 ± 3.9  | 34.6 ± 4.0  | 37.4 ± 5.2    | 29.6 ± 4.3            | 34.3 ± 6.5   |
| Submandibular gl. # (g/100g B.W.) | 0.21 ± 0.02         | 0.21 ± 0.01 | 0.21 ± 0.02 | 0.22 ± 0.02   | 0.18 ± 0.01           | 0.20 ± 0.02  |
| Thymus (g/100g B.W.)              | 0.20 ± 0.01         | 0.18 ± 0.02 | 0.19 ± 0.01 | 0.15 ± 0.03** | 0.16 ± 0.02           | 0.14 ± 0.02  |

#: Including a part of the sublingual gland.

Values represent mean ± S.D.

\* and \*\* show significant difference from the control at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively.

し著しい減少を示し、体重増加抑制とよく対応した。ここにみられた飼料摂取量の低下は、同群に前胃上皮の過形成が顕著に認められたことから、本被験物質の刺激性による胃粘膜障害もその一因と考えられた。

320 mg/kg 群においては、投与数分後より呼吸困難を発症する動物が散発的にみられ、これが起因となり雌雄各20匹中雄は5例、雌は4例が途中死亡した。死亡動物の剖検所見および病理組織学的検査では、気管および肺に異常は認められず誤投与とは考えられなかった。試験期間中生存した80および320 mg/kg 群に呼吸時に異常音を発する動物が用量依存的にみられたが、剖検および病理組織学的検査では気管および肺に異常は認められなかった。対照群および20 mg/kg 群にはこの様な症状は認められなかった。

投与期間中に死亡した2例について鼻腔の病理組織学的検査をした結果、上皮に重篤な障害がみられ

たため、fluor-folpetの鼻腔上皮への影響を病理組織学的に精査する目的で追加試験を実施した。その結果、呼吸困難が発症した動物の気管には少量の滲出液がみられ、肺には局所的に軽度の鬱血および泡沫細胞がみられた。さらに、鼻咽頭管上皮および鼻腔上皮に重篤な急性障害が認められ、この障害が呼吸困難の原因と考えられた。

本化合物は、前胃上皮に過形成が認められたことや、細胞毒性試験で、 $IC_{50}$  値が  $16.9 \mu\text{g/ml}$  ( $IC_{50}$  値が  $35 \mu\text{g/ml}$  以下の値は強い細胞毒性物質であり、眼または皮膚で明らかな刺激性が誘発される危険性が高い<sup>6)</sup>) であることから、強い刺激性物質であると示唆された。

雌の320 mg/kg 群で白血球数が有意に高値を示したが、雌雄とも個別データからは鼻音を発する動物との関連は明らかではなかった。さらに、雌雄ともに320 mg/kg 群でMCVの減少がみられたが、赤血球数、ヘマトクリット値およびヘモグロビン量

Table 6. Summary of histopathological findings in male and female rats treated with fluor-folpet for 28 days

| Group(mg/kg)             |     | Male    |    |    |     |          |     | Female  |    |    |     |          |     |
|--------------------------|-----|---------|----|----|-----|----------|-----|---------|----|----|-----|----------|-----|
|                          |     | 28 days |    |    |     | recovery |     | 28 days |    |    |     | recovery |     |
|                          |     | 0       | 20 | 80 | 320 | 0        | 320 | 0       | 20 | 80 | 320 | 0        | 320 |
| Effective No.            |     | 5       | 5  | 5  | 5   | 5        | 4   | 5       | 5  | 5  | 5   | 5        | 4   |
| Lung                     |     |         |    |    |     |          |     |         |    |    |     |          |     |
| microgranuloma           | ±   | 0       | 0  | 1  | 0   | 0        | 0   | 0       | 0  | 0  | 0   | 0        | 0   |
| Liver                    |     |         |    |    |     |          |     |         |    |    |     |          |     |
| inflammatory lesion      | ±   | 0       | 0  | 1  | 0   | 0        | 0   | 0       | 0  | 0  | 0   | 1        | 1   |
| Kidney                   |     |         |    |    |     |          |     |         |    |    |     |          |     |
| eosinophilic body        | ±   | 0       | 0  | 0  | 3   | 2        | 2   | 0       | 0  | 0  | 0   | 0        | 0   |
|                          | +   | 3       | 4  | 3  | 2   | 3        | 2   | 0       | 0  | 0  | 0   | 0        | 0   |
|                          | ++  | 0       | 1  | 2  | 0   | 0        | 0   | 0       | 0  | 0  | 0   | 0        | 0   |
| calcification            | ±   | 0       | 0  | 0  | 0   | 0        | 0   | 0       | 1  | 0  | 0   | 0        | 0   |
| epithelial vacuolization | ±   | 0       | 0  | 0  | 1   | 0        | 0   | 0       | 0  | 0  | 1   | 0        | 0   |
|                          | +   | 0       | 0  | 0  | 1   | 0        | 0   | 0       | 0  | 1  | 2   | 1        | 0   |
|                          | ++  | 0       | 0  | 0  | 0   | 0        | 0   | 0       | 0  | 0  | 2   | 0        | 0   |
| Forestomach              |     |         |    |    |     |          |     |         |    |    |     |          |     |
| hyperkeratosis           | ±   | 0       | 0  | 3  | 0   | 0        | 2   | 0       | 1  | 2  | 0   | 0        | 1   |
|                          | +   | 0       | 0  | 2  | 2   | 0        | 2   | 0       | 1  | 3  | 1   | 0        | 0   |
|                          | ++  | 0       | 0  | 0  | 2   | 0        | 0   | 0       | 0  | 0  | 4   | 0        | 0   |
|                          | +++ | 0       | 0  | 0  | 1   | 0        | 0   | 0       | 0  | 0  | 0   | 0        | 0   |
| hyperplasia              | ±   | 0       | 0  | 1  | 0   | 0        | 1   | 0       | 2  | 1  | 0   | 0        | 3   |
|                          | +   | 0       | 0  | 4  | 1   | 0        | 1   | 0       | 0  | 4  | 1   | 0        | 1   |
|                          | ++  | 0       | 0  | 0  | 3   | 0        | 0   | 0       | 0  | 0  | 4   | 0        | 0   |
|                          | +++ | 0       | 0  | 0  | 1   | 0        | 0   | 0       | 0  | 0  | 0   | 0        | 0   |

±: slight, +: mild, ++: marked, +++: severe

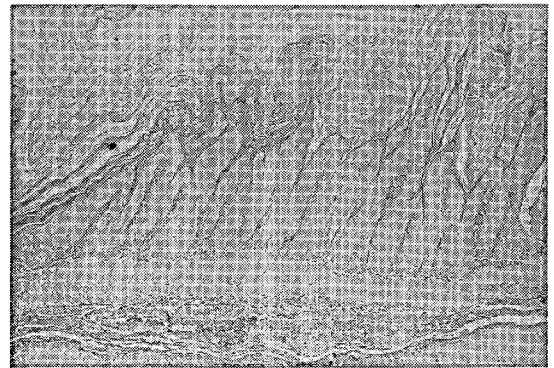
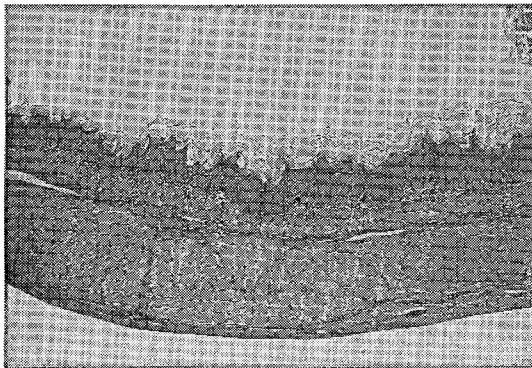


Photo 1. Forestomach

(a) Treated with vehicle only, male rat No. 4, H-E stain, ×20

(b) Papillary epithelial hyperplasia, 320 mg/kg group, male rat No. 51, H-E stain, ×20

Table 7. Histopathological findings in meatus nasopharynx and nasal cavity

| Group(mg/kg)              | 0 | 30 | 90 | 270 | 810 |
|---------------------------|---|----|----|-----|-----|
| Effective No.             | 4 | 4  | 4  | 4   | 4   |
| <u>Meatus nasopharynx</u> |   |    |    |     |     |
| epithelium                |   |    |    |     |     |
| vacuolization             | 0 | 0  | 0  | 1   | 0   |
| desquamation              | 0 | 0  | 0  | 2   | 1   |
| metaplasia, squamous      | 0 | 0  | 0  | 0   | 2   |
| ulcer                     | 0 | 0  | 0  | 1   | 1   |
| interstitium              |   |    |    |     |     |
| edema                     | 0 | 0  | 0  | 1   | 0   |
| exudate                   | 2 | 1  | 0  | 2   | 2   |
| <u>Nasal cavity</u>       |   |    |    |     |     |
| epithelium                |   |    |    |     |     |
| vacuolization             | 0 | 0  | 0  | 1   | 1   |
| desquamation              | 0 | 0  | 0  | 2   | 1   |
| interstitium              |   |    |    |     |     |
| edema                     | 0 | 0  | 0  | 0   | 1   |
| exudate                   | 1 | 2  | 4  | 4   | 4   |

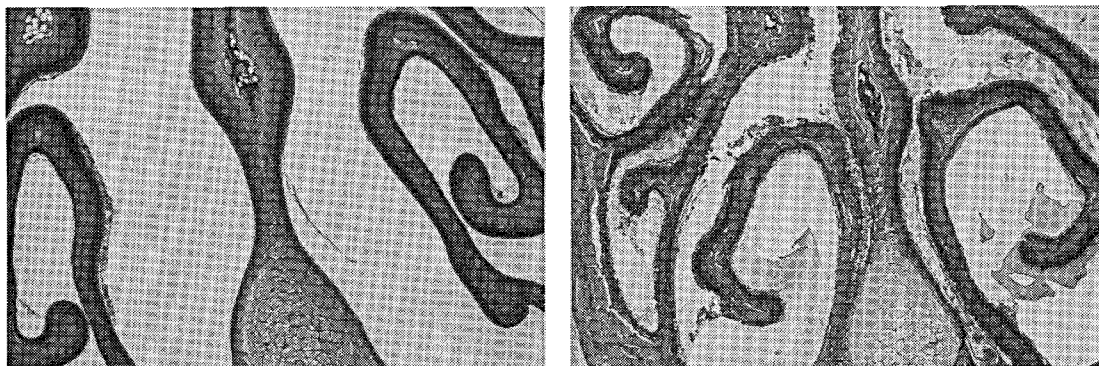


Photo 2. Nasal cavity

(a) Treated with vehicle only, female rat No. 2, H-E stain,  $\times 10$

(b) Detachment of epithelium covered with necrotic debris, 270 mg/kg group, female rat No. 16, H-E stain,  $\times 10$

には減少がみられなかったことから貧血はないと判断した。

雌雄の投与群で、腎臓重量が増加し、休薬期間後も回復しなかった。病理組織学的検査では、320 mg/kg 群の雄 2 例、雌 5 例に腎尿細管上皮、乳頭管および集合管上皮に空胞変性がみられた。雄ではこの変化は髄質に限局されたが、雌では皮質および髄質にもみられ、その程度も雌の方がより重篤であった。この変性は、回復期終了後は認められず可逆性の変化と思われた。

さらに、血清無機リン (P) 値が、雌雄ともに 80 mg/kg 以上の群で用量依存的に有意に増加し、休薬後も回復しなかった。P の排泄の約 60% は腎臓から尿中への排泄に依存しているため、腎機能が障害されると糸球体ろ過率の低下に伴い P の尿中への排泄に低下が起り、血清中にうっ滞を起こすことが知られている<sup>7)</sup>。しかし、本試験では糸球体障害により変動する Ca 値、血清クレアチン値等に変化はみられず、病理組織学的所見でも糸球体に変化はみられなかった。

ChE が雌の 320 mg/kg 群で対照群の 50% に減少し、 $\gamma$ -GT が雌の全投与群で有意に増加したが、いずれも休薬により回復した。これらから肝臓への影響が示唆されたが、肝臓重量は対照群に比し変化はみられず、病理組織学的検査においても変化はみられなかった。さらに、血液凝固能試験においても fluor-folpet 投与による影響は見られず、肝臓で合成される凝固因子の生成に影響する肝障害は無いことを示した。これらのことから、fluor-folpet の反復経口投与による肝臓への毒性影響は軽微と判断した。

胸腺の絶対重量および相対重量が雌雄とも 320 mg/kg 群で有意の減少がみられた。この群では、有意な体重増加抑制および脾臓の絶対重量が減少していたことより、胸腺重量の減少は低栄養状態に起因する可能性も考えられる。この他、幾つかの臓器の絶対重量および相対重量にも変動がみられたが、これらは体重増加抑制に起因するものと考えた。

血清生化学検査では、雌雄ともに肝臓および腎臓障害指標以外の幾つかの項目に有意差がみられたが、何れも用量依存性を伴わない散発的なものであった。血液凝固能検査において PT が雌回復群で有意に増加したが、対照群の背景データ<sup>8,9,10)</sup>と比較し正常範囲内であった。

Folpet は直接変異原性<sup>11,12)</sup>があり、マウスに十

二指腸癌を誘発<sup>9)</sup>することが知られている。Fluor-folpet も変異原性<sup>13)</sup>があり、folpet との類似構造や強い細胞毒性を示すことから、今後さらに長期間の投与試験による安全性の確認が必要と思われる。特に、fluor-folpet のスプレータイプの使用には呼吸障害が懸念されることから、マスク、換気など十分な注意を払う必要がある。さらに、今後吸入毒性試験により鼻腔上皮への障害を明らかにする必要があると考えられる。

今回実施した 28 日間反復強制経口投与毒性試験の条件下においては、最低用量である 20 mg/kg 群で前胃上皮に軽度の過角化症および過形成がみられたため、最大無作用量 (NOEL) は得られなかった。

## 文 献

- 1) バイエル社, バイエル製品資料, Preventol (1977)
- 2) 植村振作, 河村 宏, 辻 万千子, 富田重行, 前田静夫: 農薬毒性の事典, 三省堂, p. 100 (1989)
- 3) Nyska, A., Waner, T., Paster, Z., Bracha, P., Gordon, E. B. and Klein, B.: Induction of gastrointestinal tumors in mice fed the fungicide folpet: Possible mechanisms, *Jpn. J. Cancer Res.*, 81, 545~549 (1990)
- 4) 山崎 実, 野口雄次, 丹田 勝, 新谷 茂: ラット一般毒性試験における統計的手法の検討, 武田研究所報告, 40, 163~187 (1981)
- 5) 白須泰彦, 吐山豊秋: 新毒性試験法-方法と評価, リアライズ社, p. 131 (1985)
- 6) 土屋利江, 五十嵐良明:  $\alpha$ -メチルベンジルフェノール, 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, 行政報告 (1993)
- 7) 河合 忠, 屋形 稔: 異常値の出るメカニズム, 医学書院, pp. 148~151 (1994)
- 8) 中浦楨介, 川西 徹, 大野泰雄, 川島邦夫, 田中悟, 高橋 惇, 高仲 正, 大森義仁: 化学物質の血液凝固障害と肝障害との関連の有無の検討, 東邦医学会雑誌, 31, 118~130 (1984)
- 9) 中浦楨介, 川西 徹, 大野泰雄, 川島邦夫, 田中悟, 高橋 惇, 高仲 正, 大森義仁: 化学物質による血液凝固機能障害と肝機能障害との関連性 (1), 東邦医学会雑誌, 31, 131~144 (1984)
- 10) 中浦楨介: 化学物質による血液凝固機能障害と肝機能障害との関連性 (2), 東邦医学会雑誌, 31, 145~160 (1984)
- 11) Barrueco, C., Pena, de la E.: Mutagenic evaluation of the pesticides captan, folpet, captafol, dichlofluanid and related compounds with



- the mutants TA102 and TA104 salmonella typhimurium, *Mutagenesis*, **3**, 467~480 (1988)
- 12) Shiau, S. Y., Huff, R. A. and Felkner, I. C.: Pesticide mutagenicity in bacillus subtilis and salmonella typhimurium detectors, *J. Agric. Food Chem.*, **29**, 268~271 (1981)
- 13) 小場 正彦:平成5年度 既存化学物質等の試験検査 (変異原性試験), 仙台市衛生研究所, 1~3 (1993)

## ステビオサイドのラットを用いた催奇形性試験

宇佐見誠・酒見和枝・川島邦夫・津田充宥・大野泰雄

## Teratogenicity Study of Stevioside in Rats

Makoto Usami, Kazue Sakemi, Kunio Kawashima,  
Mitsuhiro Tsuda and Yasuo Ohno

Teratogenicity of stevioside was examined in rats. Stevioside dissolved in distilled water was given to pregnant Wistar rats by gavage once a day from day 6 through 15 of pregnancy at doses of 0, 250, 500 and 1000 mg/kg/day. The pregnant rats were sacrificed on day 20 of pregnancy and their fetuses were examined for malformation. Stevioside caused no increased incidences of fetal malformation, and no toxic signs in the pregnant rats and the fetuses. It was concluded that stevioside has no teratogenicity in rats when given by gavage. The no observable adverse effect level was estimated to be over 1000 mg/kg/day for both pregnant rats and rat fetuses.

**Keywords** : stevioside, rat, teratogenicity, malformation, developmental toxicity

(Received May 31, 1995)

## 緒 言

ステビオサイドは、天然の甘味料として食品に用いられるステビア抽出物の主成分であり、ショ糖の約120~150倍の甘味を示す<sup>1)</sup>。天然物であるので食品添加物としての使用基準はない<sup>2)</sup>。

ステビオサイドの毒性については、急性毒性、亜慢性毒性および変異原性が調べられている。マウスにおける経口投与による急性毒性試験では毒性徴候は認められず、LD<sub>50</sub>値は雄雌ともに15000 mg/kg以上であった<sup>3)</sup>。ラットを用いた13週間の亜慢性毒性試験では、最大用量の5%混餌群においても明らかな毒性徴候は認められなかった<sup>4)</sup>。Rec-assayおよびAmes testによる変異原性試験の結果は、陰性であった<sup>5)</sup>。

ステビオサイドの代謝物およびステビア抽出液についても、変異原性および生殖毒性が調べられている。ステビオサイドのアグルコンであるステビオールはAmes testにおいて、代謝活性化され1.0 mg/ml以上で、サルモネラ菌株TM677に変異原性を示した<sup>6)</sup>。5%のステビア水抽出物10 mlを12日間毎日飲ませた雌ラットの妊娠率は21~28%まで低下し、60日の回復期間後も回復しなかった<sup>7)</sup>。

しかし、催奇形性に関してはステビオサイドに関する試験成績は見当たらない。本試験では、ステビ

オサイドの催奇形性についてラットへの経口投与により調べた。

## 材料および方法

## 1. 被験物質

ステビア工業会より提供されたステビオサイドを用いた。性状は白色粉末で、添付資料による純度は95.6%であった。ステビオサイドのCAS登録番号は57817-89-7で、分子量は804.90である。

## 2. 試験系

ウイスター系ラット（日本チャールスリバー）の雌（10週齢）および雄（11週齢）を用いた。未経産の雌を雄と終夜同居させ、翌朝膣垢中に精子が認められたものを妊娠動物として試験に供した。妊娠日の起算は精子確認日を妊娠0日とした。

## 3. 飼育条件

妊娠動物は、試験期間をとおしてアルミ製ケージで個別飼ひし、固形飼料（オリエンタル酵母、MF）および水道水を自由に摂取させた。動物飼育室内の環境は、温度25±2℃、相対湿度55±5%、換気回数15回/時間、明暗交代12時間（明期6:00~18:00）とした。

## 4. 用量および群構成

群構成は、ステビオサイド投与群として250、500および1000 mg/kg/dayの3用量を設定し、対

照群を加えて計4群とした。1群の動物数は25または26匹とし、解剖時に妊娠が確認された動物のデータを用いた。

### 5. 投与方法

蒸留水に溶解した被験物質を、妊娠6日の体重に基づいて妊娠6~15日の10日間、1日1回、胃ゾンデを用いて妊娠動物に強制経口投与した。被験物質溶液の濃度は、投与液量がいずれの用量においても5 ml/kg/dayとなるようにした。対照群には蒸留水5 ml/kg/dayを同様に経口投与した。

### 6. 観察方法

妊娠動物の体重および餌重量を妊娠0, 1, 3, 6, 9, 12, 15, 17および20日に測定した。また、一般状態を毎日観察した。妊娠20日に妊娠動物を屠殺し、黄体数、着床数および胎児死亡を調べた。生存胎児については、外表の異常および性別を調べ、

体重を測定した。各妊娠動物の約2分の1の生存胎児についてAlizarin red S染色骨格標本を作成し骨格を観察した<sup>9)</sup>。残り約2分の1の生存胎児については内部器官を観察した。内部器官の観察には、頭部および腹部については粗大切片法<sup>9)</sup>を、胸部については顕微解剖法<sup>10)</sup>を用いた。

### 7. 統計学的方法

妊娠動物または一腹を標本の単位とした。対照群とステビオサイド投与群との差の有意性の検定には、度数データについてはFisherの直接確立法を用いた。計量データについては、Bartlettの等分散検定により群間で分散に差がないことを調べた後、分散分析およびScheffé法を用いた。群間で分散に差が認められた計量データおよび計数データについては、Kruskal-WallisのH検定およびScheffé法を用いた。

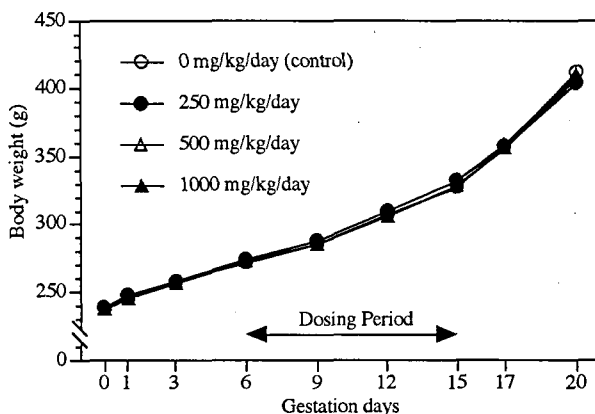


Fig. 1. Body weight of pregnant rats treated with stevioside

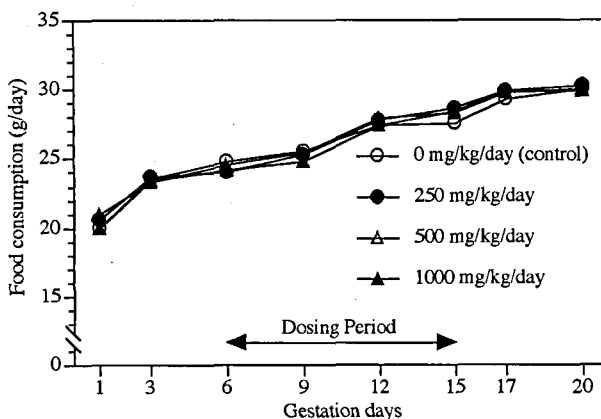


Fig. 2. Food consumption of pregnant rats treated with stevioside

## 結 果

## 1. 妊娠動物に及ぼす影響

いずれの群においても、妊娠動物の一般状態に変化は認められなかった。体重には、対照群とステビオサイド投与群との間に有意差は認められなかった (Fig. 1)。摂餌量にも、対照群とステビオサイド投与群との間に有意差は認められなかった (Fig. 2)。

## 2. 胎児に及ぼす影響

## 2.1. 生存胎児数、性比、胎児体重および

## 胚胎児死亡

黄体数、着床数、着床率、生存胎児数、性比、胎児体重および胚胎児死亡率には、対照群とステビオ

サイド投与群との間に有意差は認められなかった (Table 1)。

## 2.2. 胎児外表

各群 1~5 匹の胎児に外表奇形が認められたが、対照群とステビオサイド投与群との間には、発生率に有意差は認められなかった (Table 2)。

## 2.2. 胎児骨格

胎児骨格には、いずれの群においても奇形は認められなかった (Table 3)。骨格変異には、対照群とステビオサイド投与群との間に有意差は認められなかった。腰肋および過剰肋骨を有する胎児の発生率においても有意な変化はなかった。また、骨化の進行度の指標として調べた仙尾椎骨、中手骨および

Table 1. Fetal growth in pregnant rats treated with stevioside

|                                     | Dose (mg/kg/day) |                 |                 |                 |
|-------------------------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                     | 0 (control)      | 250             | 500             | 1000            |
| No. of litters                      | 22               | 21              | 23              | 24              |
| No. of corpora lutea)               | 358              | 340             | 377             | 405             |
| Mean $\pm$ S.D. <sup>a)</sup>       | 16.3 $\pm$ 2.0   | 16.2 $\pm$ 2.3  | 16.4 $\pm$ 1.4  | 16.9 $\pm$ 1.9  |
| No. of implants                     | 342              | 312             | 349             | 372             |
| Mean $\pm$ S.D. <sup>a)</sup>       | 15.5 $\pm$ 2.0   | 14.9 $\pm$ 4.3  | 15.2 $\pm$ 2.9  | 15.5 $\pm$ 3.5  |
| Implantation rate (%) <sup>a)</sup> | 95.6 $\pm$ 5.2   | 90.4 $\pm$ 21.7 | 92.0 $\pm$ 16.0 | 91.9 $\pm$ 17.8 |
| No. of live fetuses                 | 329              | 295             | 335             | 351             |
| Mean $\pm$ S.D. <sup>a)</sup>       | 15.0 $\pm$ 1.9   | 14.0 $\pm$ 4.3  | 14.6 $\pm$ 2.9  | 14.6 $\pm$ 3.6  |
| Sex ratio (male/female)             | 1.21             | 0.99            | 1.24            | 1.20            |
| Fetal weight (g) <sup>a)</sup>      |                  |                 |                 |                 |
| Male                                | 4.02 $\pm$ 0.25  | 4.07 $\pm$ 0.38 | 4.03 $\pm$ 0.20 | 4.00 $\pm$ 0.31 |
| Female                              | 3.83 $\pm$ 0.24  | 3.85 $\pm$ 0.27 | 3.79 $\pm$ 0.18 | 3.82 $\pm$ 0.31 |
| No. of dead implants                | 13               | 17              | 14              | 21              |
| Early death                         | 12               | 17              | 14              | 21              |
| Late death                          | 1                | 0               | 0               | 0               |
| Mortality (%) <sup>a)</sup>         | 3.7 $\pm$ 4.5    | 5.7 $\pm$ 6.2   | 3.8 $\pm$ 4.1   | 6.1 $\pm$ 5.5   |

a) Mean  $\pm$  S.D. is shown.

Table 2. Gross malformations in the fetuses from pregnant rats treated with stevioside

|  | Dose (mg/kg/day) |           |           |           |
|--|------------------|-----------|-----------|-----------|
|  | 0 (control)      | 250       | 500       | 1000      |
| No. of litters                                 | 22               | 21        | 23        | 24        |
| No. of fetuses examined                        | 329              | 295       | 335       | 351       |
| No. of litters with malformed fetuses          | 1 (4.55%)        | 1 (4.76%) | 3 (13.0%) | 3 (12.5%) |
| No. of fetuses with malformation <sup>a)</sup> | 1 (0.32%)        | 1 (0.30%) | 3 (0.98%) | 5 (2.11%) |
| Anal atresia                                   | 0 (0.00%)        | 1 (0.30%) | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) |
| Dwarf  | 1 (0.32%)        | 0 (0.00%) | 3 (0.98%) | 5 (2.11%) |
| Rudimentary tail                               | 0 (0.00%)        | 1 (0.30%) | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) |

a) Total number and mean incidence are shown.

Table 3. Skeletal variations in the fetuses from pregnant rats treated with stevioside

|   | Dose (mg/kg/day) |             |             |             |
|---|------------------|-------------|-------------|-------------|
|   | 0 (control)      | 250         | 500         | 1000        |
| No. of litters                              | 22               | 21          | 23          | 24          |
| No. of fetuses examined                     | 168              | 147         | 170         | 180         |
| No. of fetuses with variation <sup>a)</sup> | 38 (22.12%)      | 46 (37.0%)  | 58 (35.6%)  | 50 (27.5%)  |
| Hypoplastic supraoccipital                  | 11 (6.30%)       | 6 (4.84%)   | 16 (9.54%)  | 10 (5.63%)  |
| Cervical rib                                | 0 (0.00%)        | 1 (0.68%)   | 0 (0.00%)   | 3 (1.71%)   |
| Wavy rib                                    | 1 (0.65%)        | 9 (10.2%)   | 8 (4.46%)   | 6 (3.01%)   |
| Shortened rib                               | 0 (0.00%)        | 1 (0.60%)   | 0 (0.00%)   | 1 (0.42%)   |
| Deformed cervical vertebral arch            | 8 (4.42%)        | 1 (0.68%)   | 7 (4.86%)   | 7 (3.87%)   |
| Deformed sternbrae                          | 9 (5.23%)        | 16 (9.29%)  | 15 (8.77%)  | 11 (6.10%)  |
| Deformed thoracic vertebral body            | 15 (8.93%)       | 17 (14.2%)  | 19 (10.5%)  | 9 (4.53%)   |
| 25 or 27 presacral vertebrae                | 0 (0.00%)        | 2 (1.20%)   | 0 (0.00%)   | 1 (0.42%)   |
| Lumbar rib                                  | 7 (4.13%)        | 13 (10.4%)  | 11 (6.09%)  | 17 (9.28%)  |
| Extra rib                                   | 0 (0.00%)        | 3 (1.87%)   | 2 (1.24%)   | 5 (2.31%)   |
| Rudimentary rib                             | 7 (4.13%)        | 12 (9.85%)  | 9 (4.85%)   | 12 (6.96%)  |
| Others                                      | 1 (0.65%)        | 4 (2.72%)   | 5 (3.70%)   | 2 (1.19%)   |
| No. of sacro-caudal vertebrae <sup>b)</sup> | 8.78 ± 0.96      | 8.99 ± 1.30 | 8.88 ± 1.00 | 8.82 ± 1.18 |
| No. of metacarpus <sup>b)</sup>             | 7.87 ± 0.25      | 7.89 ± 0.30 | 7.86 ± 0.19 | 7.86 ± 0.42 |
| No. of metatarsus <sup>b)</sup>             | 8.66 ± 0.72      | 8.59 ± 0.81 | 8.60 ± 0.69 | 8.48 ± 0.56 |

a) Total number and mean incidence are shown.

b) Mean ± S.D. is shown.

Table 4. Visceral malformations in the fetuses from pregnant rats treated with stevioside

|  | Dose (mg/kg/day) |            |
|--|------------------|------------|
|  | 0 (control)      | 1000       |
| No. of litters                                 | 22               | 24         |
| No. of fetuses examined                        | 161              | 171        |
| No. of litters with malformed fetus            | 9 (40.9%)        | 9 (37.5%)  |
| No. of fetuses with malformation <sup>a)</sup> | 10 (5.98%)       | 10 (6.01%) |
| Dilatated renal pelvis                         | 1 (0.57%)        | 2 (1.29%)  |
| Left-sided umbilical artery                    | 2 (1.16%)        | 0 (0.00%)  |
| Thymic remnant in neck                         | 7 (4.26%)        | 8 (4.72%)  |

a) Total number and mean incidence are shown.

中足骨の骨化核数にも有意な変化は認められなかった。

### 2.3. 胎児内部器官

対照群および1000 mg/kg/day 投与群について検査を実施した。これは、化学物質等の催奇形性試験で多く採用されている試験限界量である1000 mg/kg/day の用量においても、上記の検査項目にステビオサイドの毒性徴候が認められなかったから

である。胎児内部器官の検査は、各群について同時に実施する必要はないので、1000 mg/kg/day 投与群において胎児異常の増加が認められた場合に他の投与群についても検査を実施することにした。その結果、対照群およびステビオサイド投与群のいずれの胎児にも小奇形が認められたが、発生率には群間で有意差は認められなかった (Table 4)。

## 考 察

本試験の結果から、ステビオサイドにはラットにおける経口投与では催奇形性は認められないと考えられる。ステビオサイドは1000 mg/kg/dayの用量においても、胎児の奇形発生率を増加させなかった。また、胎児骨格検査において、低用量での催奇形性の指標となりうると考えられている過剰肋骨<sup>11)</sup>の発生率にも変化が認められないので、より高用量においても胎児奇形発生率が増加することはないと考えられる。

本試験条件下でのステビオサイドの妊娠ラットおよびラット胎児に対する無影響量はいずれも1000 mg/kg/day以上であると考えられる。これは、1000 mg/kg/day投与群においても対照群と比較して、妊娠動物および胎児に被験物質投与による有意な変化が認められないからである。

## 文 献

1) 吉平邦利, 松井道子, 石館 基: トキシコロジ

ーフォーラム, 10, 281 (1987)

- 2) 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)
- 3) 明石春雄, 横山幸雄: 食品工業, 18, 34 (1975)
- 4) 阿瀬義也, 豊田和弘, 今井田克己, 林 修次, 今沢孝喜, 林 裕造, 高橋道人: 衛生試験所報告, 109, 48 (1991)
- 5) 奥村昌也, 藤田陽子, 今村美喜郎, 相川 清: 食品衛生学雑誌, 19, 486 (1978)
- 6) Pezzuto, J. M., Compadre, C. M., Swanson, S. M., Nanayakkara, N. P. D., Kinghorn, A. D.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 2478 (1985)
- 7) Planas, G. M., Kué, J.: Science, 162, 1007 (1968)
- 8) Dawson, A. B.: Stain Technol., 1, 123 (1926)
- 9) Wilson, J. G.: “Teratology principles and techniques” (eds. Wilson, J. G. and Warkany, J.) pp. 262, The University of Chicago Press, Chicago (1965)
- 10) 西村耕一: 先天異常, 14, 23 (1974)
- 11) 安田峰生, 前田広由: 先天異常, 13, 25 (1973)

## $\beta$ -cyclodextrin 13週間経口投与 F344 ラットにおける肝病変

豊田和弘・林 修次・畝山智香子・川西 徹  
高田幸一・高橋道人

### Hepatic lesions in F344 Rats Treated Orally with $\beta$ -cyclodextrin for 13 Weeks

Kazuhiro Toyoda, Shuji Hayashi, Chikako Uneyama, Toru Kawanishi,  
Kouichi Takada and Michihito Takahashi

A 13-week oral toxicity study of  $\beta$ -cyclodextrin was carried out in F344 rats at the dose levels of 10, 5, 2.5, 1.25, 0.6 and 0% in powdered diet. Each group consisted of 10 males and 10 females. All animals survived at the end of the experiment, while a slight decrease in body weight gain was observed in males of the 10%- and 5%-groups. Dose-dependent increases in serum levels of GOT, GPT and alkaline phosphatase were observed in treated animals of both sexes, and increases in serum levels of urea nitrogen and relative liver weights in treated males.

Histopathologically, a dose-dependent increase in the severity of inflammatory cell infiltration was seen in the liver of treated animals, focal hepatocellular necrosis being detected in both sexes of the 10%-group and females of the 5%-group. These findings indicate that  $\beta$ -cyclodextrin causes hepatocellular injury to rats when it is orally administered.

**Keywords:**  $\beta$ -cyclodextrin, subchronic toxicity study, rat, hepatocellular injury, liver

(Received May 31, 1995)

## 緒 言

cyclodextrinはD-glucoseが6個以上 $\alpha$ -1,4結合した環状オリゴ糖であり、一般にはグルコースユニット数が6個の $\alpha$ -cyclodextrin, 7個の $\beta$ -cyclodextrin, 8個の $\gamma$ -cyclodextrinが知られている<sup>1)</sup>。cyclodextrin分子中央の空洞内は比較的疎水性で、水溶液中で親油性基を持つ化合物を共存させると、その官能基が空洞に入り得る大きさであれば空洞内の水分子を追い出して包接化合物を形成することが知られている。この包接能を利用して医薬品、食品、化粧品、農薬、工業用等、様々な分野への応用が期待されており、揮発性物質の不揮発化、易分解性物質の安定化、医薬品の副作用の軽減、味・臭い・溶解性の改善等、種々の用途で既に実用化の段階に入っている。なかでも $\beta$ -cyclodextrinは量産技術の向上によって安価な入手が可能となり、幅広い利用が予想される。

$\beta$ -cyclodextrinの毒性作用については、ラットを用いた実験で、皮下投与や静脈内投与等の非経口の投与によって腎毒性や溶血作用を示すことが知ら

れているが<sup>2,3)</sup>、経口投与の場合においては急性毒性試験、亜慢性毒性試験および慢性毒性試験(6ヶ月)のいずれにおいても明らかな毒性作用を示す報告はみられない<sup>4,5)</sup>。以上の結果から、 $\beta$ -cyclodextrinは経口投与の場合に限れば低毒性の物質であることが推測されるが、 $\beta$ -cyclodextrinを長期間経口投与した場合の毒性や発癌性については安全性評価のための十分な知見が未だ得られていない。そこで今回、 $\beta$ -cyclodextrin混餌投与によるラットの2年間の慢性毒性癌原性試験を計画し、その予備試験として13週間の亜慢性毒性試験を実施したので、その成果を報告する。

## 試験材料および方法

### 1. 被験物質および動物

$\beta$ -cyclodextrinはメルシャン社(東京)製のRINGDEX-Bを用いた。本物質は白色の結晶性粉末で、純度99.5%以上、融点257.7°Cである。

動物は5週齢のF344/DuCrj系ラット(SPF)雌雄各60匹を日本チャールス・リバー社(神奈川)より購入し、基礎飼料(CRF-1固型飼料、日本チャ

ールス・リバー社)と水道水で1週間馴化飼育した後、無作為に雌雄各6群(各群10匹)に分け、試験に供した。

動物の飼育はバリエーションシステムの飼育室にて、室温 $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 5\%$ 、換気回数18回/時(オールフレッシュ)、12時間蛍光灯照明、12時間消灯の条件下で行った。動物は透明なポリカーボネート製ケージ(幅26cm、長さ42cm、高さ17cm)に5匹ずつ収容し、床敷は三協ラボサービス社(東京)のソフトチップを用い、週2回交換を行った。飲料水として、水道水を試験期間中自由に摂取させた。

## 2. 試験方法

雌雄各5群を被験物質投与群とし、10%、5%、2.5%、1.25%、0.6%の割合で $\beta$ -cyclodextrinを混合した粉末飼料(CRF-1、日本チャールス・リバー社)を13週間自由に摂取させた。その他に对照群として雌雄各1群には $\beta$ -cyclodextrinを含まない基礎飼料(CRF-1粉末飼料)を同期間自由に摂取させた。試験期間中、全動物の一般状態を連日観察し、体重および摂餌量の測定を週1回行った。投与最終日に全動物を一晩絶食させた後、エーテル麻酔下に開腹、腹部大動脈より採血し、瀉血、屠殺、剖検した。諸臓器は肉眼的に観察した後摘出し、脳、唾液腺、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、精巣および卵巣については重量測定の後、また鼻腔を含む頭蓋、下垂体、舌、気管、甲状腺、食道、胃、小腸、大腸、膵臓、膀胱、前立腺、精囊腺、子宮、膣、乳腺、リンパ節、胸骨、大腿骨、脊髄、眼球、皮膚および筋肉等については摘出後直ちに10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。固定完了後、下垂体の重量測定を行った。その後、各臓器および組織を切り出し、通常の方法によりパラフィン包埋後、薄切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン(H.E.)染色を施して、病理組織学的に検索を行った。採取した血液については、多項目自動血球計数装置(東亜医用電子社、兵庫、M-2000型)にて白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン量(HGB)、ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球容積(MCV)、血小板数(PLT)の測定を行ったほか、血液細胞自動分析装置(立石電機、東京、MICROX HEG-120 A型)にて白血球の型別分類を行った。また、血清を分離後、凍結し、SRL社(東京)に依頼し下記検査項目について測定を行った。

血清生化学的検査項目：総蛋白(TP)、アルブミン・グロブリン比(A/G)、アルブミン(Alb)、総コレステロール(TC)、尿素窒素(UN)、クレアチニン(CR)、ナトリウム(Na)、クロール(Cl)、カリウム(K)、カルシウム(Ca)、無機リン(P)、glutamic oxaloacetic transaminase (GOT)、glutamic pyruvic transaminase (GPT)、アルカリホスファターゼ(ALP)、 $\gamma$ -glutamyl transpeptidase ( $\gamma$ -GTP)、コリンエステラーゼ(Cho-E)。

## 3. 統計学的処理方法

血液学的・血清生化学的検査結果および臓器の絶対重量と相対重量については、各群の分散比をBartlettの方法で検定し、等分散の場合は一元配置の分散分析を行い、不等分散の場合はKruskal-Wallisの方法により検定を行った。群間に有意差が認められた場合の多重比較は、例数が等しければDunnett型で、また、例数が異なればScheffe型で、それぞれ对照群と各被験物質投与群との間で有意差検定を行った。

## 結 果

### 1. 一般状態

試験期間中の動物の一般状態については、いずれの群においても特記すべき変化は認められず、すべての動物が試験終了時まで生存した。

### 2. 体 重

試験期間中の各群の体重の推移をFig. 1に示した。雄の10%投与群において、1週目で对照群に比べ12.7%程度の体重増加抑制がみられたが、徐々に回復し、試験後半では5%以内の抑制にとどまった。雄の5%投与群においても对照群に比べ5%以内の軽度の体重増加抑制がみられた。その他の群においては雌雄とも各被験物質投与群と对照群との間に差は認められなかった。

### 3. 摂餌量および被験物質摂取量

各群の摂餌量の推移については、对照群に比べ、雄では10%投与群において1週目で摂餌量の減少がみられ、これが10%投与群にみられた投与初期の体重増加抑制の原因と考えられた(Fig. 2)。このほか、雄の1.25%投与群において3週目から8週目にかけて摂餌量が多い傾向がみられたが、体重増加への影響は認められなかった。雌では試験期間を通して对照群との間に大きな差はみられなかった。

試験期間中のラット1匹1日当たりの平均摂餌量については、雌雄とも对照群と被験物質投与群との



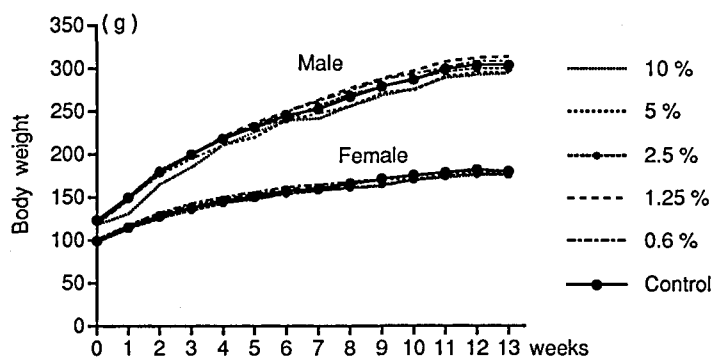


Fig. 1. Growth curves of F344 rats treated with  $\beta$ -cyclodextrin for 13 weeks

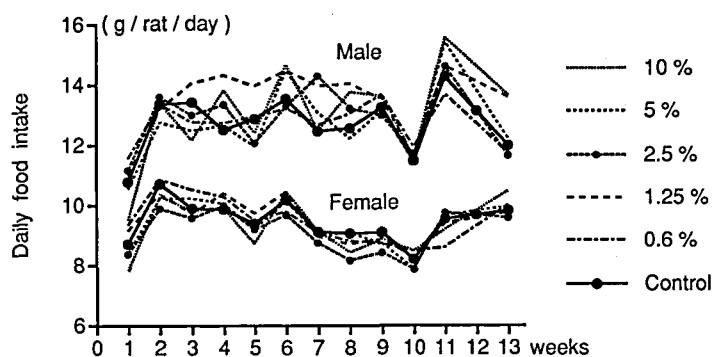


Fig. 2. Sequential changes of daily food intakes in F344 rats treated with  $\beta$ -cyclodextrin for 13 weeks

Table 1. Average intakes of food or  $\beta$ -cyclodextrin per rat

| Sex    | Groups  | No. of rats examined | Daily intakes of |                                 | Total intakes of $\beta$ -cyclodextrin (g / rat / 13 weeks) |
|--------|---------|----------------------|------------------|---------------------------------|---|
|        |         |                      | Food (g / rat)   | $\beta$ -cyclodextrin (g / rat) |   |
| Male   | 10 %    | 10                   | 13.18            | 1.318                           | 116.00  |
|        | 5 %     | 10                   | 12.79            | 0.640                           | 56.29   |
|        | 2.5 %   | 10                   | 12.94            | 0.323                           | 28.46   |
|        | 1.25 %  | 10                   | 13.58            | 0.170                           | 14.94   |
|        | 0.6 %   | 10                   | 12.78            | 0.077                           | 6.75  |
|        | Control | 10                   | 12.75            | —                               | —   |
| Female | 10 %    | 10                   | 9.35             | 0.935                           | 83.21   |
|        | 5 %     | 10                   | 9.43             | 0.471                           | 41.95   |
|        | 2.5 %   | 10                   | 9.15             | 0.229                           | 20.37   |
|        | 1.25 %  | 10                   | 9.50             | 0.119                           | 10.57   |
|        | 0.6 %   | 10                   | 9.50             | 0.057                           | 5.07  |
|        | Control | 10                   | 9.49             | —                               | —   |

間に大きな差はみられず、被験物質である  $\beta$ -cyclodextrin の摂取量も被験物質の用量段階にほぼ関連していた (Table 1).

#### 4. 血液学および血清生化学的検査結果

血液学および血清生化学的検査の結果を Table 2, 3 に示した。対照群に対する有意差検定の結果、投与用量に比較的相関した変化として、雄では平均赤血球容積の減少が 10%, 5%, 2.5% および 1.25% 投与群で、UN 値の上昇が 10%, 5%, 2.5% および 0.6% 投与群で、CR 値の上昇が 10% 投与群で、P 値の低下が 10%, 5%, 2.5% および 1.25% 投与群で、GOT 値と GPT 値の上昇が 10%, 5% および 2.5% 投与群で、ALP 値の上昇が 10% および 5% 投与群で有意に認められた。また、雌では赤血球数の減少が 10% および 5% 投与群で、ヘマトクリット値の低下が 10% および 5% 投与群で、GOT 値の上昇が 10%, 5% および 0.6% 投与群で、GPT 値と ALP 値の上昇が 10% および 5% 投与群で有意に認

められた。

この他、白血球の型別分類の結果、雄では単球の比率に多少変動がみられたが、投与用量との相関性は認められなかった。また、雌ではいずれの型の白血球においても被験物質投与群と対照群との間に差はみられなかった。

#### 5. 臓器の絶対重量および相対重量

雄では脾臓と肝臓の絶対重量の増加が 1.25% 投与群で、肝臓の相対重量の増加が 10%, 5% および 1.25% 投与群で、腎臓 (右) の相対重量の増加が 10% 投与群で、また、雌では脾臓の絶対重量の増加が 5% 投与群で、脾臓の相対重量の増加が 10% および 5% 投与群で対照群に比べて有意に認められた (Table 4, 5)。その他の臓器の絶対重量および相対重量については雌雄とも対照群との間に有意な差はみられなかった。

#### 6. 病理組織学的検索結果

病理組織学的検索の結果、雌雄とも対照群を含む

Table 2. Hematological and serum biochemical data of F344 male rats treated with  $\beta$ -cyclodextrin for 13 weeks

| Items of hematological and serum biochemical examinations | Groups of male rats      |                  |                 |                  |                    |                 |
|---|--------------------------|------------------|-----------------|------------------|--------------------|-----------------|
|   | 10% (10) <sup>a)</sup>   | 5% (10)          | 2.5% (10)       | 1.25% (10)       | 0.6% (10)          | Control (10)    |
| WBC ( $\times 10^2/\mu\text{l}$ )                         | 50 $\pm$ 4 <sup>b)</sup> | 41 $\pm$ 8       | 38 $\pm$ 7**    | 41 $\pm$ 6       | 47 $\pm$ 10        | 49 $\pm$ 6      |
| RBC ( $\times 10^4/\mu\text{l}$ )                         | 1045 $\pm$ 42            | 974 $\pm$ 41**   | 1001 $\pm$ 61   | 1017 $\pm$ 33    | 1037 $\pm$ 37      | 1044 $\pm$ 54   |
| HGB (g/dl)  | 15.4 $\pm$ 0.3           | 14.8 $\pm$ 0.3*  | 15.3 $\pm$ 0.7* | 15.2 $\pm$ 0.3*  | 15.9 $\pm$ 0.4     | 16.0 $\pm$ 0.4  |
| Ht (%)  | 51.6 $\pm$ 2.1           | 48.4 $\pm$ 1.7** | 50.1 $\pm$ 2.9* | 50.4 $\pm$ 1.6*  | 52.5 $\pm$ 2.0     | 53.1 $\pm$ 2.6  |
| MCV (fl)  | 49.4 $\pm$ 0.4**         | 49.7 $\pm$ 0.9** | 50.1 $\pm$ 0.7* | 49.6 $\pm$ 0.6** | 50.6 $\pm$ 0.4     | 50.9 $\pm$ 0.9  |
| PLT ( $\times 10^4/\mu\text{l}$ )                         | 82.2 $\pm$ 6.7           | 86.1 $\pm$ 7.5   | 82.7 $\pm$ 4.1  | 82.7 $\pm$ 6.6   | 102.0 $\pm$ 12.0** | 90.5 $\pm$ 7.4  |
| TP (g/dl)   | 6.1 $\pm$ 0.2            | 6.3 $\pm$ 0.2    | 6.3 $\pm$ 0.1   | 6.2 $\pm$ 0.2    | 6.1 $\pm$ 0.3      | 6.2 $\pm$ 0.2   |
| A/G   | 3.0 $\pm$ 0.2            | 2.8 $\pm$ 0.3    | 2.8 $\pm$ 0.2   | 2.8 $\pm$ 0.3    | 2.7 $\pm$ 0.4      | 2.8 $\pm$ 0.4   |
| Alb (g/dl)  | 4.6 $\pm$ 0.2            | 4.6 $\pm$ 0.2    | 4.6 $\pm$ 0.1   | 4.6 $\pm$ 0.2    | 4.4 $\pm$ 0.4      | 4.6 $\pm$ 0.2   |
| TC (mg/dl)  | 59 $\pm$ 3               | 60 $\pm$ 6       | 61 $\pm$ 5      | 60 $\pm$ 3       | 65 $\pm$ 24        | 59 $\pm$ 6      |
| UN (mg/dl)  | 22.2 $\pm$ 1.9*          | 21.7 $\pm$ 2.7*  | 19.0 $\pm$ 1.1* | 19.0 $\pm$ 1.9   | 19.6 $\pm$ 1.5*    | 16.6 $\pm$ 0.8  |
| CR (mg/dl)  | 0.59 $\pm$ 0.06**        | 0.52 $\pm$ 0.04  | 0.51 $\pm$ 0.06 | 0.48 $\pm$ 0.04  | 0.49 $\pm$ 0.06    | 0.48 $\pm$ 0.04 |
| Na (mEq/l)  | 143 $\pm$ 2              | 143 $\pm$ 1      | 144 $\pm$ 2     | 143 $\pm$ 1      | 143 $\pm$ 1        | 143 $\pm$ 1     |
| Cl (mEq/l)  | 105 $\pm$ 1              | 106 $\pm$ 1      | 107 $\pm$ 1*    | 107 $\pm$ 1      | 105 $\pm$ 1        | 106 $\pm$ 1     |
| K (mEq/l)   | 4.5 $\pm$ 0.3            | 4.3 $\pm$ 0.1    | 4.5 $\pm$ 0.1*  | 4.4 $\pm$ 0.2    | 4.1 $\pm$ 0.3      | 4.2 $\pm$ 0.2   |
| Ca (mg/dl)  | 10.0 $\pm$ 0.2           | 10.1 $\pm$ 0.2   | 10.0 $\pm$ 0.2  | 10.4 $\pm$ 0.4   | 9.8 $\pm$ 0.2**    | 10.3 $\pm$ 0.2  |
| P (mg/dl)   | 5.4 $\pm$ 0.4*           | 5.4 $\pm$ 0.1*   | 5.2 $\pm$ 0.6*  | 5.7 $\pm$ 0.3*   | 6.2 $\pm$ 0.2      | 6.2 $\pm$ 0.2   |
| GOT (IU/l/37°C)   | 213 $\pm$ 115*           | 105 $\pm$ 29*    | 110 $\pm$ 19*   | 85 $\pm$ 9       | 86 $\pm$ 12        | 74 $\pm$ 4      |
| GPT (IU/l/37°C)   | 123 $\pm$ 59*            | 71 $\pm$ 21*     | 63 $\pm$ 21*    | 47 $\pm$ 5       | 37 $\pm$ 5         | 35 $\pm$ 3      |
| ALP (IU/l/37°C)   | 365 $\pm$ 25*            | 334 $\pm$ 40*    | 291 $\pm$ 16    | 283 $\pm$ 24     | 268 $\pm$ 49       | 276 $\pm$ 30    |
| $\gamma$ -GTP (IU/l/37°C)                                 | 0.4 $\pm$ 0.5            | 0.2 $\pm$ 0.6    | 0.3 $\pm$ 0.7   | 0.4 $\pm$ 0.5    | 0.1 $\pm$ 0.3      | 0.3 $\pm$ 0.5   |
| Cho-E (IU/l/37°C)   | 5.0 $\pm$ 1.2            | 3.8 $\pm$ 1.1    | 4.6 $\pm$ 1.3   | 4.5 $\pm$ 2.1    | 4.0 $\pm$ 2.4      | 3.7 $\pm$ 1.6   |

a) Numbers in parenthesis represent the number of samples examined

b) Values are means  $\pm$  S. D.

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

Table 3. Hematological and serum biochemical data of F344 female rats treated with  $\beta$ -cyclodextrin for 13 weeks

| Items of hematological and serum biochemical examinations | Groups of female rats     |                  |                 |                 |                 |                 |
|---|---------------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|   | 10% (10) <sup>a)</sup>    | 5% (10)          | 2.5% (9)        | 1.25% (10)      | 0.6% (10)       | Control (10)    |
| WBC ( $\times 10^2/\mu\text{l}$ )                         | 28 $\pm$ 10 <sup>b)</sup> | 31 $\pm$ 5       | 31 $\pm$ 7      | 32 $\pm$ 9      | 33 $\pm$ 8      | 32 $\pm$ 5      |
| RBC ( $\times 10^4/\mu\text{l}$ )                         | 860 $\pm$ 62 **           | 868 $\pm$ 42 *   | 924 $\pm$ 42    | 900 $\pm$ 48    | 967 $\pm$ 49    | 955 $\pm$ 42    |
| HGB (g/dl)  | 14.6 $\pm$ 0.8            | 14.5 $\pm$ 0.6 * | 15.2 $\pm$ 0.7  | 15.3 $\pm$ 0.7  | 16.1 $\pm$ 0.6  | 15.5 $\pm$ 0.6  |
| Ht (%)  | 46.5 $\pm$ 3.1 **         | 46.9 $\pm$ 2.3 * | 49.9 $\pm$ 2.4  | 48.6 $\pm$ 2.7  | 52.7 $\pm$ 2.8  | 51.5 $\pm$ 2.4  |
| MCV (fl)  | 54.1 $\pm$ 0.5            | 54.0 $\pm$ 0.4   | 54.0 $\pm$ 0.3  | 54.0 $\pm$ 0.8  | 54.5 $\pm$ 0.4  | 54.0 $\pm$ 0.4  |
| PLT ( $\times 10^4/\mu\text{l}$ )                         | 86.1 $\pm$ 5.2            | 86.7 $\pm$ 7.9   | 88.4 $\pm$ 5.4  | 86.0 $\pm$ 5.4  | 90.9 $\pm$ 4.6  | 89.2 $\pm$ 4.3  |
| TP (g/dl)   | 6.0 $\pm$ 0.3             | 6.3 $\pm$ 0.1    | 6.3 $\pm$ 0.3   | 6.3 $\pm$ 0.1   | 6.2 $\pm$ 0.2   | 6.3 $\pm$ 0.2   |
| A/G   | 3.2 $\pm$ 0.3             | 3.0 $\pm$ 0.2    | 3.1 $\pm$ 0.4   | 3.0 $\pm$ 0.4   | 3.0 $\pm$ 0.3   | 3.0 $\pm$ 0.2   |
| Alb (g/dl)  | 4.5 $\pm$ 0.2             | 4.7 $\pm$ 0.1    | 4.8 $\pm$ 0.2   | 4.7 $\pm$ 0.2   | 4.7 $\pm$ 0.1   | 4.7 $\pm$ 0.2   |
| TC (mg/dl)  | 79 $\pm$ 7                | 87 $\pm$ 7       | 94 $\pm$ 11     | 89 $\pm$ 5      | 86 $\pm$ 9      | 86 $\pm$ 4      |
| UN (mg/dl)  | 19.5 $\pm$ 1.5            | 18.2 $\pm$ 1.6   | 19.6 $\pm$ 1.7  | 17.6 $\pm$ 1.2  | 17.8 $\pm$ 1.0  | 18.3 $\pm$ 1.6  |
| CR (mg/dl)  | 0.51 $\pm$ 0.07           | 0.46 $\pm$ 0.05  | 0.42 $\pm$ 0.04 | 0.45 $\pm$ 0.05 | 0.48 $\pm$ 0.04 | 0.46 $\pm$ 0.05 |
| Na (mEq/l)  | 145 $\pm$ 3               | 144 $\pm$ 2      | 146 $\pm$ 5     | 144 $\pm$ 1     | 144 $\pm$ 2     | 144 $\pm$ 1     |
| Cl (mEq/l)  | 105 $\pm$ 1               | 107 $\pm$ 1      | 107 $\pm$ 4     | 108 $\pm$ 1     | 106 $\pm$ 1     | 107 $\pm$ 2     |
| K (mEq/l)   | 4.3 $\pm$ 0.7             | 4.3 $\pm$ 0.2    | 4.5 $\pm$ 0.4   | 4.4 $\pm$ 0.2   | 4.4 $\pm$ 0.2   | 4.3 $\pm$ 0.1   |
| Ca (mg/dl)  | 9.9 $\pm$ 0.4 *           | 9.9 $\pm$ 0.2    | 10.1 $\pm$ 0.3  | 9.9 $\pm$ 0.1 * | 10.1 $\pm$ 0.3  | 10.2 $\pm$ 0.2  |
| P (mg/dl)   | 6.1 $\pm$ 0.7             | 5.6 $\pm$ 0.5    | 5.8 $\pm$ 0.6   | 5.5 $\pm$ 0.3   | 6.0 $\pm$ 0.5   | 6.1 $\pm$ 0.3   |
| GOT (IU/l/37°C)   | 124 $\pm$ 14 *            | 93 $\pm$ 3 *     | 87 $\pm$ 12     | 87 $\pm$ 6      | 89 $\pm$ 8 *    | 77 $\pm$ 4      |
| GPT (IU/l/37°C)   | 68 $\pm$ 13 *             | 47 $\pm$ 5 *     | 43 $\pm$ 8      | 39 $\pm$ 2      | 37 $\pm$ 3      | 35 $\pm$ 3      |
| ALP (IU/l/37°C)   | 241 $\pm$ 43 *            | 248 $\pm$ 20 *   | 207 $\pm$ 40    | 194 $\pm$ 18    | 178 $\pm$ 22    | 180 $\pm$ 16    |
| $\gamma$ -GTP (IU/l/37°C)                                 | 0.7 $\pm$ 1.6             | 0.3 $\pm$ 0.5    | 0.8 $\pm$ 0.7   | 0.2 $\pm$ 0.4   | 0.6 $\pm$ 1.1   | 0.3 $\pm$ 0.5   |
| Cho-E (IU/l/37°C)   | 6.3 $\pm$ 0.9             | 7.0 $\pm$ 1.5    | 6.3 $\pm$ 1.2   | 6.6 $\pm$ 1.8   | 6.6 $\pm$ 1.3   | 7.7 $\pm$ 1.9   |

a) Numbers in parenthesis represent the number of samples examined

b) Values are means  $\pm$  S. D.

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

すべての群の動物において肝臓のグリソン鞘や小葉内に好中球やリンパ球等の炎症性細胞の局所的な浸潤が認められたが、その程度は $\beta$ -cyclodextrinの投与用量にほぼ相関しており、高用量群で強い傾向がみられた (Table 6)。また、局所的な肝細胞の小壊死巣が雄の10%および5%投与群の動物各1匹に、雌の10%投与群の3匹に認められた。その他、雄の被験物質投与群において、腎臓にリンパ球を主とする炎症性細胞の浸潤 (主に皮質領域の血管周囲) や鉍質沈着を示す動物がみられた。以上のほかには、雌雄ともに $\beta$ -cyclodextrinの投与に依存すると思われる病変は認められなかった。

## 考 察

今回、F344ラットを用いて $\beta$ -cyclodextrinの混餌投与による13週間の亜慢性毒性試験を実施した。その結果、肝組織傷害を示唆する所見として、雄では血清中のGOT、GPTおよびALP値の上昇、肝

臓の相対重量の増加、また、肝臓の組織所見として炎症性細胞の浸潤、肝細胞の小壊死巣が、雌では血清中GOT、GPTおよびALP値の上昇と肝臓の組織所見として炎症性細胞の浸潤、肝細胞の小壊死巣が認められた。過去に報告された $\beta$ -cyclodextrinの経口投与による急性毒性試験や亜慢性毒性試験、慢性毒性試験 (6ヶ月) の結果においては明らかな毒性作用は認められておらず<sup>4,5)</sup>、今回認めた肝組織傷害は $\beta$ -cyclodextrinの毒性作用に関する新知見といえる。

$\beta$ -cyclodextrinの毒性作用は、過去の報告によれば経口投与時と非経口投与時とで大きく異なり、非経口的に投与された場合には腎毒性 (皮下および静脈内投与; 近位曲尿管上皮の空胞変性、電顕的には針状の結晶様物質を入れた巨大なリソソームが観察される) と溶血作用 (静脈内投与) が認められるが<sup>2,3)</sup>、経口投与された場合にはこれらの変化は認められていない。今回の試験は経口投与によるも

Table 4. Absolute and relative organ weight of F344 male rats treated with  $\beta$ -cyclodextrin for 13 weeks

| Organs                    | Groups of male rats        |                 |               |                 |               |               |
|---------------------------|----------------------------|-----------------|---------------|-----------------|---------------|---------------|
|                           | 10 % (10) <sup>a)</sup>    | 5 % (10)        | 2.5 % (10)    | 1.25 % (10)     | 0.6 % (10)    | Control (10)  |
| Body weight <sup>b)</sup> | 293.7 ± 13.7 <sup>d)</sup> | 294.5 ± 22.1    | 299.3 ± 24.8  | 313.3 ± 22.2    | 307.5 ± 9.1   | 303.6 ± 17.8  |
| Brain                     | 1.966 ± 0.146              | 1.878 ± 0.066   | 1.876 ± 0.063 | 1.888 ± 0.041   | 1.899 ± 0.055 | 1.903 ± 0.058 |
| Pituitary g.              | 0.012 ± 0.002              | 0.011 ± 0.002   | 0.009 ± 0.001 | 0.010 ± 0.001   | 0.011 ± 0.002 | 0.010 ± 0.001 |
| Salivary g.               | 0.563 ± 0.051              | 0.548 ± 0.049   | 0.541 ± 0.054 | 0.543 ± 0.042   | 0.568 ± 0.054 | 0.537 ± 0.039 |
| Thymus                    | 0.172 ± 0.051              | 0.208 ± 0.037   | 0.202 ± 0.027 | 0.193 ± 0.020   | 0.175 ± 0.036 | 0.184 ± 0.037 |
| Lung (R)                  | 0.743 ± 0.174              | 0.652 ± 0.079   | 0.646 ± 0.063 | 0.648 ± 0.063   | 0.648 ± 0.064 | 0.638 ± 0.067 |
| Lung (L)                  | 0.330 ± 0.031              | 0.329 ± 0.020   | 0.332 ± 0.029 | 0.331 ± 0.028   | 0.333 ± 0.015 | 0.329 ± 0.022 |
| Heart                     | 0.869 ± 0.089              | 0.856 ± 0.058   | 0.864 ± 0.061 | 0.901 ± 0.065   | 0.895 ± 0.077 | 0.917 ± 0.063 |
| Spleen                    | 0.581 ± 0.060              | 0.557 ± 0.048   | 0.536 ± 0.035 | 0.588 ± 0.059 * | 0.547 ± 0.028 | 0.526 ± 0.046 |
| Liver                     | 7.193 ± 0.772              | 7.096 ± 0.652   | 6.739 ± 0.626 | 7.422 ± 0.905 * | 6.859 ± 0.415 | 6.493 ± 0.533 |
| Adrenal g. (R)            | 0.018 ± 0.003              | 0.020 ± 0.003   | 0.021 ± 0.005 | 0.018 ± 0.004   | 0.020 ± 0.004 | 0.017 ± 0.002 |
| Adrenal g. (L)            | 0.019 ± 0.003              | 0.021 ± 0.004   | 0.020 ± 0.005 | 0.021 ± 0.004   | 0.024 ± 0.006 | 0.020 ± 0.002 |
| Kidney (R)                | 0.918 ± 0.091              | 0.881 ± 0.071   | 0.860 ± 0.089 | 0.921 ± 0.103   | 0.864 ± 0.063 | 0.866 ± 0.049 |
| Kidney (L)                | 0.932 ± 0.087              | 0.900 ± 0.089   | 0.905 ± 0.107 | 0.932 ± 0.099   | 0.874 ± 0.036 | 0.904 ± 0.059 |
| Testis (R)                | 1.486 ± 0.075              | 1.408 ± 0.061   | 0.423 ± 0.068 | 1.374 ± 0.292   | 1.478 ± 0.064 | 1.441 ± 0.065 |
| Testis (L)                | 1.515 ± 0.085              | 1.472 ± 0.062   | 1.455 ± 0.062 | 1.422 ± 0.254   | 1.477 ± 0.083 | 1.485 ± 0.087 |
| <hr/>                     |                            |                 |               |                 |               |               |
| Liver <sup>c)</sup>       | 2.448 ± 0.224 **           | 2.408 ± 0.089 * | 2.251 ± 0.092 | 2.363 ± 0.146 * | 2.232 ± 0.140 | 2.138 ± 0.104 |
| Kidney (R)                | 0.313 ± 0.026 **           | 0.299 ± 0.011   | 0.287 ± 0.014 | 0.293 ± 0.013   | 0.281 ± 0.014 | 0.286 ± 0.016 |

a) Numbers in parenthesis represent the number of samples examined

b) Absolute organ weight (g)

c) Relative organ weight as a percentage of body weight

d) Values are means ± S. D.

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

のであったが、腎毒性との関連性を疑わせる所見として、雄で血清中の UN および CR 値の上昇や P 値の低下、腎の相対重量の増加、さらに組織所見として尿細管上皮の変性や再生性の変化、炎症性細胞の浸潤、鉍質沈着等がみられ、また、溶血作用との関連性を疑わせる所見として、雌で赤血球数の減少やヘマトクリット値の低下、脾臓の相対重量の増加が認められた。これらの変化が実際に非経口投与時にみられる腎毒性や溶血作用に関連した変化であるか否かは不明であるが、いずれの変化も軽度であり、組織学的にも明らかな用量相関性を示す所見が認められなかったことから、今回の試験における毒性学的意義は低いものと思われた。

経口摂取された  $\beta$ -cyclodextrin の体内動態については、 $^{14}\text{C}$  で標識した  $\beta$ -cyclodextrin と glucose をラットに経口投与し、両者を比較検討した実験の報告がある<sup>9)</sup>。それによれば、血中の放射能のピークは glucose では投与後 30 分以内であったのに対し、 $\beta$ -cyclodextrin では 4~11 時間後と遅く、 $\beta$ -

cyclodextrin の吸収速度が非常に遅いことがわかる。しかし、吸収後の動態は良く似ており、両者とも諸臓器への特異的な集積はみられず、投与した総放射能の 2~5% が 10 時間後までに尿中へ、50~60% 程度が 24 時間後までに呼気中へ、数% が糞便中へ排泄される。また、 $\beta$ -cyclodextrin は  $\beta$ -アミラーゼには全く消化されず、唾液や涙液中の  $\alpha$ -アミラーゼによっても非常にゆっくりとしか消化されないことが報告されている<sup>7)</sup>。これらの結果から、 $\beta$ -cyclodextrin は経口摂取された場合には上部の胃や小腸ではほとんど吸収されず、大腸において腸内細菌の産生するアミラーゼ等によって直鎖型の dextrin、さらには maltose や glucose へと加水分解された後吸収され、最終的に glucose と同様の動態を示すものと推測される。これに対し、非経口的に投与された場合には  $\beta$ -cyclodextrin は分解されずそのままの形で諸臓器に行き渡るものと考えられ、これらの生体内への吸収様式の違いが、 $\beta$ -cyclodextrin の投与経路による毒性作用の違いの要因で

Table 5. Absolute and relative organ weight of F344 female rats treated with  $\beta$ -cyclodextrin for 13 weeks

| Organs                    | Groups of female rats     |                 |               |               |               |               |
|---------------------------|---------------------------|-----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|                           | 10 % (10) <sup>a)</sup>   | 5 % (10)        | 2.5 % (10)    | 1.25 % (10)   | 0.6 % (10)    | Control (10)  |
| Body weight <sup>b)</sup> | 175.9 ± 8.3 <sup>d)</sup> | 178.0 ± 7.8     | 175.8 ± 6.7   | 179.8 ± 7.6   | 180.6 ± 11.4  | 179.9 ± 8.2   |
| Brain                     | 1.771 ± 0.063             | 1.778 ± 0.073   | 1.775 ± 0.055 | 1.783 ± 0.064 | 1.793 ± 0.052 | 1.779 ± 0.032 |
| Pituitary g.              | 0.012 ± 0.001             | 0.014 ± 0.002   | 0.011 ± 0.002 | 0.011 ± 0.002 | 0.012 ± 0.002 | 0.012 ± 0.002 |
| Salivary g.               | 0.346 ± 0.049             | 0.346 ± 0.025   | 0.350 ± 0.030 | 0.339 ± 0.038 | 0.341 ± 0.020 | 0.333 ± 0.028 |
| Thymus                    | 0.180 ± 0.030             | 0.174 ± 0.015   | 0.175 ± 0.038 | 0.178 ± 0.030 | 0.183 ± 0.019 | 0.176 ± 0.028 |
| Lung (R)                  | 0.490 ± 0.040             | 0.527 ± 0.062   | 0.473 ± 0.050 | 0.487 ± 0.040 | 0.512 ± 0.063 | 0.482 ± 0.029 |
| Lung (L)                  | 0.259 ± 0.014             | 0.256 ± 0.021   | 0.250 ± 0.037 | 0.253 ± 0.031 | 0.251 ± 0.039 | 0.242 ± 0.016 |
| Heart                     | 0.594 ± 0.050             | 0.597 ± 0.053   | 0.562 ± 0.048 | 0.608 ± 0.060 | 0.598 ± 0.027 | 0.612 ± 0.057 |
| Spleen                    | 0.427 ± 0.031             | 0.437 ± 0.038*  | 0.405 ± 0.040 | 0.405 ± 0.057 | 0.394 ± 0.027 | 0.391 ± 0.024 |
| Liver                     | 3.944 ± 0.228             | 3.980 ± 0.254   | 3.872 ± 0.534 | 3.723 ± 0.264 | 3.726 ± 0.211 | 3.709 ± 0.232 |
| Adrenal g. (R)            | 0.020 ± 0.003             | 0.020 ± 0.003   | 0.018 ± 0.003 | 0.020 ± 0.006 | 0.021 ± 0.003 | 0.019 ± 0.003 |
| Adrenal g. (L)            | 0.024 ± 0.003             | 0.023 ± 0.002   | 0.022 ± 0.005 | 0.023 ± 0.005 | 0.023 ± 0.004 | 0.022 ± 0.003 |
| Kidney (R)                | 0.538 ± 0.040             | 0.544 ± 0.030   | 0.537 ± 0.036 | 0.555 ± 0.020 | 0.550 ± 0.037 | 0.548 ± 0.036 |
| Kidney (L)                | 0.539 ± 0.034             | 0.552 ± 0.027   | 0.542 ± 0.039 | 0.554 ± 0.026 | 0.558 ± 0.044 | 0.567 ± 0.031 |
| Ovary (R)                 | 0.030 ± 0.003             | 0.035 ± 0.008   | 0.027 ± 0.008 | 0.028 ± 0.007 | 0.029 ± 0.008 | 0.032 ± 0.007 |
| Ovary (L)                 | 0.032 ± 0.010             | 0.036 ± 0.012   | 0.029 ± 0.008 | 0.025 ± 0.007 | 0.029 ± 0.008 | 0.031 ± 0.010 |
| Spleen <sup>c)</sup>      | 0.243 ± 0.015**           | 0.245 ± 0.014** | 0.230 ± 0.018 | 0.225 ± 0.024 | 0.218 ± 0.017 | 0.218 ± 0.014 |

a) Numbers in parenthesis represent the number of samples examined

b) Absolute organ weight (g)

c) Relative organ weight as a percentage of body weight

d) Values are means ± S. D.

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

Table 6. Histopathological observations of F344 rats treated with  $\beta$ -cyclodextrin for 13 weeks

| Organs                                    | Groups of male rats     |          |            |             |            |              | Groups of female rats |          |            |             |            |              |
|---|-------------------------|----------|------------|-------------|------------|--------------|-----------------------|----------|------------|-------------|------------|--------------|
|   | 10 % (10) <sup>a)</sup> | 5 % (10) | 2.5 % (10) | 1.25 % (10) | 0.6 % (10) | Control (10) | 10 % (10)             | 5 % (10) | 2.5 % (10) | 1.25 % (10) | 0.6 % (10) | Control (10) |
| <b>Liver</b>                              |                         |          |            |             |            |              |                       |          |            |             |            |              |
| Inflammatory cell infiltration            | (+) <sup>b) 1 c)</sup>  | 2        | 4          | 3           | 9          | 8            | 0                     | 5        | 4          | 6           | 8          | 9            |
|   | (++)                    | 9        | 8          | 6           | 7          | 1            | 0                     | 9        | 5          | 6           | 4          | 2            |
|   | (+++)                   | 0        | 0          | 0           | 0          | 0            | 0                     | 1        | 0          | 0           | 0          | 0            |
| Focal hepatocellular necrosis             | (+)                     | 1        | 1          | 0           | 0          | 0            | 2                     | 0        | 0          | 0           | 0          | 0            |
|   | (++)                    | 0        | 0          | 0           | 0          | 0            | 1                     | 0        | 0          | 0           | 0          | 0            |
| <b>Kidney</b>                             |                         |          |            |             |            |              |                       |          |            |             |            |              |
| Tubular cell degeneration or regeneration | (+)                     | 7        | 8          | 4           | 6          | 5            | 7                     | 1        | 0          | 1           | 0          | 0            |
| Inflammatory cell infiltration            | (+)                     | 5        | 1          | 0           | 3          | 0            | 0                     | 2        | 0          | 1           | 3          | 0            |
| Mineralization                            | (+)                     | 3        | 0          | 0           | 1          | 0            | 0                     | 5        | 7          | 9           | 9          | 8            |

a) Numbers in parenthesis represent the number of rats examined

b) Degree of findings (+: mild, ++: moderate, +++: severe)

c) Values are number of rats with lesions

あると考えられる。

$\beta$ -cyclodextrin の肝臓に対する影響については、ラットに  $\beta$ -cyclodextrin を 10% あるいは 7.5% の用量で混餌投与した結果、肝ミクロソームにおける hydroxymethylglutaryl-CoA reductase および cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase 活性の上昇が顕著に認められたとの報告がある<sup>8,9)</sup>。これらの実験では、コレステロールおよびトリグリセリドの血漿中レベルの低下や胆汁酸の糞便中への排泄量の増加等も認められており、 $\beta$ -cyclodextrin が脂質代謝に影響を与えることが示唆される。以上の変化と今回の肝病変との関連性については明らかでないが、今後  $\beta$ -cyclodextrin の肝臓に対する傷害機序を検討していく上で興味深い結果といえる。

今回認められた肝組織傷害や体重増加抑制等の種々の変化を考慮し、ラットでの混餌投与による  $\beta$ -cyclodextrin の慢性毒性癌原性試験における投与用量を、雌雄とも高用量群を 5% に低用量群を 2.5% に決定して 2 年間の本試験を開始した。

## 文 献

- 1) Duchêne, D. and Wouessidjewe, D.: Pharmaceutical uses of cyclodextrins and derivatives. *Drug Develop. Industr. Pharmacy*, **16**, 2487~2499 (1990)
- 2) Frank, D. W., Gray, J. E. and Weaver, R. N.: Cyclodextrin nephrosis in the rat. *Am. J. Pathol.*, **83**, 367~382 (1976)
- 3) Szejtli, J.: In "Cyclodextrins and Their Industrial Uses". Duchêne, D. (Ed), P. 173, Editions de Santé, Paris (1987)
- 4) Szejtli, J. and Sebestyén, G.: Resorption, metabolism and toxicity studies on the peroral application of beta-cyclodextrin. *Starch/Stärke*, **31**, 385~389 (1979)
- 5) 蒔田徳太郎, 小島信郎, 橋本喜信, 井出博之, 辻正義, 藤崎幸雄:  $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -CD) の経口投与によるラットの慢性毒性試験. *応用薬理*, **10**, 449~458 (1975)
- 6) Gerlóczy, A., Fónagy, A., Keresztes, P., Perlaiky, L. and Szejtli, J.: Absorption, distribution, excretion and metabolism of orally administered <sup>14</sup>C- $\beta$ -cyclodextrin in rat. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, **35**, 1042~1047 (1985)
- 7) 鈴木正成: サイクロデキストリンの生体への影響. *フレグランス ジャーナル*, **63**, 63~67 (1983)
- 8) Levrat, M.-A., Favier, M.-L., Moundras, C., Rémésy, C., Demigné, C. and Morand, C.: Role of dietary propionic acid and bile acid excretion in the hypocholesterolemic effects of oligosaccharides in rats. *J. Nutr.*, **124**, 531~538 (1994)
- 9) Moundras, C., Behr, S. R., Demigné, C., Mazur, A. and Rémésy, C.: Fermentable polysaccharides that enhance fecal bile acid excretion lower plasma cholesterol and apolipoprotein E-rich HDL in rats. *J. Nutr.*, **124**, 2179~2188 (1994)

ジョサマイシンのF344ラットにおける13週間亜慢性毒性試験

池崎信一郎・西川秋佳・古川文夫・今沢孝喜  
三井雅之・榎並倫宣・高橋道人

A 13-Week Subchronic Toxicity Study of Josamycin in F344 Rats

Shinichiro Ikezaki, Akiyoshi Nishikawa, Fumio Furukawa, Takayoshi Imazawa,  
Masayuki Mitsui, Tomonori Enami and Michihito Takahashi

A 13-week subchronic toxicity study of josamycin was performed in male and female F344 rats to determine the maximum tolerable dose (MTD) for subsequent investigation of the carcinogenicity. As animals refused to take diet containing 5.0% josamycin in our preliminary study, dose levels in the present study were determined as 0, 0.16, 0.32, 0.63, 1.25 and 2.5% in diet. Rats were randomly allocated to 6 groups, each consisting of 10 males and 10 females.

No animal died during the administration period and no group showed significant changes in body weight gain. Definite toxicity of josamycin was not noted in hematological and serum biochemical examinations. Histopathological examinations revealed no particular findings related to josamycin administration except cecal enlargement in the 1.25 and 2.5% groups.

Based on the results of the present study, it was concluded that the MTD of josamycin is 2.5% in diet, because the dietary dose level of 2.5% proved to exert no significant toxicological signs.

**Keywords** : josamycin, F344 rats, subchronic toxicity study, MTD

(Received May 31, 1995)

はじめに

JosamycinはFig. 1に示す化学構造を有する白色～帯黄白色の粉末で<sup>1)</sup>, *Streptomyces narbonensis* var. *josamyceticus* から産生されるマクロライド系抗生物質である<sup>2)</sup>. 畜産の分野では, *Mycoplasma hyopneumoniae* に対し発育阻止を示すことから<sup>3)</sup>, 豚流行性肺炎に適用されるのをはじめ, 動物用医薬品として養豚, 養鶏, ブリの養殖等に広く用いられ

ている。

JosamycinのラットおよびマウスにおけるLD<sub>50</sub>値は, 経口投与で7000 mg/kg以上であり<sup>4)</sup>, ラットの1カ月間および5週間の亜急性毒性試験の最高用量(それぞれ2000および3000 mg/kg)<sup>2,5)</sup>ならびにラットの6カ月間慢性毒性試験の最高用量(3000 mg/kg)<sup>6)</sup>のいずれにおいても, 重篤な毒性を示さないことが報告されている。さらに, マウスの胎仔毒性試験では3000 mg/kgで若干の胎児の死亡率上

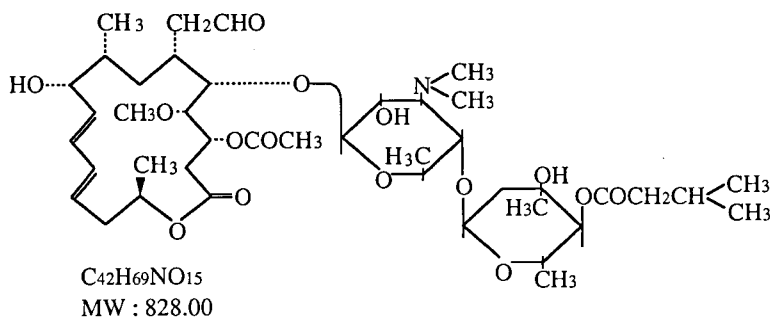


Fig. 1. Chemical structure of josamycin

昇と発育遅延が認められたのみであった<sup>2)</sup>。これらの成績から、josamycinは比較的安全性の高い薬物であることが想定されるが、がん原性に関する成績は報告されていない。

現在、本物質の畜水産食品中への残留の実態はわからないものの、ヒトに対する安全性の確認が要請されている。したがって、今回我々はjosamycinの安全性評価の一環としてがん原性試験を実施するに当たり、投与量を設定するために、雌雄のF344ラットを用いて13週間混餌投与による亜慢性毒性試験を施行した。

## 実験材料および方法

### 1. 動物ならびに飼育条件

5週齢のF344ラット雌雄各60匹を日本チャールス・リバー(株)より購入し、約1週間の馴化飼育の後、雌雄とも各群10匹ずつ6群に配した。

動物の飼育はバリエーションシステムの動物室にて行い、室内の環境条件は温度 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、換気回数18回/時間、蛍光照明12時間(7~19時)とした。

動物はポリカーボネート製箱型ケージに5匹ずつ収容し、床敷は三協ラボサービス(株)のソフトチップを用い、週2回交換した。また、飲料水として水道水を自由に摂取させた。

### 2. 被験物質ならびに投与量

Josamycinは山之内製薬(株)より購入した。既に実施した予備試験の結果、5.0%混餌食では明らかな摂餌忌避がみられたため、最高用量を2.5%とし、以下公比約2で除して1.25, 0.63, 0.32, 0.16%に設定した。それぞれ粉末飼料(CRF-1:日本チャールス・リバー(株))に混じて13週間自由に摂取させ、また対照群には粉末飼料のみを同様に摂取させた。

### 3. 観察ならびに検査方法

投与期間中、一般状態の観察を連日実施し、体重および摂餌量は毎週1回測定した。動物は、剖検日前日より一晩絶食させ、翌日エーテル麻酔下で腹部大動脈から採血後、屠殺剖検した。

血液学的検査は、自動血球計測装置(東亜医用電子社, Sysmex M-2000)を用いて、白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン量(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、MCV, MCH, MCHCおよび血小板数(PLT)について計測した。

血清生化学的検査は、分離した血清を凍結後、総

蛋白(TP)、A/G比、アルブミン(Alb)、総コレステロール(T.Cho)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(CRN)、ナトリウム(Na)、塩素(Cl)、カリウム(K)、カルシウム(Ca)、無機リン(P)、AST、ALT、LDH、アルカリフォスファターゼ(ALP)、 $\gamma$ -GTPおよびコリンエステラーゼ(ChE)についてSRL社に依頼し測定した。

諸臓器は肉眼的に観察後摘出し、脳、下垂体、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、精巣および卵巣の重量を測定した。上記の臓器に加え、眼球、ハーダー腺、脊髄、胃、小腸、大腸、膵臓、膀胱、皮膚、乳腺、リンパ節、気管、食道、甲状腺、舌、大腿筋、精巣上体、精囊、前立腺、子宮および膣を10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。固定臓器は、常法に従い、パラフィン包埋後薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン(H.E.)染色を施し、病理組織学的検索を行った。

### 4. 統計処理

体重、血液学的検査値、血清生化学的検査値および臓器重量は、Bartlett法にて等分散の検定を行い、等分散の場合には一元配置の分散分析を行い、不等分散の場合には、Kruskal-Wallis法により検定を行った。群間に有意差を認めた場合の多重比較は例数が等しければDunnett型で、また例数が異なればScheffe型でそれぞれ対照群と各投与群との有意差検定を行った<sup>7)</sup>。

## 結 果

### 1. 死亡動物および一般状態

投与期間を通じて、死亡動物は認められなかった。また、いずれの動物においても一般状態の異常はみられなかった。

### 2. 体重および摂餌量 (Fig. 2, 3およびTable 1)

体重は、雄の0.16, 0.63, 1.25および2.5%群が投与6週目頃から対照群をやや下回って推移し、最終体重は対照群の88.1~93.0%であった。しかしながら用量相関性はみられず、また統計学的な有意差はみられなかった。雌では、いずれの群も対照群と同様の体重推移を示した。

摂餌量においては、雌雄の各群とも投与期間を通じて対照群とほぼ同様に推移した。

被験物質摂取量は用量公比にほぼ相関した値を示し、雌雄間に大きな差はなかった。

### 3. 血液学的検査 (Table 2.1および2.2)

雄では異常は認められなかった。



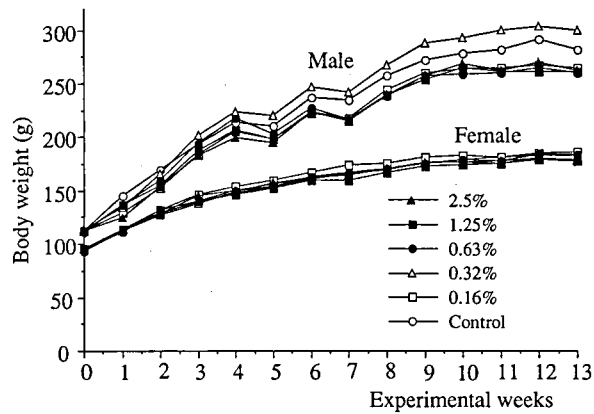


Fig. 2. Body weight curves for rats treated with josamycin for 13 weeks

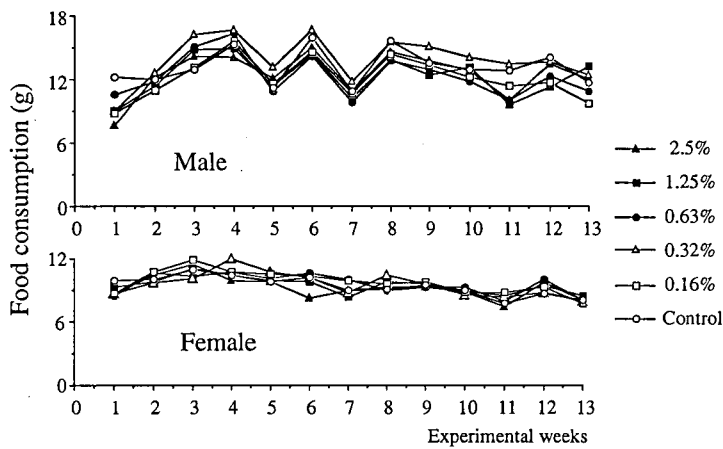


Fig. 3. Food consumption curves for rats treated with josamycin

Table 1. Food consumption and intake of josamycin

| Group           | Food consumption<br>(g/animal/day) |        | Daily intake<br>(mg/kg/day) |        | Total intake<br>(g/kg) |        |
|-----------------|------------------------------------|--------|-----------------------------|--------|------------------------|--------|
|                 | Male                               | Female | Male                        | Female | Male                   | Female |
| 2.5% Josamycin  | 12.5                               | 9.3    | 1467                        | 1484   | 135                    | 106    |
| 1.25% Josamycin | 12.2                               | 9.5    | 717                         | 773    | 66                     | 71     |
| 0.63% Josamycin | 12.3                               | 9.6    | 361                         | 386    | 33                     | 36     |
| 0.32% Josamycin | 13.8                               | 9.5    | 168                         | 196    | 16                     | 18     |
| 0.16% Josamycin | 12.1                               | 9.8    | 91                          | 98     | 8                      | 9      |
| Control         | 13.1                               | 9.4    | —                           | —      | —                      | —      |

Table 2.1. Hematological and serum biochemical data of male rats treated with josamycin

| Item                              | Dose level  |               |               |               |               |               |
|-----------------------------------|-------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|                                   | Control     | 0.16%         | 0.32%         | 0.63%         | 1.25%         | 2.50%         |
| <b>Hematology</b>                 |             |               |               |               |               |               |
| WBC ( $\times 10^2/\mu\text{l}$ ) | 41.3 ± 10.0 | 35.5 ± 4.84   | 37.9 ± 4.25   | 28 ± 2.26     | 32.8 ± 4.02   | 35.9 ± 6.57   |
| RBC ( $\times 10^4/\mu\text{l}$ ) | 922 ± 75.8  | 942 ± 33.1    | 926 ± 5.93    | 908 ± 28.2    | 894 ± 30.4    | 908 ± 28.5    |
| Hb (g/dl)                         | 15.4 ± 1.31 | 16.0 ± 0.54   | 15.4 ± 0.24   | 15.4 ± 0.37   | 14.9 ± 0.42   | 15.2 ± 0.47   |
| Ht (%)                            | 44.6 ± 3.81 | 46.1 ± 1.58   | 44.8 ± 0.37   | 44.4 ± 0.99   | 43.3 ± 1.50   | 44.3 ± 1.35   |
| MCV (fl)                          | 48.3 ± 0.45 | 48.9 ± 0.34   | 48.3 ± 0.27   | 48.9 ± 0.56   | 48.4 ± 0.49   | 48.8 ± 0.20   |
| MCH (pg)                          | 16.7 ± 0.22 | 17.0 ± 0.20   | 16.7 ± 0.18   | 16.9 ± 0.31   | 16.7 ± 0.34   | 16.7 ± 0.21   |
| MCHC (g/dl)                       | 34.6 ± 0.52 | 34.7 ± 0.48   | 34.5 ± 0.34   | 34.5 ± 0.61   | 34.4 ± 0.58   | 34.3 ± 0.49   |
| PLT ( $\times 10^5/\mu\text{l}$ ) | 72.9 ± 6.42 | 78.3 ± 4.37   | 75.2 ± 3.31   | 76.1 ± 4.86   | 76.7 ± 5.70   | 75.0 ± 4.04   |
| <b>Serum biochemistry</b>         |             |               |               |               |               |               |
| TP (g/dl)                         | 6.17 ± 0.09 | 5.78 ± 0.18** | 5.95 ± 0.14** | 5.87 ± 0.14** | 5.92 ± 0.13** | 6.01 ± 0.20   |
| A/G                               | 2.55 ± 0.28 | 2.97 ± 0.15** | 2.83 ± 0.18*  | 2.91 ± 0.25** | 2.72 ± 0.20   | 2.79 ± 0.17   |
| Alb (g/dl)                        | 4.43 ± 0.16 | 4.33 ± 0.13   | 4.39 ± 0.10   | 4.36 ± 0.15   | 4.32 ± 0.12   | 4.42 ± 0.20   |
| T.Cho (mg/dl)                     | 52.6 ± 4.45 | 54.7 ± 5.21   | 59.7 ± 4.83** | 57.5 ± 5.19   | 70 ± 4.45**   | 70.3 ± 2.95** |
| BUN (mg/dl)                       | 15.6 ± 0.96 | 15.3 ± 1.27   | 14.8 ± 0.68   | 16.2 ± 1.25   | 16.2 ± 2.51   | 18.3 ± 1.13   |
| CRN (mg/dl)                       | 0.52 ± 0.08 | 0.47 ± 0.07   | 0.45 ± 0.05   | 0.44 ± 0.07*  | 0.47 ± 0.05   | 0.51 ± 0.06   |
| Na (mEq/dl)                       | 147 ± 1.03  | 148 ± 1.00    | 149 ± 1.29    | 148 ± 1.25    | 147 ± 0.94    | 147 ± 2.39    |
| Cl (mEq/dl)                       | 104 ± 1.66  | 104 ± 1.22    | 104 ± 1.42    | 104 ± 1.03    | 103 ± 1.96    | 104 ± 1.37    |
| K (mEq/dl)                        | 4.32 ± 0.25 | 4.52 ± 0.30   | 4.19 ± 0.28   | 4.32 ± 0.58   | 4.21 ± 0.26   | 4.56 ± 0.55   |
| Ca (mg/dl)                        | 9.9 ± 0.15  | 9.6 ± 0.29    | 10.1 ± 0.26   | 10.0 ± 0.34   | 9.9 ± 0.24    | 10.2 ± 0.36   |
| P (mg/dl)                         | 6.37 ± 0.22 | 6.41 ± 0.78   | 6.31 ± 0.48   | 5.69 ± 0.62   | 5.33 ± 0.49   | 5.68 ± 0.76   |
| AST (IU/l)                        | 98.2 ± 11.3 | 108.4 ± 9.34  | 85.7 ± 9.37*  | 93.1 ± 9.93   | 97.5 ± 7.85   | 104.3 ± 7.90  |
| ALT (IU/l)                        | 41.3 ± 5.85 | 38.7 ± 12.7   | 39.9 ± 4.15   | 36.1 ± 4.12   | 37.8 ± 2.35   | 38.1 ± 2.64   |
| LDH (IU/l)                        | 1094 ± 326  | 1582 ± 402*   | 335 ± 350**   | 754 ± 509     | 971 ± 238     | 1397 ± 279    |
| ALP (IU/l)                        | 262 ± 12.0  | 218 ± 23.5    | 237 ± 9.90    | 231 ± 21.3    | 242 ± 33.6    | 253 ± 21.0    |
| $\gamma$ -GTP (IU/l)              | 0.4 ± 0.70  | 0.5 ± 0.73    | 0.5 ± 0.71    | 0.3 ± 0.67    | 0.2 ± 0.63    | 0.4 ± 0.84    |
| Cho-E (IU/l)                      | 5.7 ± 2.54  | 7.8 ± 2.20    | 4.6 ± 1.26    | 5.7 ± 3.20    | 5.8 ± 1.93    | 6.8 ± 2.66    |

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

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

雌では、PLTの有意な減少が0.63%以上の群でみられた。

#### 4. 血清生化学的検査 (Table 2.1 および 2.2)

雌雄とも0.16%以上の群でTPの有意な減少ないし減少傾向が、雌の2.5%群でAlbの有意な減少がみられた。しかし、TPの減少は明らかな用量相関性のない軽度の変動であった。

また、雌においては0.16%以上の群でASTの有意な上昇がみられた。

なお、雄で0.32%以上、雌で0.16%以上の群でT.Choの有意な変動がみられたが、雌雄間で正反対の変動であり、用量相関性も明確でなかった。その他、一部に有意な変動が認められたが、用量相関性はみられなかった。

#### 5. 臓器重量 (Table 3.1 および 3.2)

雄では、肝臓の相対重量および副腎の絶対重量において有意な増減がみられたが用量相関性は明確でなかった。

雌では、異常は認められなかった。

#### 6. 病理学的検索

肉眼的検索では、盲腸の拡張が2.5%群の雄4例と雌3例、1.25%群の雌1例にみられた。

病理組織学的検索では、ハーゲ腺における炎症性細胞浸潤が計2例(0.32%群の雄と0.63%群の雌の各1例)、リンパ節におけるヘモジデリンを食したマクロファージの浸潤が計3例(0.16%群の雄、1.25%群の雌と2.5%群の雌の各1例)、限局性の肝細胞の空胞化が計4例(0.16、0.32、1.25および2.5%群の雌各1例)にみられたが、用量相関性がないか、または少数例での変化であった。その他の臓器に特記すべき異常所見は認められなかった。

#### 考 察

雄の0.16、0.63、1.25および2.5%群の体重は対照群を軽度下回ったが、用量相関性はみられず、統計学的有意差もないことから、被験物質投与に起因する変化と断定するには至らなかった。

Table 2.2. Hematological and serum biochemical data of female rats treated with josamycin

| Item                              | Dose level |              |             |             |              |              |
|-----------------------------------|------------|--------------|-------------|-------------|--------------|--------------|
|                                   | Control    | 0.16%        | 0.32%       | 0.63%       | 1.25%        | 2.50%        |
| <b>Hematology</b>                 |            |              |             |             |              |              |
| WBC ( $\times 10^7/\mu\text{l}$ ) | 28.7±8.10  | 24.5±5.42    | 29.3±4.27   | 26.8±4.80   | 30.4±4.35    | 31.9±6.51    |
| RBC ( $\times 10^4/\mu\text{l}$ ) | 852±28.4   | 857±29.1     | 863±22.8    | 836±24.0    | 864±28.2     | 860±27.1     |
| Hb (g/dl)                         | 15.4±0.44  | 15.4±0.58    | 15.5±0.45   | 15.0±0.38   | 15.4±0.37    | 15.3±0.40    |
| Ht (%)                            | 43.2±1.47  | 43.3±1.52    | 43.6±1.19   | 42.3±1.10   | 43.6±1.39    | 43.3±1.49    |
| MCV (fl)                          | 50.7±0.14  | 50.5±0.27    | 50.5±0.33   | 50.6±0.27   | 50.4±0.34    | 50.3±0.33    |
| MCH (pg)                          | 18.1±0.19  | 18.0±0.29    | 17.6±0.95   | 18.0±0.20   | 17.8±0.20    | 17.8±0.28    |
| MCHC (g/dl)                       | 35.6±0.39  | 35.7±0.51    | 35.5±0.30   | 35.6±0.44   | 35.4±0.37    | 35.5±0.65    |
| PLT ( $\times 10^4/\mu\text{l}$ ) | 81.2±4.55  | 76.9±2.94    | 77.9±3.51   | 73.5±2.66** | 72.7±3.60**  | 73.1±4.87**  |
| <b>Serum biochemistry</b>         |            |              |             |             |              |              |
| TP (g/dl)                         | 6.36±0.18  | 6.11±0.14*   | 6.01±0.20** | 6.09±0.23*  | 6.14±0.15    | 5.95±0.24**  |
| A/G                               | 2.68±0.18  | 3.23±0.13    | 2.98±0.30   | 3.11±0.27   | 2.9±0.32     | 2.9±0.18     |
| Alb (g/dl)                        | 4.63±0.16  | 4.66±0.12    | 4.50±0.21   | 4.60±0.23   | 4.56±0.14    | 4.42±0.16*   |
| T.Cho (mg/dl)                     | 91.5±4.84  | 72.4±4.90**  | 71.7±8.39** | 78.5±6.88** | 86.4±5.25    | 84±5.75*     |
| BUN (mg/dl)                       | 14.9±1.52  | 13.7±0.72    | 13.7±0.86   | 14.7±1.24   | 14.9±0.74    | 16.8±1.66    |
| CRN (mg/dl)                       | 0.41±0.06  | 0.43±0.07    | 0.39±0.06   | 0.4±0.09    | 0.45±0.05    | 0.41±0.06    |
| Na (mEq/dl)                       | 147±1.66   | 147±1.78     | 147±1.27    | 146±1.23    | 149±1.57     | 148±1.20     |
| Cl (mEq/dl)                       | 105±2.42   | 104±2.00     | 105±1.17    | 105±0.94    | 105±1.51     | 105±1.35     |
| K (mEq/dl)                        | 4.46±0.66  | 4.19±0.52    | 4.26±0.63   | 4.1±0.27    | 4.36±0.60    | 4.31±0.47    |
| Ca (mg/dl)                        | 10.3±0.26  | 10.1±0.37    | 10.0±0.31   | 9.8±0.23**  | 10.1±0.34    | 10.1±0.30    |
| P (mg/dl)                         | 6.04±0.71  | 5.88±0.63    | 5.99±1.07   | 5.09±0.19   | 6.00±1.18    | 5.89±0.59    |
| AST (IU/l)                        | 79.6±4.72  | 102.3±8.78** | 97.1±6.06** | 102±6.50**  | 103.3±9.59** | 99.7±11.41** |
| ALT (IU/l)                        | 29.7±2.67  | 31.5±3.37    | 33.7±4.00   | 31.3±2.41   | 32.8±1.62    | 34.1±1.60    |
| LDH (IU/l)                        | 269±163    | 891±543      | 596±189     | 1108±215    | 1066±469     | 863±228      |
| ALP (IU/l)                        | 164±12.9   | 161±15.2     | 161±22.7    | 157±10.7    | 152±17.7     | 153±17.1     |
| $\gamma$ -GTP (IU/l)              | 0.7±0.82   | 0.6±1.07     | 0.4±0.70    | 0.6±0.70    | 0.5±0.71     | 0.5±0.85     |
| Cho-E (IU/l)                      | 7.1±1.73   | 7.6±1.51     | 8.2±2.44    | 8.4±2.27    | 8.2±2.74     | 7.3±1.57     |

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

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

Table 3.1. Absolute and relative organ weights of male rats treated with josamycin

| Item            | Dose level                     |                    |                  |                  |                  |                    |
|-----------------|--------------------------------|--------------------|------------------|------------------|------------------|--------------------|
|                 | Control                        | 0.16%              | 0.32%            | 0.63%            | 1.25%            | 2.5%               |
| Body weight (g) | 281.6±20.2 <sup>a)</sup>       | 247.4±21.1         | 291±8.98         | 250.1±27.4       | 255.9±21.5       | 257.0±10.9         |
| Brain (g)       | 1.90±0.05 (0.68) <sup>b)</sup> | 1.88±0.04 (0.76)   | 1.90±0.03 (0.65) | 1.87±0.06 (0.75) | 1.86±0.06 (0.73) | 1.85±0.04 (0.72)   |
| Pituitary (mg)  | 9.8±1.0 (3.4)                  | 9.0±1.3 (3.6)      | 10±2.9 (3.7)     | 10±1.0 (4.0)     | 9.7±1.1 (3.8)    | 8.4±1.4 (3.2)      |
| Thymus (g)      | 0.13±0.06 (0.04)               | 0.13±0.03 (0.05)   | 0.15±0.05 (0.05) | 0.13±0.03 (0.05) | 0.14±0.03 (0.05) | 0.14±0.03 (0.05)   |
| Lung R (g)      | 0.60±0.08 (0.21)               | 0.58±0.06 (0.23)   | 0.61±0.05 (0.21) | 0.55±0.07 (0.22) | 0.56±0.06 (0.22) | 0.56±0.02 (0.22)   |
| L (g)           | 0.33±0.01 (0.12)               | 0.29±0.02 (0.11)   | 0.33±0.01 (0.11) | 0.31±0.04 (0.12) | 0.30±0.03 (0.12) | 0.31±0.02 (0.12)   |
| Heart (g)       | 0.83±0.06 (0.29)               | 0.76±0.10 (0.30)   | 0.83±0.03 (0.28) | 0.73±0.12 (0.29) | 0.72±0.07 (0.28) | 0.78±0.06 (0.30)   |
| Spleen (g)      | 0.55±0.04 (0.19)               | 0.46±0.04 (0.18)   | 0.55±0.03 (0.19) | 0.47±0.05 (0.19) | 0.51±0.11 (0.20) | 0.46±0.03 (0.18)   |
| Liver (g)       | 6.09±0.49 (2.16)               | 4.96±0.47 (2.00**) | 6.29±0.30 (2.16) | 5.23±0.66 (2.09) | 5.73±0.51 (2.23) | 5.89±0.35 (2.29**) |
| Adrenal R (mg)  | 18±2.6 (6.5)                   | 17±2.2 (6.9)       | 19±3.1 (6.4)     | 15±2.3* (6.2)    | 16±1.5 (6.1)     | 17±2.4 (6.6)       |
| L (mg)          | 19±2.8 (6.6)                   | 18±2.4 (7.1)       | 18±3.6 (6.3)     | 19±3.7 (7.4)     | 17±2.5 (6.7)     | 19±2.9 (7.2)       |
| Kidney R (g)    | 0.84±0.08 (0.30)               | 0.74±0.05 (0.30)   | 0.86±0.04 (0.29) | 0.74±0.08 (0.29) | 0.76±0.07 (0.29) | 0.76±0.03 (0.29)   |
| L (g)           | 0.84±0.08 (0.30)               | 0.75±0.05 (0.30)   | 0.86±0.03 (0.29) | 0.75±0.08 (0.30) | 0.75±0.09 (0.29) | 0.76±0.05 (0.29)   |
| Testis R (g)    | 1.40±0.07 (0.50)               | 1.33±0.07 (0.54)   | 1.42±0.04 (0.48) | 1.34±0.12 (0.54) | 1.30±0.05 (0.51) | 1.31±0.07 (0.51)   |
| L (g)           | 1.44±0.07 (0.51)               | 1.37±0.11 (0.55)   | 1.44±0.04 (0.49) | 1.37±0.13 (0.55) | 1.34±0.04 (0.52) | 1.16±0.42 (0.45)   |

a): Data represent mean values  $\pm$  S.D.

b): Relative organ weights are shown in parentheses

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

Table 3.2. Absolute and relative organ weights of female rats treated with josamycin

| Item            | Dose level                     |                  |                  |                  |                  |                   |
|-----------------|--------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
|                 | Control                        | 0.16%            | 0.32%            | 0.63%            | 1.25%            | 2.5%              |
| Body weight (g) | 173.8±11.7 <sup>a)</sup>       | 174.8±5.22       | 167.2±8.81       | 173.5±9.20       | 168.9±6.34       | 169.0±7.27        |
| Brain (g)       | 1.79±0.04 (1.03) <sup>b)</sup> | 1.82±0.04 (1.04) | 1.79±0.05 (1.07) | 1.77±0.05 (1.02) | 1.79±0.03 (1.06) | 1.79±0.03 (1.066) |
| Pituitary (mg)  | 14±1.6 (8.1)                   | 13±0.9 (7.8)     | 15±1.7 (9.1)     | 15±2.3 (8.7)     | 14±1.2 (8.4)     | 13±1.5 (8.0)      |
| Thymus (g)      | 0.17±0.01 (0.09)               | 0.16±0.017(0.09) | 0.15±0.02(0.09)  | 0.15±0.01(0.09)  | 0.16±0.02(0.09)  | 0.14±0.04(0.087)  |
| Lung R (g)      | 0.47±0.06(0.27)                | 0.49±0.07 (0.28) | 0.46±0.05(0.27)  | 0.49±0.04(0.28)  | 0.49±0.04(0.29)  | 0.48±0.06(0.288)  |
| L (g)           | 0.25±0.02(0.14)                | 0.25±0.02 (0.14) | 0.25±0.03(0.15)  | 0.26±0.02(0.15)  | 0.26±0.02(0.15)  | 0.25±0.04(0.153)  |
| Heart (g)       | 0.56±0.05(0.32)                | 0.55±0.07 (0.31) | 0.54±0.03(0.32)  | 0.56±0.04(0.32)  | 0.54±0.04(0.32)  | 0.53±0.04(0.317)  |
| Spleen (g)      | 0.38±0.03(0.22)                | 0.38±0.03 (0.21) | 0.36±0.01(0.21)  | 0.37±0.02(0.21)  | 0.36±0.03(0.21)  | 0.34±0.03(0.206)  |
| Liver (g)       | 3.73±0.34(2.15)                | 3.28±1.16 (1.88) | 3.59±0.17(2.14)  | 3.59±0.21(2.07)  | 3.72±0.15(2.20)  | 3.74±0.28(2.216)  |
| Adrenal R (mg)  | 20±2.9 (12)                    | 21±3.9 (12)      | 21±3.0 (12)      | 19±2.9 (11)      | 20±2.8 (12)      | 17±3.1 (11)       |
| L (mg)          | 21±3.4 (12)                    | 22±1.7 (13)      | 22±3.9 (14)      | 21±3.4 (12)      | 22±2.5 (13)      | 18±3.9 (11)       |
| Kidney R (g)    | 0.55±0.04(0.32)                | 0.53±0.02 (0.30) | 0.52±0.03(0.31)  | 0.54±0.02(0.31)  | 0.52±0.02(0.31)  | 0.53±0.04(0.316)  |
| L (g)           | 0.51±0.03(0.32)                | 0.53±0.02 (0.30) | 0.54±0.03(0.32)  | 0.54±0.02(0.31)  | 0.55±0.02(0.32)  | 0.52±0.04(0.311)  |
| Ovary R (mg)    | 34±6.6 (19)                    | 33±6.0 (19)      | 32±5.2 (19)      | 32±6.0 (19)      | 29±2.4 (17)      | 31±3.4 (18)       |
| L (mg)          | 34±6.0 (19)                    | 30±3.6 (17)      | 32±2.2 (19)      | 34±6.8 (19)      | 31±4.8 (19)      | 29±5.2 (17)       |

a): Data represent mean values ± S. D.

b): Relative organ weights are shown in parentheses

また、血液学的に、雌の0.63%以上の群でPLTの有意な減少がみられたが、いずれも軽度な変動であり、出血などを示唆する組織所見もみられなかったことから、毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。

血清生化学的に、雌雄の0.16%以上の群でTPの減少がみられ、雌の2.5%群ではAlbの有意な減少が認められた。Josamycinの雄ラットを用いた1ヶ月間反復投与試験では、250 mg/kg/day以上の投与により有意なTPの減少がみられていることから<sup>5)</sup>、本試験での血清蛋白の減少と被験物質投与との関係は否定できないものの、本試験でのTPの変動は明らかな用量相関性のみられない軽度な変動であった。また、雌ではASTの上昇がみられたが軽度な変動であり、さらに肝臓を含めた諸臓器に組織障害性変化はみられなかった。したがって、これら検査項目における変動はいずれも、毒性学的意義は乏しいものと考えられた。

剖検では、肉眼的に1.25と2.5%群の少数例で盲腸の拡張がみられたが、一般にげっ歯類を用いた毒性試験において、大量の抗生剤を連続投与するとしばしば内容物の増加を伴った盲腸の拡張がみられることが知られている。さらに、前述のjosamycinの1ヶ月間反復投与試験においても、250 mg/kg/day以上の投与により盲腸重量の有意な増加がみられている<sup>5)</sup>。この盲腸拡張は、腸内細菌叢、特に水分吸収あるいは粘液代謝に関与する細菌の減少による盲腸内の水分あるいは電解質の変化に起因するこ

とが知られており<sup>8,9)</sup>、盲腸における組織障害性が認められなかったことから、毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。

以上の如く、0.16, 0.32, 0.63, 1.25および2.5%のjosamycinの混餌投与により、中毒死はみられず、一般状態および種々の検査結果に重篤な毒性を示唆する変化はみられなかった。したがって、5.0%で摂食忌避がみられることを考慮し、混餌投与によるがん原性試験の最大耐量(MTD)は2.5%とすることが妥当と考えられた。

## 文 献

- 1) 大阪府病院薬剤師会(編集), 澤田昌良, 上田要一, 竹上都美, 竹上 学, 但馬重俊: 医薬品要覧 第5版. 抗生物質. 薬業時報社, 1962~1963 (1992)
- 2) 栗秋 要, 三木寿雄, 瀬島行雄, 柴田正勝, 井田昶, 岡崎雅彦, 橋本敬祐: Josamycinの研究V. Josamycinの毒性に関する研究. *Jpn. J. Antibiotics*, 22(3), 219~225 (1969)
- 3) Yamamoto, K., Koshimizu, K., Ogata, M.: In vitro susceptibility of *Mycoplasma hyopneumoniae* to antibiotics. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 48(1), 1~5 (1986)
- 4) JPDI編集委員会(編集): 日本薬局方 医薬品情報. 薬業時報社, 642~643 (1991)
- 5) 三浦昌己, 守野豊彦, 遠野晴子, 白岩和己, 松本一彦, 早野和夫: RokitamycinとJosamycinのラットにおける比較毒性試験. *Jpn. J. Antibiotics*, 40(3), 588~601 (1987)

- 6) 羽里彦左衛門, 山本 正, 田所一郎, 川村明義, 鈴木 潔, 西岡久寿弥, 奥木 実, 坂本元子: Josamycinの研究 VIII. Josamycinのラットにおける6ヵ月毒性試験. *Jpn. J. Antibiotics*, 22(3), 242~253 (1969)
- 7) 山崎 実, 野口雄次, 丹田 勝, 新谷 茂: ラット一般毒性試験における統計的手法の検討. 武田研究所報, 40(3/4), 163~187 (1981)
- 8) 前川昭彦, 林 裕造 (編集), 今井 清: 毒性試験講座5 毒性病理学, 消化器系 非腫瘍性病変, 地人書館, 127~135 (1991)
- 9) Savage, D. C., Dubos, R.: Alterations in the mouse cecum and its flora produced by anti-bacterial drugs. *J. Exp. Med.*, 128, 97~110 (1968)

## Bromodichloromethane 投与ラットに誘発された cholangiofibrosis の細胞増殖活性

安原加壽雄・三森国敏・会田喜崇・小野寺博志・高橋道人

Cell proliferative activities of cholangiofibrosis induced in rats  
treated with bromodichloromethaneKazuo Yasuhara, Kunitoshi Mitsumori, Yoshitaka Aida,  
Hiroshi Onodera and Michihito Takahashi

To clarify whether bromodichloromethane (BDCM)-induced cholangiofibrosis progresses to cholangiocarcinoma, further morphological examinations were performed on the livers obtained from our previous experiment. The livers of Wistar rats fed diet containing 2200, 550, 140 or 0 ppm of microencapsulated BDCM up to 24 months were examined at months 6, 12, 18, and 24. The liver sections were stained with H-E, PAS and Azan, and were subjected to immunostaining using anti-proliferating cell nuclear antigen (PCNA) monoclonal antibody for determination of the PCNA labeling index of bile duct epithelia, as well as silver staining for nucleolar organizer regions (AgNORs). At month 6, the severity of hyperplasia of atypical bile duct epithelia in the 2200 ppm group was marked, their PCNA labeling index being highest (68.5). The number of bile ducts gradually decreased, and the severity of fibrosis became more marked, with prolongation of the treatment. The PCNA labeling index in hyperplastic bile ducts in this group also decreased to 31.5 at month 24. The number of AgNORs in the nuclei of bile duct epithelia in the 2200 ppm group was highest at month 6, but decreased thereafter. The present study suggests that the possibility of the progression from cholangiofibrosis to neoplastic lesions is extremely low.

**Keywords :** cholangiofibrosis, bromodichloromethane, rat, liver, PCNA

(Received May 31, 1995)

## 緒 言

水道水の浄化過程における河川水の塩素処理により、河川中に含まれる有機物と塩素が反応してクロロホルムおよび臭素を含むトリハロメタンが形成されることが報告されている<sup>1,2,3,4,5</sup>。また、トリハロメタンの1つである bromodichloromethane (BDCM) をラットに終生投与することにより肝臓に adenofibrosis (cholangiofibrosis) が誘発されることも報告されている<sup>6</sup>。我々も BDCM を投与することにより同様の病変が誘発されることを報告した<sup>7</sup>。Cholangiofibrosis は細胞の異型度が高いことから、胆管癌の前癌病変であるとの報告もある<sup>8,9</sup>が、それらの因果関係に関しては明確にされている訳ではない。そこで、我々の前回の実験材料より、BDCM 投与によりラットに誘発されたこの病変について、増殖細胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen: PCNA) 抗体による免疫組織染色および核

小体形成体 (nucleolar organizer regions: NORs) のための銀染色を行い胆管上皮の細胞増殖活性を経時的に観察し、その生物学的特徴について詳細な検討を行うとともに、cholangiofibrosis が胆管癌に移行するか否かを検討した。

## 実 験 方 法

被験物質、動物および飼育条件、投与方法の詳細は我々の前回の論文に記載されている<sup>7</sup>。その概要を以下に示した。

## 1. 被験物質

Bromodichloromethane (BDCM, Aldrich Chemical Co., USA) は安定剤としてエタノールを 2 w/v% 含む、純度 98% の液体で、低沸点 (沸点: 87°C)、水に難溶な物質である。

## 2. 動物および飼育条件

静岡県実験動物協同組合より Slc : Wistar 系ラット、雄雌各 190 匹を 4 週齢で購入し、1 週間の順

飼育観察後、健康と認められた動物を5週齢(体重、雄:110.1~133.4g, 雌:80.7~95.5g)にて実験に供した。投与開始前日に体重層別無作為抽出法で各群の体重がほぼ等しくなるように動物を割り付けた。すなわち、雌雄各40匹より成る3群に各濃度のBDCMを投与し、残りの雌雄各70匹を対照群とした。

動物は、室温 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 5\%$ 、換気回数18回/時間に空調された動物室内に収容し、金網性ケージで個別飼育した。動物室の照明は点灯午前5時、消灯午後5時の12時間照明とした。被験物質添加あるいは無添加粉末飼料(F-II, 船橋農場製)および水(水道水)は自由に摂取させた。

### 3. 投与量および投与方法

市販の食用品ゼラチンと粉アメを使用してマイクロカプセル化したBDCM<sup>0.11)</sup>の20~80メッシュの大きさのものを用い、急性および亜急性毒性試験の結果<sup>12)</sup>より2200ppmを最高用量とし、以下、公比4で550および140ppm(中および低用量)の濃度と成るように粉末飼料に混合し、24カ月間自由に摂取させた。なお、対照群の動物にはBDCMを含まないマイクロカプセルを、カプセル添加量の多い高用量群と同濃度と成るように調整した粉末飼料を与えた。

### 4. 観察および組織学的検査方法

動物の一般状態および死亡の有無は毎日観察した。投与6カ月目にBDCM投与群各6匹および対照群10匹、12および18カ月目にBDCM投与群各5匹および対照群9匹を、また24カ月目にはすべての生存動物について一晩絶食を行った後、エーテル麻酔下で放血を行い屠殺・剖検し、肝臓を取り出し10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。肝臓は切り出しを行った後、常法に従いパラフィン切片を作製、H-E染色を施し病理組織学的に検索した。また、胆管上皮細胞内の粘液を証明する目的でPAS反応、間質結合組織を確認する目的でAzan染色を行った。さらに、胆管および肝細胞の細胞増殖活性を検索する目的で、細胞増殖サイクルの主としてG<sub>1</sub>後期からS期にかけて細胞核内に蓄積するDNA合成酵素の一つであり、サイクリンとも呼ばれる非ヒストン系の核蛋白質である増殖細胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen: PCNA)による免疫染色および細胞の増殖動態によってその数、大きさが細胞の代謝、増殖、分化などに強く関連すると推察され、リボゾームDNAのループを形成しており、好

銀性を示す核小体形成体(nucleolar organizer regions: NORs)の銀(AgNORs)染色を行った。すなわち、6, 12, 18および24カ月目に雌の最高用量(2200ppm)群と対照群の3~5例のパラフィン切片について抗PCNAモノクローナル抗体(DA-KOPATTS A/S・Denmark)を用いた免疫組織化学的染色により胆管100本中のPCNA陽性胆管数および胆管細胞核100個中のPCNA陽性細胞数およびHowellのワンステップ硝酸銀染色法<sup>13)</sup>により胆管細胞核一個当たりのAgNORs数(胆管細胞核100個中)を計測した。また、肝細胞1000個中のPCNA陽性細胞数も測定した。

### 5. 統計学的解析

群間における各病変の出現頻度の差についてはFisherの直線確率検定を、また、PCNA陽性数およびAgNOR数についてはBartlettの方法による等分散の検定を行い、分散が等しい場合には一元配置分散分析を行った。群間に有意な差が認められた場合、各群の動物数が等しい時はDunnett法、また動物数が不定の時はScheffe法により平均値の比較を行った。分散が等しくない場合にはKruskal-Wallisの検定を行い、有意差が認められた場合はノンパラメトリックのDunnett法またはScheffe法による検定を行った。

## 結 果

### 1. 組織学的検査

定期解剖、最終解剖および途中死亡動物の肝組織学的検査結果をTable 1に示した。雌雄とも対照群を含む全群に胆管の増生と肝細胞の脂肪化がみられ、肝細胞の脂肪化は雄で140ppm以上の群で、また、雌では550ppm以上の群で対照群に比べ有意に増加した。さらに、2200ppm群でcholangiofibrosisが雄で21例(53%)、雌で36例(90%)認められた。同群では、胆管癌が雄に1例(3%)、雌に3例(8%)、肝細胞腺腫が雄に1例(3%)、雌に2例(5%)認められた。

2200ppm群の雌雄で認められた病変の経時的変化をTable 2に示した。Cholangiofibrosis、胆管増生および肝細胞の脂肪化は6~24カ月目まですべての時期で認められた。一方、胆管癌および肝細胞腺腫は18~24カ月の間に認められた。さらに、2200ppmで認められたcholangiofibrosisの発生頻度を経時的に比較すると雄では6および12カ月目で6および5例(各々100%)、18カ月目では5例中3

Table 1. Incidence of liver lesions from rats treated with BDCM

| Dose level of BDCM (ppm) |                         | 2200               | 550       | 140       | 0       |
|--------------------------|-------------------------|--------------------|-----------|-----------|---------|
| No. of animals examined  |                         | 40                 | 40        | 40        | 70      |
| Male                     | cholangiocarcinoma      | 1 (3) <sup>a</sup> | 0 (0)     | 0 (0)     | 0 (0)   |
|                          | cholangiofibrosis       | 21 (53)**          | 0 (0)     | 0 (0)     | 0 (0)   |
|                          | bile duct proliferation | 38 (95)            | 25 (63)   | 27 (68)   | 52 (74) |
|                          | hepatocellular adenoma  | 1 (3)              | 0 (0)     | 0 (0)     | 0 (0)   |
|                          | fatty degeneration      | 39 (98)**          | 33 (83)** | 22 (55)** | 8 (11)  |
| No. of animals examined  |                         | 40                 | 40        | 40        | 70      |
| Female                   | cholangiocarcinoma      | 3 (8)              | 0 (0)     | 0 (0)     | 0 (0)   |
|                          | cholangiofibrosis       | 36 (90)**          | 0 (0)     | 0 (0)     | 0 (0)   |
|                          | bile duct proliferation | 38 (95)            | 24 (60)   | 19 (48)   | 38 (54) |
|                          | hepatocellular adenoma  | 2 (5)              | 0 (0)     | 0 (0)     | 1 (2)   |
|                          | fatty degeneration      | 36 (90)**          | 37 (93)** | 11 (28)   | 9 (13)  |

<sup>a</sup> : Number of rats with lesions and its percentage in parentheses.

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

Table 2. Incidence of liver lesions from rats treated with 2200 ppm BDCM

| Treatment period (months) |                         | 6 | 12 | 18 | 24  | D <sup>a</sup> |
|---------------------------|-------------------------|---|----|----|-----|----------------|
| No. of animals examined   |                         | 6 | 5  | 5  | 19  | 5              |
| Male                      | cholangiocarcinoma      | 0 | 0  | 0  | 0   | 1              |
|                           | cholangiofibrosis       | 6 | 5  | 3  | 3** | 4              |
|                           | bile duct proliferation | 5 | 5  | 5  | 19  | 4              |
|                           | hepatocellular adenoma  | 0 | 0  | 0  | 0   | 1              |
|                           | fatty degeneration      | 6 | 5  | 5  | 19  | 4              |
| No. of animals examined   |                         | 6 | 5  | 5  | 18  | 6              |
| Female                    | cholangiocarcinoma      | 0 | 0  | 0  | 2   | 1              |
|                           | cholangiofibrosis       | 6 | 5  | 4  | 17  | 4              |
|                           | bile duct proliferation | 6 | 5  | 5  | 18  | 4              |
|                           | hepatocellular adenoma  | 0 | 0  | 0  | 0   | 2              |
|                           | fatty degeneration      | 6 | 4  | 5  | 18  | 3              |

<sup>a</sup> : Dead or moribund animals.

\*\* : Significantly different from the value in 6 months at  $p < 0.01$ .

例 (60%), 24 カ月目では 19 例中 3 例 (16%) と 6 および 12 カ月目に比べ 24 カ月目で有意に減少した。雌では 6 および 12 カ月目で 6 および 5 例 (各々 100%), 18 カ月目では 5 例中 4 例 (80%), 24 カ月目では 18 例中 17 例 (94%) と各時期とも高い値を示した。

組織学的に雌雄の 2200 ppm 群の 6 カ月目に認められた cholangiofibrosis では、上皮がヘマトキシリンに好染し、円柱状を呈する異型胆管が多数認められ、管腔は不整形かつ拡張しており、管腔内には細胞の崩壊物および粘液様物が貯留していた。これ

らの胆管を取り囲むように多量の結合組織増生が認められた (Fig. 1)。また、PAS 反応標本では cholangiofibrosis に特徴的と云われている PAS 陽性物質<sup>14)</sup> が異型胆管上皮細胞内および管腔内に多数認められた。24 カ月目では、雄で著しく PAS 陽性を示す異型胆管は消失し、H-E 染色でエオジンに均一無構造に染まり、また、Azan 染色に青く染まる結合組織が広範囲に認められた。雌では、雄同様エオジンに均一無構造に染まり (Fig. 2)、また、Azan 染色に青く染まる結合組織が広範囲に認められたが、一部に PAS 陽性を示す異型胆管が認められた。



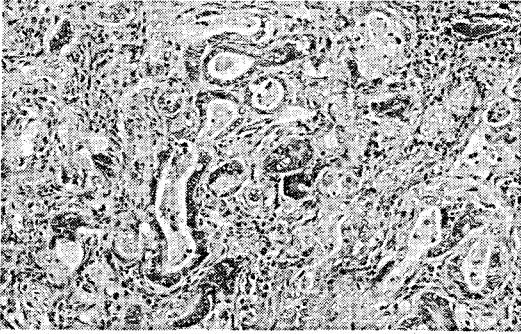


Fig. 1. Photomicrograph of cholangiofibrosis in the liver from a female rat treated with 2200 ppm BDCM for 6 months. Numerous atypical bile ducts lined by hyperchromatic epithelia surrounded by abundant connective tissues. H-E stain,  $\times 180$ .

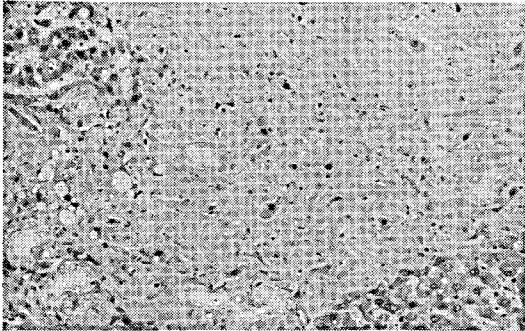
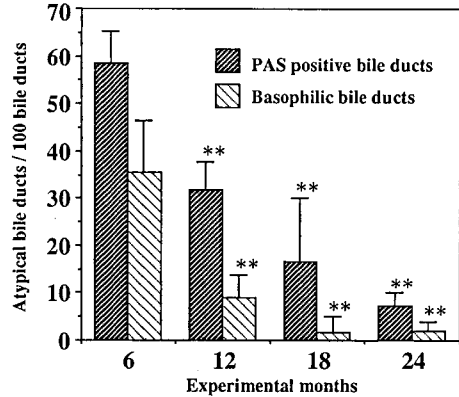


Fig. 2. Photomicrograph of fibrosis in the liver from a female rat treated with 2200 ppm BDCM for 24 months. Liver parenchyma are replaced by abundant connective tissues. H-E stain,  $\times 180$ .

2200 ppm 群の雌で観察された cholangiofibrosis について PAS 陽性および好塩基性を示す異型胆管を指標に 100 胆管当りの異型胆管数を経時的に計測した。その結果 (Fig. 3), 6 カ月目では, PAS 陽性および好塩基性胆管数は各々 58.6 および 35.4 個であったが, 12 カ月目以降有意に減少し, 24 カ月目では各々 7.2 および 1.9 個であった。

## 2. 細胞増殖活性

2200 ppm 群の雌で観察された異型胆管上皮の細胞増殖活性の推移を Table 3 に示した。6 ヶ月目において異型胆管上皮の過形成の程度が顕著であり, PCNA 免疫染色で陽性を示す胆管上皮が多数認められ (Fig. 4), 胆管 100 本中の PCNA 陽性胆管数および胆管上皮細胞 100 個中の PCNA 陽性細胞数



\*\* : Significantly different from the value in 6 months at  $p < 0.01$

Fig. 3. Number of atypical bile ducts in cholangiofibrosis from female rats treated with 2200 ppm BDCM.

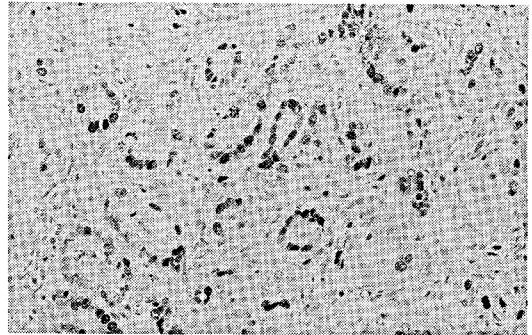


Fig. 4. Immunohistochemistry of atypical bile ducts in cholangiofibrosis from female rat treated with 2200 ppm BDCM for 6 months. The number of PCNA positive cells are markedly increased. PCNA immunohistochemistry,  $\times 300$ .

は各々 94.8 および 68.5 個と著しい高値を示した。しかし, 異型胆管数は 12 カ月目以降減少し, 線維化が高度となり, 過形成性胆管の PCNA 陽性胆管数および PCNA 陽性細胞数とも 12 カ月目以降有意に減少した。24 ヶ月目では 33.4 および 31.5 個と 6 カ月目の値の約 3 分の 1 から半分の値を示した。また, 異型胆管上皮細胞核内の NORs は, AgNOR 染色で, 不整形を示す黒色点として認められ (Fig. 5), AgNORs 数も 6 ヶ月目では 2.19 個と最も多かったが, 12 カ月目以降有意に減少し, 24 ヶ月目では 1.57 個であった。

2200 ppm 群の雌について肝細胞の細胞増殖活性の推移を対照群と比べ Table 4 に示した。肝細胞

Table 3. Cell proliferative activities in bile ducts from female rats treated with 2200 ppm BDCM

|  | Treatment period ( months ) |            |             |             |
|--|-----------------------------|------------|-------------|-------------|
|  | 6                           | 12         | 18          | 24          |
| No. of animals examined  | 4                           | 3          | 3           | 5           |
| No. of PCNA-positive bile ducts per 100 bile ducts                 | 94.8±1.3 <sup>a</sup>       | 53.0±8.7** | 47.3±20.7** | 33.4±8.3**  |
| PCNA labeling index in epithelial cells of bile ducts <sup>b</sup> | 68.5±5.2                    | 43.7±8.7** | 36.8±14.7** | 31.5±5.6**  |
| No. of AgNORs in bile duct <sup>c</sup>                            | 2.19±0.26                   | 1.60±0.17* | 1.67±0.22*  | 1.57±0.22** |

a : mean ± SD.

b : Number of PCNA-positive nuclei per 100 cells.

c : Number of AgNORs per nucleus among 100 cells.

\*, \*\*: Significantly different from the value in 6 months at  $p < 0.05$  or  $p < 0.01$ , respectively.

Table 4. PCNA labeling index in hepatocytes from female rats treated with 2200 ppm BDCM

|               | Treatment period ( months ) |         |         |         |
|---------------|-----------------------------|---------|---------|---------|
|               | 6                           | 12      | 18      | 24      |
| Control group | 4.5±1.6 <sup>a, b</sup>     | 5.0±1.3 | 5.2±0.8 | 6.5±6.1 |
| BDCM group    | 26.3±5.5**                  | 6.2±1.8 | 7.1±2.0 | 7.1±3.2 |

a : mean ± SD.

b : Number of PCNA-positive nuclei per 1000 cells.

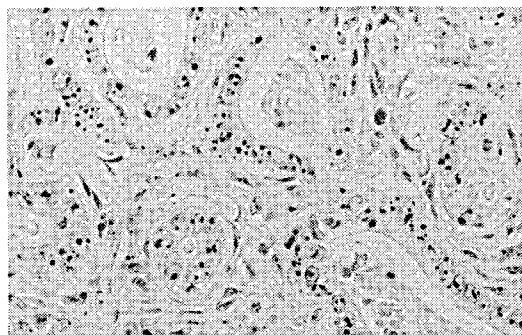
\*\* : Significantly different from each corresponding control value at  $p < 0.01$ .

Fig. 5. AgNOR staining of atypical bile ducts in cholangiofibrosis from female rat treated with 2200 ppm BDCM for 6 months. Most nuclei of the atypical bile duct epithelia contain multiple dots of various sizes. Silver colloid, ×750.

1000 個中の PCNA 陽性細胞数は、6 カ月目で 26.3 個と対照群の 4.5 個に比べ有意に増加した。しかし、12 カ月目以降は著しく減少し、PCNA 陽性細胞数は 6~7 個となり、対照群と同様の数値を示した。

## 考 察

今回の実験で、雌雄とも肝細胞の脂肪化が対照群を含む全群に認められたが、雄では 140 ppm 以上の群で、また、雌では 550 ppm 以上の群で有意に増加した。小山等<sup>15)</sup>はトリハロメタンの肝における脂質代謝系に与える影響について検討した結果、ラットに BDCM を投与することにより、肝小胞体におけるリン脂質の代謝回転に大きな変動が生じ、トリグリセライド (TG) の合成を抑制するにもかかわらず、肝細胞から血漿へのリポ蛋白質の分泌を抑制する結果 TG の著しい蓄積をもたらすことを報告している。今回の実験においてみられた肝細胞の脂肪化も同様のメカニズムによって生じたものと考えられる。

今回の雌雄の対照群を含む全群に胆管の限局的な増生が認められた。これは Wistar ラットにおいて加齢に伴い観察される自然発生病変<sup>16,17)</sup>と同様なものであった。さらに、2200 ppm 群で cholangiofibrosis が雄で 53%、雌で 90% に認められた。また、

胆管癌が同群の雄で3%, 雌で8%に, 肝細胞腺腫が雄で3%, 雌で5%に認められた。Cholangiofibrosisは3'-methyl-4-(dimethylamino)azobenzene<sup>18,19)</sup>, polychlorinated biphenyls<sup>20,21)</sup>, N-nitrosomorpholine<sup>8)</sup>やFuran<sup>9)</sup>等によってラットに誘発されることが報告されている。Cholangiofibrosisの発生機序としては, これらの化学物質により肝細胞の壊死に続く胆管上皮細胞や間葉系細胞の反応性増殖が誘発され, その結果としてこの病変が発現するものと考えられている<sup>8)</sup>。さらに, この病変は投与期間や用量に依存するが, 胆管腫や胆管癌に移行するとの報告がN-nitrosomorpholineおよびFuranでなされている<sup>8,9)</sup>。Tumasonis等<sup>6)</sup>はBDCMを飲料水に0.24 w/v%の濃度で添加し, 雌雄のラットに終生自由に摂取させた結果, 雄では47匹中1匹に, 雌では53匹中12匹にadenofibrosis (cholangiofibrosis)が認められたと報告しており, この中でadenofibrosisを腫瘍性病変と同等に考察している。しかし, 今回の実験では, 2200 ppm群で認められたcholangiofibrosisの発生頻度を経時的に追跡すると雄では6および12カ月目で各々100%, 18カ月目では60%, 24カ月目では16%と6および12カ月目に比べ24カ月目で有意に減少した。雌では, 6~24カ月目まで同様の頻度で観察されたが, 組織学的には, 雄同様6カ月目で認められた好塩基性およびPAS陽性物質を含む異型胆管は, 12カ月目以降著しく減少し, 24カ月目ではAzan染色に青く染まる結合組織が広範囲に認められた。また, 異型胆管上皮の細胞増殖活性においても, 6カ月目で計測された陽性胆管数および陽性胆管細胞数は12カ月目以降有意に減少し, 24ヶ月目では6カ月目の値の約3分の1から半分の値を示した。同様にAgNORs数も6ヶ月目で最も多く, 12ヶ月目以降有意に減少した。このように今回の一連の形態学および細胞増殖活性の成績からcholangiofibrosisが腫瘍性の性格を有する成績は得られなかった。以上の成績より, 今回の細胞増殖活性の指標からみたcholangiofibrosisにおける異型胆管上皮の増殖活性は, 投与期間の延長に伴いむしろ減少したことから, 6, 12, 18, 24カ月の各時点でみられたcholangiofibrosisから胆管癌に進展する可能性は低く, cholangiofibrosisを誘発する化学物質が必ずしも胆管腫瘍原性を示すとは限らないことが示唆された。

Tumasonis等<sup>6)</sup>は3年半にも及ぶ終生実験から雌で肝臓の腺腫が増加し, 32%に認められたと報告

している。一方, 今回の成績では2200 ppm群の雌で腺腫が5%に認められたのみであり, 対照群との間に有意差は認められなかった。また, PCNAを指標とした成績では, 肝細胞1000個当たりのPCNA陽性細胞数は, 6カ月目で26.3個と対照群の4.5個に比べ有意に増加したが, 12カ月目以降は著しく減少し, 対照群と同様の数値を示した。以上のことから, Tumasonis等<sup>6)</sup>のラットを用いての実験では, BDCMの肝細胞腺腫誘発に3年半もの長期投与が必要と考えられ, 通常の発がん試験期間である24カ月間曝露において, ラット肝細胞に対しては肝細胞腫瘍に進展する可能性は低いと推察された。

## 文 献

- 1) 梶野勝司: 塩素処理におけるトリハロメタンの形成。水道協会雑誌 514, 17~36 (1977)
- 2) 石川哲也: 自然界に存在するトリハロメタン生成原因物質。衛生化学 28, 10~15 (1982)
- 3) 梶野勝司: 水道の浄水処理課程におけるトリハロメタンの生成。衛生化学 28, 16~20 (1982)
- 4) 丹保憲仁, 堤行彦: トリハロメタン生成能に関する研究 (I), 有機成分の紫外部吸収とトリハロメタン生成能。水道協会雑誌 574, 21~32 (1982)
- 5) 梶野勝司: 塩素処理課程におけるトリハロメタン中間体の生成とトリハロメタン生成に及ぼす影響。水道協会雑誌 574, 33~39 (1982)
- 6) Tumasonis C. F., et al: Lifetime toxicity of chloroform and bromodichloromethane when administered over a lifetime in rats. *Ecotoxic. Environ. Safety* 9, 233~240 (1985)
- 7) Aida Y., et al: Chronic toxicity of microencapsulated bromodichloromethane administered in the diet to Wistar rats. *J. Toxicol. Sci.* 17, 51~68 (1992)
- 8) Bannasch P. and Massner B.: Histogenesis and cytogenesis of cholangiofibromas and cholangiocarcinomas in nitrosomorpholine-intoxicated rats. *Z. Krebsforsch.* 87, 239~255 (1976)
- 9) Maronpot R. R., et al: Furan-induced hepatic cholangiocarcinomas in Fischer 344 rats. *Toxicol. Pathol.* 19, 561~570 (1991)
- 10) 会田喜崇等: マイクロカプセルを用いた揮発性物質の経口投与法。トキシコロジーフォーラム 9, 508~516 (1986)
- 11) Aida Y., et al: Practical application of microencapsulation for toxicity studies using bromodichloromethane as a model compound. *J.*

- Am. coll. Toxicol.* 8, 1177~1187 (1989)
- 12) Aida Y, et al: Toxicities of microencapsulated tribromomethane, dibromochloro methane and bromodichloromethane administered in the diet to Wistar rats for one month. *J. Toxicol. Sci.* 17, 119~133 (1992)
  - 13) Howell W. M., et al: Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer. *Experientia* 36, 1014~1015 (1980)
  - 14) Schauer A. and Kunze E.: Tumor of the liver. In: Turusov V. S., et al: Pathology of tumors in laboratory animals, Tumors of the rat. International Agency for Reserch on Cancer, Lyon (1976)
  - 15) Koyama Y. and Nakazawa Y.: Acute effect of bromodichloromethane on lipid metabolism in rat liver microsomes. *Toxicol. Lett.* 29, 123~130 (1985)
  - 16) Nishibe T.: Pathological studies of age-related changes in rats. *J. Nara Med. Ass.* 27, 1~26 (1976)
  - 17) Maekawa A., et al: Neoplastic and non-neoplastic lesions in aging Slc : Wistar rats. *J. Toxicol. Sci.* 8, 279~290 (1983)
  - 18) Terao K. and Nakano M.: Cholangiofibrosis induced by short-term feeding of 3'-methyl-4-(dimethylamino)azobenzene: an electron microscopic observation. *GANN* 65, 249~260 (1974)
  - 19) Reddy K. P., et al: Cholangiocarcinomas induced by feeding 3'-methyl-4-dimethylaminooazobenzene to rats, Histopathology and ultrastructure. *Am J Pathol* 87, 189~204 (1977)
  - 20) Kimbrough R. D., et al: Adenofibrosis in the rat liver, with persistence of polychlorinated biphenyls in adipose tissue. *Arch Environ Health* 27, 390~395 (1973)
  - 21) Kimbrough R. D. and Linder R. E.: Induction of adenofibrosis and hepatomas of the liver in BALB/cJ mice by polychlorinated biphenyls (aroclor 1254). *J. Nat. Cancer Inst.* 53, 547~552 (1974)

## 乳酸鉄 26 週間混餌投与ラットにおける毒性

竹川 潔・安原加壽雄・三森国敏  
小野寺博志・下 武男・高橋道人

## Toxicity in Rats Fed Diet Containing Iron Lactate for 26 Weeks

Kiyoshi Takegawa, Kazuo Yasuhara, Kunitoshi Mitsumori,  
Hiroshi Onodera, Takeo Shimo and Michihito Takahashi

In order to characterize the toxicity of iron lactate, a 26-week feeding study was performed in male and female F344 rats. Animals were divided into 2 groups, and given diet containing iron lactate at concentration of 0 or 2%. No animals died during the administration period. Body weight gain was suppressed in both sexes of the 2% group compared with the 0% group. Hematologically, anemia was observed in male of the 2% group. Serum alkaline phosphatase decreased in both sexes of the 2% group. The spleen weight of both sexes and kidney weight of females were higher in the 2% group than in the 0% group. Lipid peroxide increased not only in the liver and the kidney homogenates of treated males and females, but also in the serum of treated females. Histopathologically, iron deposition was observed in the liver, the kidney and the spleen of treated males and females, and in the intestine of treated females.

The present results indicate that the iron lactate administration caused iron deposition in the liver and the other several organs, resulting in lipid peroxidation in these organs.

**Keywords :** iron lactate, rat, 26-week feeding study, lipid peroxidation

(Received May 31, 1995)

## はじめに

乳酸鉄は 1838 年に初めて臨床的に鉄剤として用いられて以来、現在では栄養強化用鉄剤として使用されている。調製粉乳用の鉄剤としては乳酸鉄が 6 mg/100 g 程度添加されているが、小麦粉、ビスケット、パンなどには 2~3 mg/100 g 程度が添加されている<sup>1)</sup>。

乳酸鉄の毒性についての報告はないが、同じく鉄の摂取を目的とした栄養強化剤として乳児用粉乳に添加されている硫酸第一鉄および塩化第二鉄についてはいくつかの毒性についての報告がある。硫酸第一鉄のマウスおよびラットにおける経口投与時の LD<sub>50</sub> はそれぞれ 680 mg/kg および 319 mg/kg であると報告されており、0.75~1 g/kg の硫酸第一鉄をウサギに経口投与すると中毒症状を呈し、肝臓に著しい出血性壊死が認められる。またヒトにおいても激しい腸管刺激、虚脱、チアノーゼを呈して中毒死した例が報告されている<sup>2)</sup>。塩化第二鉄につい

ては、LD<sub>50</sub> がラットでは経口投与で 1872 mg/kg、マウスでは経口投与で 895 mg/kg、静脈内投与で 58 mg/kg であり、さらに変異原性試験の結果は陰性であったことが報告されている<sup>2)</sup>。この他に、ラットに 12 カ月間にわたりカルボニル鉄を過剰投与した結果、肝臓に慢性障害が誘発されたとの報告もある<sup>3)</sup>。

一方、発癌性については、ヒトにおいて体内に貯蔵される鉄の増加によって発癌リスクが増加することが報告されている<sup>4~8)</sup>。またマウスにおいて、鉄-デキストラン錯体を投与することによって hexachlorobenzene による腫瘍発生が<sup>9)</sup>、フマル酸鉄を投与することによって dimethylhydrazine による腫瘍発生が増強されたとの報告がある<sup>10)</sup>。これらのことから乳酸鉄についても肝臓毒性および発癌性が疑われる。そこで今回乳酸鉄のラットにおける発癌性試験の予備的検討として高用量の乳酸鉄をラットに 26 週間投与し、その毒性について検索を行った。

## 実験材料および方法

### 1. 被験物質

乳酸鉄は帯緑色～黄褐色の粉末または塊でわずかに特異な臭いを有し、鉄を 15.5～20.0%含有する。水に溶けると帯緑色または黄褐色～褐色の液となり酸性を呈する。今回の実験には(株)武蔵野化学研究所磯原工場より入手した乳酸鉄（鉄の含量：17.6%）を用いた。

### 2. 動物および方法

5 週齢の F344/DuCrj ラット (SPF) 雌雄各 10 匹を日本チャールス・リバー(株)より購入し、1 週間の馴化飼育後実験に供した。

動物は温度  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度  $55 \pm 5\%$ 、換気回数 18 回/時（オールフレッシュ）、12 時間明暗サイクルに制御されたバリアーシステムの飼育室で飼育した。プラスチックケージに 1 ケージあたり 5 匹ずつ収容し、床敷として三協ラボサービス(株)のソフトチップを使用して、週 2 回の頻度でケージを交換した。基礎飼料として粉末飼料 CRF-1（日本チャールス・リバー）を使用した。飲料水としては水道水を用い自由に摂取させた。

雌雄それぞれ 1 群あたり 5 匹からなる 2 群に分けた。一方の群を被験物質投与群として乳酸鉄を 2% 添加した粉末飼料を 26 週間投与し、他方の群を対照群として基礎飼料を同じ期間自由に摂取させた。被験物質添加飼料はオリエンタル酵母工業(株)で 1 回目は 1 カ月に 1 回、その後は 3 カ月に 1 回の頻度で調製し、入手後は  $4^\circ\text{C}$  に維持した飼料保管室に保存した。乳酸鉄を 1 および 2% の濃度で飼料中に添加した場合、 $4^\circ\text{C}$  で 3 カ月間、室温で 3 週間安定であることが確認されている。投与群の用量は癌原性試験の最高用量と同じ 2% とした。

試験期間中全動物について体重を週 1 回測定した。投与開始 26 週後に全動物を屠殺し、剖検した。解剖の前日より一晩絶食させた後、エーテル麻酔下で開腹して腹部大動脈より採血した。採取した血液について多項目自動血球計数装置（東亜医用電子社、兵庫、M-2000 型）で白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (HGB)、ヘマトクリット (PCV)、血小板数 (PLT) を測定し、平均血球容積 (MCV) を算出した。また、血液細胞自動分析装置（立石電気、東京、MICROX HEG-120 A 型）で白血球の型別分類を行った。血清を分離した後、TP, ALB, A/G, BUN, CRN, T.cho, GOT,

GPT, ALP,  $\gamma$ -GTP, ChE, Na, Cl, K, Ca, Pi の各項目について血清生化学的検査を実施した。採血の終了した動物を放血殺処分して剖検した後、脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、顎下腺および副腎の重量を測定した。各臓器について体重 100 g あたりの相対重量を算出した。肝臓および腎臓については、摂南大学薬学部において組織の一部をホモジネートして、チオバルビツール酸反応物質を測定することにより過酸化脂質を定量した。血清についても同じく過酸化脂質を測定した。重量を測定した臓器および主要臓器を 10% 中性緩衝ホルマリンで固定し、通常の方法で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 (H.E.) 染色を施して病理組織学的に検査した。さらに全動物の肝臓、腎臓および脾臓についてベルリン青染色を施して鉄の沈着を確認した。

### 3. 統計学的処理方法

血液学的検査値、血清生化学的検査値、臓器重量および過酸化脂質の値について、対照群と被験物質投与群との差を Student の t 検定で解析した。

## 結 果

### 1. 死亡動物

実験期間中を通じて雌雄各群に死亡動物は認められなかった。

### 2. 体 重

実験期間中の各群の体重の推移を Fig. 1 に示した。実験期間の後半、雌雄の被験物質投与群において体重増加の抑制傾向が認められた。

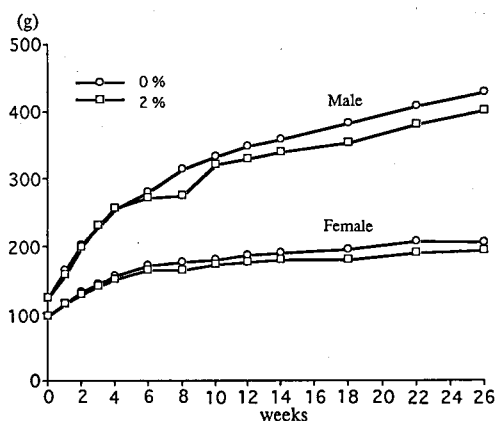


Fig. 1. Body weight curves in rats fed diet containing iron lactate for 26 weeks

Table 1. Hematological changes in rats fed diet containing iron lactate for 26 weeks

| Sex                              | Male                           |                     | Female           |                   |
|----------------------------------|--------------------------------|---------------------|------------------|-------------------|
|                                  | 0%                             | 2%                  | 0%               | 2%                |
| Group                            |                                |                     |                  |                   |
| No. of rats                      | 5                              | 5                   | 5                | 5                 |
| RBC( $\times 10^4/\mu\text{l}$ ) | 941.4 $\pm$ 47.5 <sup>a)</sup> | 867.4 $\pm$ 16.3 *  | 813.4 $\pm$ 35.4 | 814.0 $\pm$ 26.4  |
| HGB(g/dl)                        | 14.74 $\pm$ 0.57               | 15.00 $\pm$ 0.44    | 14.22 $\pm$ 0.67 | 14.66 $\pm$ 0.55  |
| PCV(%)                           | 45.14 $\pm$ 2.24               | 43.88 $\pm$ 0.65    | 42.2 $\pm$ 1.86  | 42.50 $\pm$ 1.36  |
| MCV(fl)                          | 47.94 $\pm$ 0.49               | 50.58 $\pm$ 0.37 ** | 51.90 $\pm$ 0.50 | 52.22 $\pm$ 0.93  |
| PLT( $\times 10^4/\mu\text{l}$ ) | 77.36 $\pm$ 4.29               | 74.68 $\pm$ 2.38    | 69.30 $\pm$ 4.31 | 66.84 $\pm$ 14.33 |
| WBC( $\times 10^2/\mu\text{l}$ ) | 27.6 $\pm$ 6.0                 | 25.4 $\pm$ 2.4      | 17.8 $\pm$ 2.9   | 17.0 $\pm$ 2.3    |
| Differential count of WBC        |                                |                     |                  |                   |
| Band(%)                          | 0 $\pm$ 0                      | 0.10 $\pm$ 0.22     | 0 $\pm$ 0        | 0.10 $\pm$ 0.22   |
| Seg(%)                           | 30.10 $\pm$ 4.60               | 28.36 $\pm$ 2.18    | 30.54 $\pm$ 7.09 | 23.62 $\pm$ 6.05  |
| Eosin(%)                         | 2.22 $\pm$ 0.98                | 2.42 $\pm$ 0.24     | 1.04 $\pm$ 0.55  | 2.08 $\pm$ 1.39   |
| Baso(%)                          | 0 $\pm$ 0                      | 0 $\pm$ 0           | 0 $\pm$ 0        | 0 $\pm$ 0         |
| Lymph(%)                         | 67.58 $\pm$ 4.11               | 68.92 $\pm$ 2.17    | 68.42 $\pm$ 6.77 | 74.20 $\pm$ 6.95  |
| Mono(%)                          | 0.10 $\pm$ 0.22                | 0.20 $\pm$ 0.45     | 0 $\pm$ 0        | 0 $\pm$ 0         |
| Ebl(%)                           | 2.4 $\pm$ 2.1                  | 3.0 $\pm$ 1.4       | 4.4 $\pm$ 1.8    | 4.0 $\pm$ 3.2     |

a) Mean  $\pm$  S.D.\*, \*\*: Significantly different from the control at \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , respectively

### 3. 血液学的検査および血清生化学的検査結果

血液学的検査の結果を Table 1 に示した。雄の投与群に貧血傾向が認められた。すなわち、対照群に比べて RBC が有意な低値を示すとともに MCV が有意な高値を示した。雌においては対照群と投与群との間に差は認められなかった。

血清生化学的検査の結果を Table 2 に示した。雄の投与群で対照群に比べて ALP が有意な低値を示した。他の項目においては雌雄ともに対照群と投与群との間に差はみられなかった。

### 4. 臓器重量

臓器重量の値を Table 3 に示した。最終体重は雄の投与群で対照群に比べて有意に低値を示した。雌の最終体重も有意ではなかったが投与群で低かった。

臓器重量では、雌雄の投与群において脾臓の相対重量が有意な高値を示し、絶対重量も有意ではないもののやや高値を示す傾向があった。また、雌の投与群で腎臓の相対重量が有意な高値を示すとともに、絶対重量も有意ではないが高値を示した。

その他、雄において最終体重の低値に伴って顎下腺の絶対重量が有意な低値を、脳の相対重量が有意な高値を示した。

### 5. 過酸化脂質の測定結果

肝臓、腎臓および血清における過酸化脂質の測定結果を Table 4 に示した。雌雄の投与群の肝臓および腎臓におけるチオバルビツール酸反応は対照群に比べて投与群で有意に高く、過酸化脂質の高いことを示した。血清中のチオバルビツール酸反応は雌の投与群で対照群に比べて高かった。雄では対照群と投与群の間に差は認められなかった。

### 6. 病理組織学的所見

H.E. 染色標本において雌雄の投与群の肝臓、腎臓および脾臓、ならびに雌の投与群の腸に褐色色素の沈着が認められた。肝臓についてはクッパー細胞にベルリン青陽性の褐色色素の沈着がみられた他、肝細胞についてもベルリン青陽性の細胞が雄の投与群では小葉中心性に認められた。雌においては対照群ではこのベルリン青陽性の肝細胞は小葉中心性にみられたにすぎなかったのに対して投与群では小葉

Table 2. Serum chemistry in rats fed diet containing iron lactate for 26 weeks

| Sex  | Male                    |             | Female     |            |
|--|-------------------------|-------------|------------|------------|
|  | 0%                      | 2%          | 0%         | 2%         |
| Group  |                         |             |            |            |
| No. of rats  | 5                       | 5           | 5          | 5          |
| Total protein(TP)(g/dl)                              | 6.62±0.15 <sup>a)</sup> | 6.72±0.18   | 6.72±0.42  | 6.48±0.31  |
| Albumin(ALB)(g/dl)                                   | 4.76±0.17               | 4.76±0.11   | 4.98±0.33  | 4.78±0.22  |
| Albumin-globulin ratio(A/G)                          | 2.60±0.21               | 2.44±0.09   | 2.88±0.28  | 2.84±0.17  |
| Blood urea nitrogen(BUN)(mg/dl)                      | 16.46±1.11              | 17.54±0.82  | 15.62±1.04 | 15.42±1.77 |
| Creatinine(CRN)(mg/dl)                               | 0.56±0.05               | 0.52±0.04   | 0.42±0.04  | 0.46±0.05  |
| Total cholesterol(T.cho)(mg/dl)                      | 70.8±2.3                | 74.2±2.4    | 96.6±16.4  | 84.0±11.1  |
| Asparate aminotransferase(GOP)(IU/l)                 | 120.2±9.4               | 109.4±7.6   | 105.6±25.0 | 109.4±7.0  |
| Alanine aminotransferase(GPT)(IU/l)                  | 55.0±8.6                | 50.6±6.2    | 37.0±7.1   | 38.8±5.3   |
| Alkaline phosphatase(ALP)(IU/l)                      | 227.8±25.8              | 190.8±8.5 * | 143.0±14.1 | 130.6±15.4 |
| $\gamma$ -Glutamyl transferase( $\gamma$ -GTP)(IU/l) | 0.8±0.8                 | 1.4±1.5     | 1.2±0.8    | 1.8±0.8    |
| Cholinesterase(ChE)(IU/l)                            | 7.8±4.0                 | 5.8±2.3     | 7.8±4.0    | 9.2±5.0    |
| Sodium (Na) (mEQ/l)                                  | 147.2±1.3               | 146.2±0.8   | 146.4±0.5  | 146±0.7    |
| Chloride (Cl) (mEQ/l)                                | 105.0±1.9               | 106±0.7     | 109±1.6    | 109.2±0.5  |
| Potassium (K) (mEQ/l)                                | 4.52±0.35               | 4.26±0.18   | 4.08±0.25  | 4.28±0.11  |
| Calcium (Ca) (mg/dl)                                 | 10.82±0.26              | 10.7±0.10   | 10.56±0.65 | 10.2±0.22  |
| Phosphorus inorganic (Pi) (mg/dl)                    | 6.74±0.59               | 6.12±0.08   | 4.42±0.61  | 4.08±0.52  |

a) Mean  $\pm$  S.D.\*: Significantly different from the control at  $p < 0.05$ 

全体にほぼ一様に認められた。腎臓においては雌雄の投与群において近位尿細管上皮にベルリン青陽性細胞がみられた。脾臓の赤脾髄においてはベルリン青陽性の褐色色素の沈着の程度が対照群に比べて投与群で増強した。腸管においては雌の投与群で粘膜固有層にベルリン青陽性の褐色色素の沈着を認めた。

### 考 察

鉄化合物をラットに投与した場合に肝臓をはじめとして各種の臓器に鉄の沈着を認めたとの報告がある<sup>2,3,11)</sup>。ラットにカルボニル鉄を2.5~3.0%添加した飼料を与え1年間にわたって鉄を過剰摂取させたところ、肝臓の肝細胞やクッパー細胞などに鉄の沈着が認められ、投与8カ月で肝細胞の壊死が発現し、投与12カ月では線維化に進展した他に、脾臓のマクロファージ、腎臓の近位尿細管上皮および腸上皮に鉄の沈着を認めたことが報告されている<sup>3)</sup>。また、塩化第二鉄をラットに0.12, 0.25, 0.5, 1.0

および2.0%の濃度で3カ月間飲水投与した実験においても、0.25%以上の群で肝臓および腸に鉄の沈着が認められている<sup>2,11)</sup>。今回の実験においても、カルボニル鉄および塩化第二鉄の場合と同様、雌雄の肝臓の肝細胞およびクッパー細胞、腎臓の近位尿細管上皮および脾臓の赤脾髄、ならびに雌の腸粘膜固有層に鉄の沈着が認められ、無機鉄化合物が生体内の網内系のみならず肝細胞や尿細管上皮等の実質細胞にも取り込まれることが明白となった。

今回の実験期間は6カ月間であったが、癌原性試験において同じ用量を2年間投与することによって、肝臓の変化がカルボニル鉄と同様に肝細胞の壊死や線維化に進展するか否かについては興味深い。ラットにカルボニル鉄を長期投与した場合に生じる肝細胞の壊死などの障害については、その成因として細胞内小器官における鉄イオンの脂質過酸化が推察されている<sup>3)</sup>。今回、肝臓、腎臓および血清における過酸化脂質を測定した結果、対照群に比べて投与群



Table 3. Organ weights of rats fed diet containing iron lactate for 26 weeks

| Sex                    | Male                       |                | Female       |                |
|------------------------|----------------------------|----------------|--------------|----------------|
|                        | 0%                         | 2%             | 0%           | 2%             |
| Group                  |                            |                |              |                |
| No. of rats            | 5                          | 5              | 5            | 5              |
| Body weight            | 419.34±15.79 <sup>a)</sup> | 392.44±15.88 * | 200.24±22.68 | 188.00±17.40   |
| Absolute               |                            |                |              |                |
| Brain(g)               | 2.032±0.052                | 2.069±0.054    | 1.830±0.044  | 1.803±0.036    |
| Heart(g)               | 1.139±0.130                | 1.077±0.044    | 0.681±0.126  | 0.647±0.107    |
| Lung(g)                | 1.167±0.075                | 1.129±0.112    | 0.749±0.084  | 0.739±0.068    |
| Liver(g)               | 10.406±0.202               | 10.178±0.614   | 4.513±0.754  | 4.445±0.542    |
| Kidney(g)              | 2.320±0.088                | 2.315±0.042    | 1.267±0.185  | 1.313±0.189    |
| Spleen(g)              | 0.709±0.023                | 0.726±0.022    | 0.432±0.053  | 0.458±0.040    |
| Testis(g)              | 3.219±0.086                | 3.184±0.105    | -            | -              |
| Submaxillary gland(g)  | 0.626±0.019                | 0.585±0.034 *  | 0.387±0.040  | 0.383±0.057    |
| Adrenal gland(g)       | 0.041±0.003                | 0.034±0.007    | 0.045±0.002  | 0.045±0.012    |
| Relative               |                            |                |              |                |
| Brain(g%)              | 0.485±0.022                | 0.528±0.020 *  | 0.923±0.100  | 0.966±0.092    |
| Heart(g%)              | 0.272±0.029                | 0.275±0.010    | 0.339±0.044  | 0.343±0.032    |
| Lung(g%)               | 0.279±0.021                | 0.288±0.031    | 0.381±0.012  | 0.393±0.021    |
| Liver(g%)              | 2.484±0.097                | 2.593±0.116    | 2.243±0.164  | 2.362±0.141    |
| Kidney(g%)             | 0.554±0.035                | 0.590±0.023    | 0.630±0.024  | 0.696±0.054 *  |
| Spleen(g%)             | 0.169±0.008                | 0.185±0.009 *  | 0.216±0.007  | 0.244±0.011 ** |
| Testis(g%)             | 0.772±0.015                | 0.766±0.098    | -            | -              |
| Submaxillary gland(g%) | 0.150±0.009                | 0.149±0.009    | 0.194±0.015  | 0.204±0.021    |
| Adrenal gland(g%)      | 0.010±0.001                | 0.009±0.002    | 0.022±0.002  | 0.024±0.005    |

a) Mean ± S.D.

\*,\*\* : Significantly different from the control at \*p&lt;0.05, \*\*p&lt;0.01, respectively

Table 4. Thiobarbituric acid responding substance (n mol/g) in the liver, kidneys and serum of rats fed diet containing iron lactate for 26 weeks

| Sex         | Male                     |               | Female      |                |
|-------------|--------------------------|---------------|-------------|----------------|
|             | 0%                       | 2%            | 0%          | 2%             |
| Group       |                          |               |             |                |
| No. of rats | 5                        | 5             | 5           | 5              |
| Liver       | 14.10±1.36 <sup>a)</sup> | 29.58±15.44 * | 21.90±5.03  | 55.37±19.80 *  |
| Kidneys     | 51.70±10.34              | 73.51±18.41 * | 39.05±10.12 | 79.76±21.53 ** |
| Serum       | 2.12±0.24                | 2.12±0.17     | 1.91±0.16   | 2.26±0.15 **   |

a) Mean ± S.D.

\*,\*\* : Significantly different from the control at \*p&lt;0.05, \*\*p&lt;0.01, respectively

で過酸化脂質値が高かったことから、肝臓や腎臓などの臓器では細胞内小器官において鉄の沈着にともなう脂質過酸化が起こっている可能性が示唆された。したがって脂質過酸化の持続的影響によってこれらの臓器に障害が起こる可能性が推察された。さらに、体内における鉄の沈着が増加することにより酸素ラジカルが生成され発癌を誘発するとの説や<sup>7)</sup>、細胞内への鉄の沈着によって酸素ラジカルが生成され染色体に損傷を与えたり、過酸化物の生成によってラジカルスカベンジャーが消耗することにより発癌に至るという説<sup>8)</sup>もあることから、今回の実験の投与群でもし過酸化脂質の増加が持続するならば肝腫瘍が誘発される可能性も否定できない。しかしながら、塩化第二鉄においては、ラットに3カ月間飲水投与した場合0.25%以上の濃度において肝臓をはじめ種々の臓器で鉄の沈着が認められているにもかかわらず、濃度0.25および0.5%の飲水投与による2年間の癌原性試験では鉄の沈着はいずれの臓器にも認められていない<sup>9)</sup>。以上のことから2年間の長期投与ではむしろ鉄の影響が減弱する可能性も考えられた。

今回の実験では、雄の投与群において貧血が認められた。同様の貧血傾向は本物質の3カ月間癌原性予備試験の雌雄の0.625%以上の投与群においても認められており、乳酸鉄投与に起因した変化と考えられた。しかし、本物質により誘発される貧血がいかなるメカニズムによって発現するかについては今後さらに検討が必要である。

## 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, D-847, 東京 (1992)
- 2) Sato, M., Furukawa, F., Toyoda, K., Mitsumori, K., Nishikawa, A. and Takahashi, M.: Lack of carcinogenicity of ferric chloride in F344 rats. *Fd. Chem. Toxic.* **30**, 837~842 (1992)
- 3) Park, C. H., Bacon, B. R., Brittenham, G. M. and Tavill, A. S.: Pathology of dietary carbonyl iron overload in rats. *Laboratory Investigation* **57**, 555~563 (1987)
- 4) Yip, R., M. D., M. P. H. and Williamson, D. F., Ph. D., M. S.: Body iron stores and the risk of cancer. *The New England Journal of Medicine*, **April**, **13**, 1012~1012 (1989)
- 5) Weinberg, E.D.: Iron, infection, and neoplasia. *Clin. Physiol. Biochem.* **4**, 50~60 (1986)
- 6) 吉野芳夫: 貯蔵鉄の増加は発癌につながるか。医学のあゆみ **148**, 794~794 (1989)
- 7) Stevens, R. G., Ph. D., Jones, D. Y., Ph. D., Micozzi, M. S., M. D., Ph. D. and Taylor, P. R., M. D.: Body iron stores and the risk of cancer. *The New England Journal of Medicine* **319**, 1047~1052 (1988)
- 8) Weinberg, E. D.: Iron, asbestos, and carcinogenicity. *The Lancet*, **June 17**, 1399~1400 (1989)
- 9) Smith, A. G., Cabral, J. R. P., Carthew, P., Francis, J. E. and Manson, M. M.: Carcinogenicity of iron in conjunction with a chlorinated environmental chemical, hexachlorobenzene, in C57BL/10ScSn mice. *Int. J. Cancer* **43**, 492~496 (1989)
- 10) Siegers, C. P., Bumann, D., Baretton, G. and Younes, M.: Dietary iron enhances the tumor rate in dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in mice. *Cancer letter* **41**, 251~256 (1988)
- 11) 佐藤秀隆, 豊田和弘, 古川文夫, 小久保武, 高橋道人, 林 裕造: F344ラットにおける塩化第二鉄の癌原性試験実施にあたっての予備試験(亜慢性毒性)の成果について。衛生試験所報告 **103**, 21~28 (1985)

小胞体  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 阻害剤, 2,5-ジ-tert-ブチルヒドロキノンの  
ラットにおける単回経口投与毒性試験  
—モノ-tert-ブチルヒドロキノンの比較—

北嶋 聡・江下希美・鹿庭正昭・松島裕子・斉藤 実  
門馬純子・津田充宥・川島邦夫・井上 達・黒川雄二

Comparative Studies on a Single Dose Toxicity of Microsomal  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase  
Inhibitor, 2,5-di(tert-butyl)-1,4-hydroquinone and its Related Analog,  
mono(tert-butyl)-1,4-hydroquinone, in Rats

Satoshi Kitajima, Nozomi Eshita, Masa-aki Kaniwa, Yuko Matsushima,  
Minoru Saitoh, Junko Momma, Mitsuhiro Tsuda,  
Kunio Kawashima, Tohru Inoue and Yuji Kurokawa

We performed comparative studies to determine an acute toxicity of microsomal  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase inhibitor, 2,5-di(tert-butyl)-1,4-hydroquinone (DTBHQ) and its related analog, mono(tert-butyl)-1,4-hydroquinone (MTBHQ), which are both used as antioxidant. Wistar rats, 5 weeks old, male and female, were used.

By a single dose of oral administration, DTBHQ-induced  $\text{LD}_{50}$  values (obtained by Lorke method) in male and female rats were estimated 295.1 and 234.4 mg/kg BW, respectively, whereas each  $\text{LD}_{50}$  value for MTBHQ was 711.6 and 400.0 mg/kg BW, respectively.

MTBHQ-induced deaths occurred from 8 to 20 minutes after administration, however, DTBHQ-induced deaths occurred more delayed from 1 to 5 days after administration.

The observed toxic signs of DTBHQ included diarrhea (jelly like), prone position, lacrimation, salivation and abnormal gait (such as reluctance to walk, limping). Localized purpura and loss of the tail (perhaps as a result of necrosis) were also observed. In comparison, MTBHQ elicited prone position, panting, staggering gait and spastic gait.

Without loss of the tail mentioned above, dead and sacrificed rats showed no remarkable changes in macroscopic examination due to exposure to both compounds.

**Keywords :** tert-butyl-hydroquinone, antioxidant,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase inhibitor, acute toxicity, rat

(Received May 31, 1995)

はじめに

2,5-ジ-tert-ブチルヒドロキノロン [2,5-di(tert-butyl)-1,4-hydroquinone; DTBHQ] は、種々の細胞における小胞体  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase の阻害剤として知られており<sup>1)</sup>、この作用の結果として、様々な細胞機能を修飾する細胞内遊離  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の上昇を惹起することも知られている<sup>2-4)</sup>。したがって、DTBHQ は実験動物に対し、分泌、収縮、遊走、凝集などの細胞機能の亢進による毒性を示すことが予想されるが、急性毒性に関する報告はない。

なお、DTBHQ は、加硫ゴム、粘着テープ、油類等に酸化防止剤としても使用されている。

そこで今回我々は、小胞体  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 阻害剤の実験動物に対する作用および安全性を検討するために、ラットを用いて DTBHQ の単回経口投与毒性試験を実施した。また、DTBHQ の類似体であり、ゴム、油類、食品中等に、同じく酸化防止剤として使用されている、モノ-tert-ブチルヒドロキノロン [mono(tert-butyl)-1,4-hydroquinone; MTBHQ] の急性毒性も併せて検討した。

## 実験材料および実験方法

### 1. 被験物質

DTBHQ および MTBHQ の化学構造を Fig. 1 に示した。DTBHQ (CAS Res. No. 88-58-4; Lot No. 403001, 大内新興化学) および MTBHQ (CAS Res. No. 1948-33-0; Lot No. 02721JZ, ALDRICH) の投与に際しては所定の濃度になるように、投与前日にコーンオイル (SIGMA) で、溶解又は懸濁 (DTBHQ で 234.4 mg/kg 以上, MTBHQ で 200 mg/kg 以上) させ、褐色びんにて冷蔵保存した。DTBHQ の分子量は 222.3 であり、水に不溶、アルコール、アセトンに可溶な、融点 200℃ 以上の白色あるいは灰白色の粉末であり、他方 MTBHQ は、分子量 166.2 で、水に難溶、アルコール、アセトンに可溶な、融点 127℃ の紅褐色あるいは類白色の粉末である。

### 2. 使用動物

4 週齢のウイスター系ラット (日本エスエルシー) を購入後 1 週間予備飼育した後、いずれも一般状態の良好な動物を選んで試験に使用した。投与開始時 (5 週齢) の体重は、雄で 86~100 g, 雌では 76~90 g であった。動物は、アルミ製ケージにて個別飼育し、室温 24±1℃, 湿度 55±5%, 照明 5

~17 時の環境下の動物飼育室で飼育した。また、固形飼料 (船橋農場, F2) と水道水を自由に摂取させた。なお、検体投与 16~17 時間前から検体投与後 3~4 時間まで絶食させた。

### 3. 投与方法

16~17 時間絶食したラットに DTBHQ および MTBHQ を金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与した。また、対照群ではコーンオイルを同様に投与した。懸濁液は、遠心式ボールミル (フィリッシュ社製, 独) を用いて作製した。投与する懸濁液又は溶解液の量は、雌雄ラットともに体重 100 g 当たり 1 ml とした。

### 4. LD<sub>50</sub> 値の算出

動物数の削減から、Lorke 法<sup>5)</sup> に準じて、以下の手順にしたがって、ステージ 1 と 2 に分けて行った。ステージ 1 では 0, 10, 100 および 1000 mg/kg (各群 3 匹) の MTBHQ および DTBHQ を雌雄ラットに単回強制経口投与した。その結果に基づき、ステージ 2 では、MTBHQ は 200, 400 および 800 mg/kg (各群 2 匹), DTBHQ では、146.5, 234.4, 375.0 および 600.0 mg/kg (各群 2 匹) を単回強制経口投与し、14 日間の死亡動物数から LD<sub>50</sub> 値を算出した。また、投与する濃度の増加に伴い致死率が逆転した場合は、一次回帰直線から LD<sub>50</sub> 値を算出した。

### 5. 一般状態および死亡の有無

動物の観察は、投与日は投与直後および数時間毎に、翌日から試験終了時までは 1 日 1 回、14 日間にわたって行った。また、体重測定は 0 (投与日), 1, 2, 3, 6, 14 日後にそれぞれ測定した。死亡動物は直ちに、生存動物は投与 14 日後に解剖し肉眼的観察を行った。肉眼的観察は、脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、卵巣、下垂体、副腎、胸腺、唾液腺、脊髄、甲状腺、膵臓、膀胱、消化管、子宮、精巣上体、精囊について行った。

## 実験結果および考察

### 1. 一般状態および死亡の有無

両検体による致死率を Table 1 に示した。

#### 1.1 DTBHQ

雄で 375 mg/kg 以上, 雌で 234.4 mg/kg 以上の投与群に、死亡例が認められた。

死亡例では、投与 1 時間頃から、ゼリー状の下痢、腹臥が認められ、4 時間後頃から流涎、流涙、左右への体の揺れを伴う腰高歩行が認められた。その後

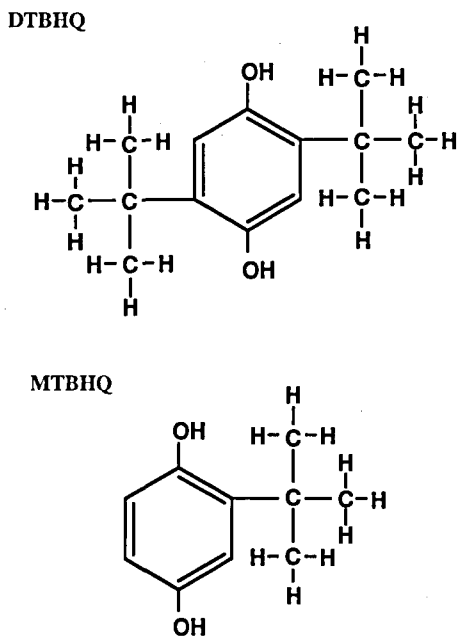


Fig. 1. Chemical structure of DTBHQ and MTBHQ

Table 1. Mortality of male and female rats treated orally with each dose of DTBHQ and MTBHQ

| DTBHQ  |                 |                  |                   |                     |                     |                     |                    |                    |
|--------|-----------------|------------------|-------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| mg/kg  | 0 <sup>a)</sup> | 10 <sup>a)</sup> | 100 <sup>a)</sup> | 146.5 <sup>b)</sup> | 234.4 <sup>b)</sup> | 375.0 <sup>b)</sup> | 600 <sup>b)</sup>  | 1000 <sup>a)</sup> |
| Male   | 0/3             | 0/3              | 0/3               | 0/2                 | 0/2                 | 2/2                 | 2/2                | 3/3                |
| Female | 0/3             | 0/3              | 0/3               | 0/2                 | 1/2                 | 2/2                 | 2/2                | 3/3                |
| MTBHQ  |                 |                  |                   |                     |                     |                     |                    |                    |
| mg/kg  | 0 <sup>a)</sup> | 10 <sup>a)</sup> | 100 <sup>a)</sup> | 200 <sup>b)</sup>   | 400 <sup>b)</sup>   | 800 <sup>b)</sup>   | 1000 <sup>a)</sup> |                    |
| Male   | 0/3             | 0/3              | 0/3               | 0/2                 | 1/2                 | 0/2                 | 3/3                |                    |
| Female | 0/3             | 0/3              | 0/3               | 0/2                 | 1/2                 | 2/2                 | 3/3                |                    |

a) stage 1, b) stage 2

症状は重篤となり、投与1日後から尿道口周囲部の黄褐色の汚れおよび尾の先端(1/2~1/3)の紫色変化が認められるようになり、投与1~5日後に死亡した。

雌雄100 mg/kg以上の投与群の生存例でも、死亡例とはほぼ同様な症状を示したが、投与2~3日後頃から症状は軽減し、3~5日後には回復したが、尾の先端が紫色を呈した動物では、投与6日後頃に、その部位の壊死、脱落が認められた。なお、10 mg/kg投与群では、雌雄ともに検体に起因すると考えられる変化は認められなかった。

尾部の紫色変化については、可視粘膜には認められず尾部に限局することから、チアノーゼとは考えにくい。尾部が心臓から最も遠位にあることを考慮すると、鬱血制の循環障害の結果引き起こされた可能性が考えられたが、その原因については不明である。これらの一般状態の観察から、DTBHQは自律神経系や運動神経系(末梢神経系)および循環器系に作用する可能性が示唆された。一方、*in vitro*の系において、小胞体Ca<sup>2+</sup>ATPaseの阻害の結果、小胞体からのCa<sup>2+</sup>漏出の亢進と、容量性Ca<sup>2+</sup>チャネルを介するものと考えられる細胞外からのCa<sup>2+</sup>流入とによる、持続的な細胞内Ca<sup>2+</sup>量の上昇が報告されている<sup>2~4)</sup>。細胞内Ca<sup>2+</sup>量の上昇は、神経細胞では神経伝達物質の遊離に、内皮細胞では内皮依存性弛緩因子の遊離に関与することが知られている<sup>6)</sup>。したがって、小胞体Ca<sup>2+</sup>ATPase阻害剤であるDTBHQはこの機序により、神経細胞の興奮ならびに内皮細胞依存性の血管拡張を引き起こす可能性が考えられた。

他方、LamとGarg<sup>7)</sup>は、ハムスターを用い、1

%DTBHQ連続混餌投与による、6ヵ月の慢性毒性試験を行った結果、前胃の過形成および乳頭腫の発生を認めているが、今回の我々の結果では、前胃に異常は認められなかった。

## 1.2 MTBHQ

雄の800 mg/kg投与群を除き、400 mg/kg以上の投与群の雌雄ともに、死亡例が認められた。

死亡例では、投与後2~5分頃からよろめき歩行が認められ、投与後4~10分頃には腹臥、浅速呼吸、四肢の麻痺が認められた。投与後8~20分頃に呼吸が停止し、その後心臓が停止し、死に至った。

200 mg/kg以上の投与群の生存例では、投与後2~5分頃からよろめき歩行が認められたが、投与後20分頃から回復した。なお、100 mg/kgおよび10 mg/kg投与群では、雌雄ともに検体に起因すると考えられる変化は認められなかった。

これらの症状から、MTBHQは中枢神経系および運動神経系に作用する可能性が示唆された。一方、Astillら<sup>8)</sup>は、ラットを用いて、MTBHQの0.016~0.5%での連続混餌投与による、20ヵ月の慢性毒性試験を行った結果、毒性は認められないことを報告している。

## 2. 体重の推移

対照群およびステージ2における、DTBHQおよびMTBHQ投与時の体重曲線をFig.2に示した。

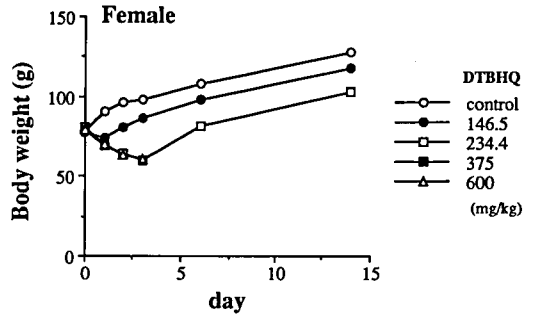
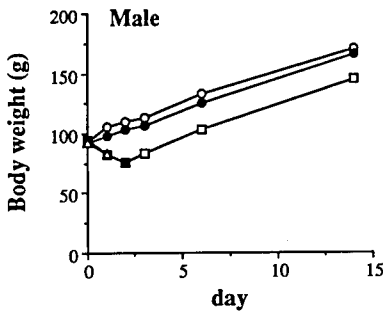
### 2.1 DTBHQ

雄では、234.4 mg/kg以上、雌では146.5 mg/kg以上の投与群において、体重減少または、体重増加抑制が認められた。

### 2.2 MTBHQ

雌雄ともに、400 mg/kg以上の投与群において、

**DTBHQ**



**MTBHQ**

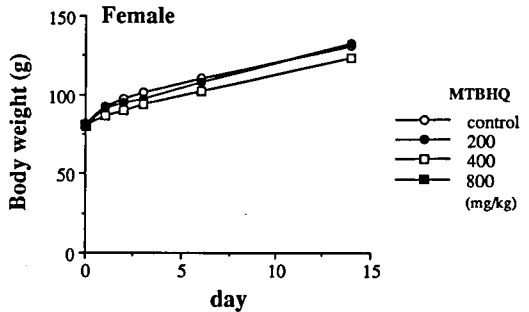
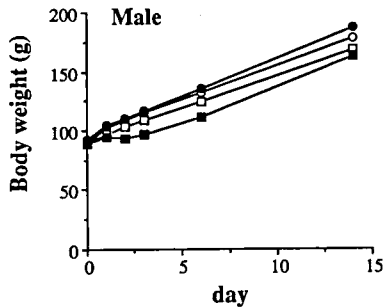


Fig. 2. Body weight curves of male and female rats treated orally with DTBHQ and MTBHQ

体重減少または、体重増加抑制が認められた。

**3. 剖検所見**

100 mg/kg 以上の DTBHQ 投与群で認められた尾部の脱落以外に、雌雄ともに、DTBHQ あるいは MTBHQ の投与に起因すると考えられる、特記すべき剖検所見は認められなかった。

**4. LD<sub>50</sub> 値**

Lorke 法<sup>5)</sup>により算出した、DTBHQ の LD<sub>50</sub> 値は雄で 295.1 mg/kg、雌で 234.4 mg/kg、MTBHQ の LD<sub>50</sub> 値は雄で 711.6 mg/kg、雌で 400.0 mg/kg であった。

Astill ら<sup>8)</sup>は、ラットでの MTBHQ の LD<sub>50</sub> 値を 700~1000 mg/kg と報告しているが、本実験結果もほぼ同様な成績であった。

**結 語**

ラットを用いた、小胞体 Ca<sup>2+</sup>ATPase 阻害剤、2,5-ジ-tert-ブチルヒドロキノン (DTBHQ) およびその類似化合物である、モノ-tert-ブチルヒドロキノン (MTBHQ) の単回経口投与毒性試験を

行った結果、MTBHQ は DTBHQ に比べて早期の致死作用を示すことを明らかにした。また、Lorke 法で求めた DTBHQ での LD<sub>50</sub> 値は雄で 295.1 mg/kg、雌で 234.4 mg/kg であり、MTBHQ の LD<sub>50</sub> 値は雄で 711.6 mg/kg、雌で 400.0 mg/kg であった。一般状態の変化として、DTBHQ では、ゼリ一状の下痢、腹臥、流涙、流涎、左右への体の揺れを伴う腰高歩行、および、尾の先端部の紫色変化や脱落が認められ、一方 MTBHQ では、腹臥、浅速呼吸、よろめき歩行、および四肢の麻痺が認められた。DTBHQ で認められた尾先端部の脱落を除き、死亡動物および解剖した動物において、検体に起因すると考えられる剖検所見は認められなかった。

**謝 辞**

DTBHQ を提供して頂いた、大内新興化学工業(株)に深く感謝いたします。また、終始、実験にご尽力下さった、生見まり子女史に深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) Moore, G. A., McConkey, D. J., Kass, G. E. N., O'Brien, P. J. and Orrenius, S.: 2,5-di(tert-butyl)-1,4-benzohydroquinone—a novel inhibitor of liver microsomal  $\text{Ca}^{2+}$  sequestration. *FEBS Lett.* **224**, 331~336 (1987)
- 2) Kass, G. E. N., Duddy, S. K., Moore, G. A. and Orrenius, S.: 2,5-di(tert-butyl)-1,4-benzohydroquinone rapidly elevates cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$  concentration by mobilizing the inositol 1,4,5-trisphosphate-sensitive  $\text{Ca}^{2+}$  pool. *J. Biol. Chem.* **264**, 15192~15198 (1989)
- 3) Fasolato C., Innuenti B. and Pozzan T.: Receptor-activated  $\text{Ca}^{2+}$  influx: how many mechanisms for how many channels? *Trends Pharmacol. Sci.*, **15**, 77~83 (1994)
- 4) Kitajima, S., Momma, J., Tsuda, M., Kurokawa, Y., Teshima, R. and Sawada, J.: Effects of 2,5-di(tert-butyl)-1,4-hydroquinone on intracellular free  $\text{Ca}^{2+}$  levels and histamine secretion in RBL-2H3 cells. *Inflamm. Res.* **44**, 335~339 (1995)
- 5) Lorke, D.: A new approach to practical acute toxicity testing. *Arch. Toxicol.*, **54**, 275~287 (1983)
- 6) Villereal M. L. and Palfrey H. C.: Intracellular calcium and cell function. *Annu. Rev. Nutr.*, **9**, 347~376 (1989)
- 7) Lam L. K. T. and Garg P.: Tumorigenicity of di-tert-butyl-substituted hydroquinone and hydroxyanisoles in the forestomach of Syrian golden hamsters. *Carcinogenesis*, **12**, 1341~1344 (1991)
- 8) Astill B. D., Terhaar C. J., Krasavage W. J., Wolf G. L., Roudabush R. L. and Fassett D. W.: Safety Evaluation and biochemical behavior of monotertiarybutylhydroquinone. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **52**, 53~58 (1975)

糖鎖含有タンパク製剤の品質評価試験法に関する研究 (I)  
—エリスロポエチン製剤

川崎ナナ・森本和滋・早川堯夫

Study on evaluating methods for the quality control of  
glycoprotein products. (1)  
—Erythropoietin products

Nana Kawasaki, Kazushige Morimoto and Takao Hayakawa

The ability of high performance anion exchange chromatography (HPAEC) with pulsed amperometric detection was studied for evaluation of carbohydrate moieties of erythropoietin (EPO) products. The *N*-linked oligosaccharides were released from EPO by the treatment with *N*-glycosidase F. HPAEC analysis of oligosaccharide standards revealed that elution time of sialylated oligosaccharides were dependent on the number of sialic acid, which contributed to the activity of EPO. Using HPAEC, *N*-linked oligosaccharides of two kinds of recombinant human EPO (rhEPO) produced in chinese hamster ovary (CHO) cells and baby hamster kidney (BHK) cells were compared. The HPAEC profiles of oligosaccharides of these EPO products indicated that there were some differences in the carbohydrate moieties between CHO rh-EPO and BHK rh-EPO.

In conclusion, HPAEC method is useful to evaluate the quality of EPO products.

**Keywords** : erythropoietin, HPAEC, sialic acid

(Received May 31, 1995)

## 緒 言

エリスロポエチン (EPO) は、腎臓で産生され、赤芽球細胞の分化増殖を調節する糖タンパク質ホルモンである。医薬品としては、遺伝子組換え技術を応用して生産されており、国内約 140 万人の透析患者の内、7~8 割が貧血治療目的に同製剤を使用している。EPO の糖鎖部分については、特にシアル酸含量や *N*-結合型糖鎖の分岐構造が、生物活性および体内動態に重要であること、また、糖鎖構造全体が安定性に寄与していることが報告されている<sup>1,2)</sup>。しかし、組換え糖タンパク質の場合、その糖鎖構造は、発現させた細胞の種類、発現方法、培養条件などの外因的要因によって変化することが知られている。したがって、EPO 製剤の品質を確保するためには、糖鎖部分を含めて評価しなければならないが、現段階ではその評価法は充分とは言えず、より簡便で、信頼性の高い評価法の確立が切望されている。

糖鎖構造を評価するために、従来、糖タンパク質を電気泳動法で分析する方法がとられてきたが、近年、HPLC 法を用いて糖鎖部分を直接解析する手法が用いられるようになってきた。なかでも、高性能強アルカリ性イオン交換クロマトグラフィー (HPAEC, High Performance Anion Exchange Chromatography) は、分離後パルスドアンペロメトリー検出器 (PAD) を用いることにより、糖を標識することなく、高感度で分析できる方法として知られている<sup>3,4)</sup>。そこで、筆者らは、EPO 製剤の糖鎖部分の評価法を確立することを目的として、HPAEC を用いて発現細胞の異なる 2 種の組換えヒト型 EPO の糖鎖構造を分析し、HPAEC 法の有用性について検討した。

## 実験方法

### 1. 試 薬

Chinese hamster ovary cells 由来組換えヒト型 EPO (CHO rh-EPO) および Baby hamster kidney



cells由来組換えヒト型EPO (BHK rh-EPO) は、それぞれキリンビール(株)社および雪印乳業(株)社より供与された。50%水酸化ナトリウム溶液は、フィッシャーケミカル(株)社製を、酢酸ナトリウムは、和光純薬(株)社製を用いた。また、オリゴ糖標準品は、ダイオネックス(株)社より購入した。

## 2. 装置

HPAEC: ダイオネックスイオンクロマトグラフィシステム DX-300

検出器: PAD (ダイオネックス(株)社製)

## 3. N-結合型糖鎖の遊離

Riceらの方法<sup>5)</sup>に準じて行った。CHO-rhEPO (100 µg) を66 µlの10 mM酢酸アンモニウム溶液、pH 8.5に溶解させ、N-グリコシダーゼF (330 mU, ベーリンガーマンハイム(株)社製) を37°Cで20時間反応させた。反応終了後、220 µlのエタノールを加えて4°Cで24時間放置した。オリゴ糖を上清として回収し、遠心濃縮装置を用いて乾固した後、100 µlの蒸留水を加えて試料溶液とし、その25 µlをHPAECで分析した。BHK rh-EPOからのN-結合型糖鎖の調製は、30 µgを用いて以下同様に行った。

## 4. ポリアクリルアミドゲル電気泳動

SDS-PAGEは、ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) を含有した12.5%ポリアクリルアミドゲルで作製したスラブゲルを用いて行い、Coomassie brilliant blue R-250で染色した。分子量測定用標準タンパク質として、ホスホリラーゼb (97.4 kDa), ウシ血清アルブミン (66.2 kDa), 卵白アルブミン (45.0 kDa), 炭酸脱水酵素 (31.0 kDa), 大豆トリプシンインヒビター (21.5 kDa), 卵白リゾチム (14.4 kDa) を用いた。

## 5. HPAEC

Riceらの方法<sup>5)</sup>に従った。

カラム: PA-1 カラム (ダイオネックス(株)社製, 0.47×25 cm)

溶離液A: 100 mM NaOH  
120 mM 酢酸ナトリウム

溶離液B: 100 mM NaOH  
150 mM 酢酸ナトリウム

グラジエントプログラム:  
B液0~33% (0~25分)  
33~100% (25~26分)  
100% (26~60分)

流速: 1 ml/min

積算時間: Range 2

E<sub>1</sub>: 0.05 V t<sub>1</sub>=480 ms

E<sub>2</sub>: 0.6 V t<sub>2</sub>=120 ms

E<sub>3</sub>: -0.6 V t<sub>3</sub>=60 ms

ポストカラム試液: 300 mM NaOH

ポストカラム試液流速: 0.8 ml/min

## 結果および考察

### 1. N-結合型糖鎖の遊離

EPOのオリゴ糖試料を調製するために、N-グリコシダーゼF処理によるN-結合型糖鎖の切り出しを検討した。反応の確認はSDS-PAGEを用いて行い、N-グリコシダーゼF処理後のEPOの分子量が38 kDaから21 kDaに変化したことから、EPOのN-結合型糖鎖が完全に遊離されていることが確認された (Fig. 1)。この結果は、Riceらの報告<sup>5)</sup>によく一致していた。酵素反応後の処理についてRiceらは、反応液を乾固後、残渣を蒸留水に再溶解させているが、除タンパク操作は特に行っていない。本研究では、反応後、3倍容のエタノールを添加し、遊離したN-結合型糖鎖を上清として回収することにより、カラムの劣化の原因となるタンパク質を簡便に除去することができた。

一般に、N-結合型糖鎖の遊離には、ヒドラジン

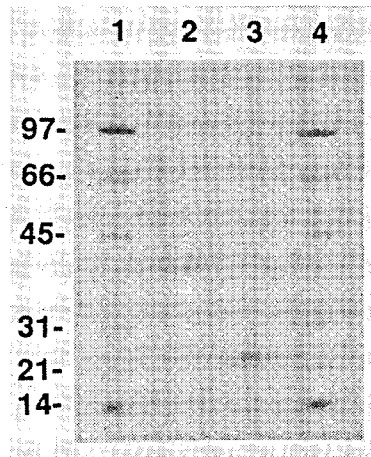


Fig. 1. SDS-PAGE analysis of the N-deglycosylated erythropoietin

About 0.4 µg of each sample was analyzed on a 12.5% SDS-polyacrylamide gel and stained with Coomassie brilliant blue R-250. Lanes 1 and 4, molecular mass marker; lane 2, intact CHO rh-EPO; lane 3, N-deglycosylated CHO rh-EPO.

分解法と酵素処理法が用いられるが、ヒドラジン分解法は操作が煩雑であり、安全性に問題が残る。これに対して酵素処理法は、簡便であるが、完全にオリゴ糖を遊離させるといって問題があるといわれている。しかし、本研究により、EPOの糖鎖は、*N*-グリコシダーゼF処理によって完全に切り出されることが確認されたことから、EPO製剤の糖鎖部分の評価目的としては、酵素処理法が優れていると思われる。

## 2. 標準シアロ糖鎖の HPAEC

HPAEC法において、アシアロオリゴ糖は、フコースの有無や分岐および結合位置の違い等によって分離されることが知られている<sup>3,4)</sup>。一方、シアル酸を持つ酸性オリゴ糖の分離には、シアル酸結合数の寄与が大きいことが報告されている<sup>5)</sup>。そこで、EPOのシアロ*N*-結合型糖鎖の溶出位置を推定するために、シアル酸結合数の異なる標準品A~C (Fig. 2) についてHPAECを行い、A (二シアロ体)、B (三シアロ体) そしてC (四シアロ体) の順に溶出されることを確認した (Fig. 3)。

EPOの糖鎖部分は、活性、体内動態および安定性に寄与していることが報告されている。なかでもシアル酸含量は、生物活性に大きく影響を与えることが知られており<sup>6)</sup>、EPO製剤の活性を確保するた

めには、シアロオリゴ糖を質的量的に分析することが必要であると思われる。したがって、シアル酸結合数に関して有益な情報を得ることのできるHPAEC法は、EPOの評価法の一つとして適していると思われる。一方、HPLCを用いた糖タンパク質の糖鎖解析法として、オリゴ糖を2-アミノピリジンで蛍光標識して分析する方法 (PA化法) がよく利用されている<sup>7)</sup>。PA化法は、シアル酸結合数を反映した分離分析法としては確立されていないが、アシアロオリゴ糖の同定には優れている。したがって、EPO製剤の糖鎖構造についてより多くの情報を得るためには、将来的には、HPAEC法とPA化法を組み合わせ、両者の特性を利用した分析法を確立することが望ましいと思われる。

## 3. EPO糖鎖の HPAEC

EPO製剤の糖鎖部分の評価法としてのHPAECの有用性を検討する目的で、HPAECを用いて、発現細胞の異なる2種類の組換えヒト型EPO、すなわちCHO rh-EPOおよびBHK rh-EPOの*N*-結合型糖鎖を分析した。CHO rh-EPOから切り出したシアロ*N*-結合型糖鎖部分のHPAECパターンをFig. 4 (A) に示した。CHO rh-EPOに結合しているオリゴ糖は、シアロオリゴ糖標準品の溶出位置から、1種類の二シアロ体、3種類の三シアロ体、

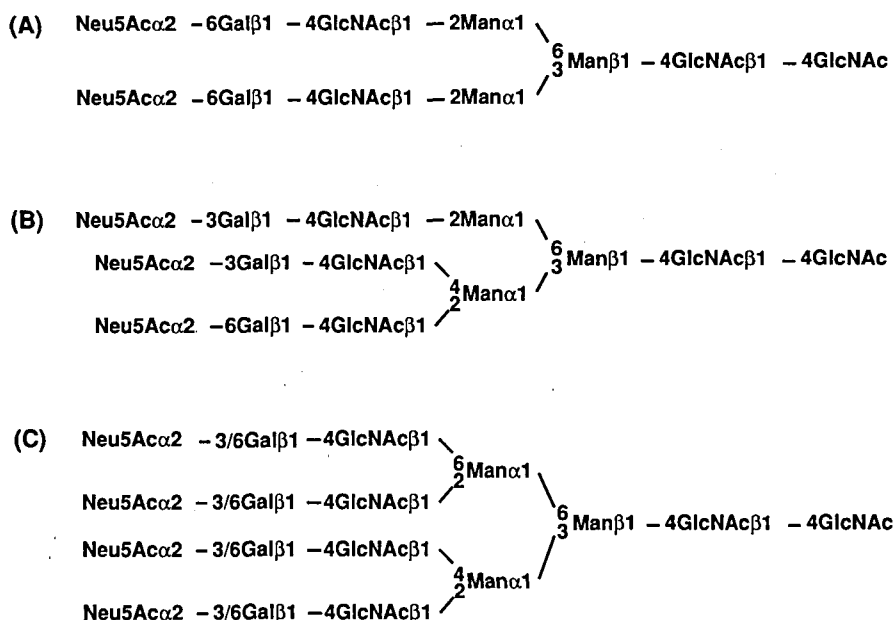


Fig. 2. Structures of sialylated oligosaccharide standards

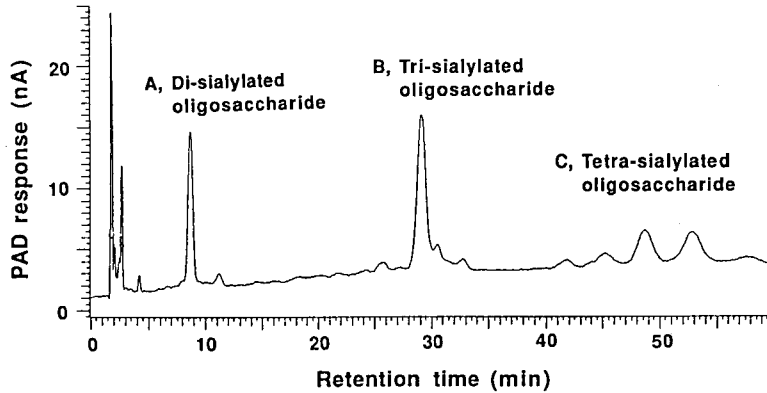


Fig. 3. Separation of sialylated oligosaccharide standards by HPAEC  
A (0.5  $\mu\text{g}$ ), B (1.0  $\mu\text{g}$ ) and C (7.3  $\mu\text{g}$ )

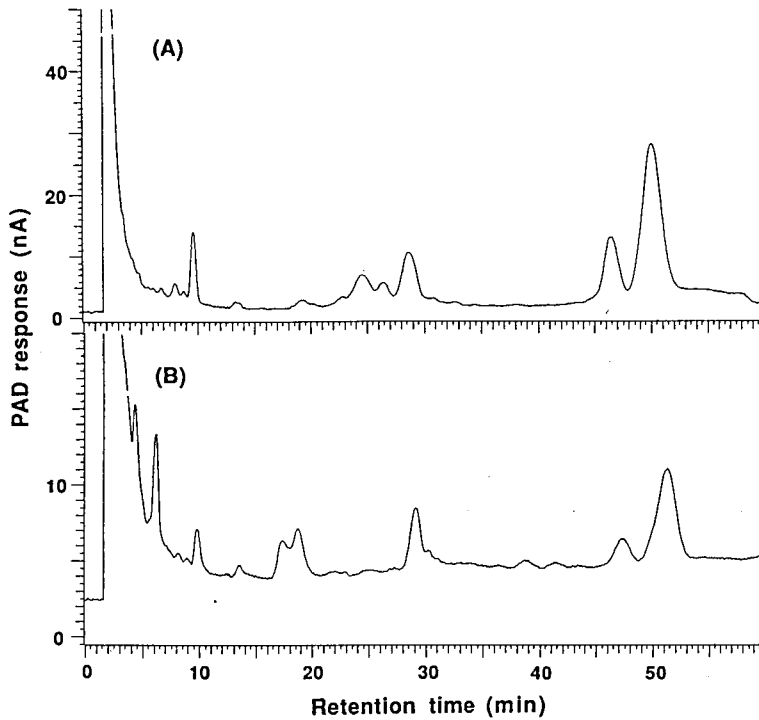


Fig. 4. HPAEC of the *N*-linked oligosaccharides from CHO rh-EPO  
(A) and BHK rh-EPO (B)

および2種類の四シアロ体からなることが推定された。一方、BHK rh-EPOのオリゴ糖のHPAECパターンは、Fig. 4 (B)に示すように、CHO rh-EPOの糖鎖部分のパターンとは明らかに異なっていた。この結果は、両細胞由来EPO間の糖鎖部分には、糖鎖に結合しているシアル酸数の分布に違いがある

ことを示していると思われる。BHK rh-EPOの比活性は、CHO rh-EPOよりも低いことが知られており<sup>8)</sup>、本結果から、両EPOの比活性の差は、糖鎖部分の違いに起因していることが示唆された。

以上まとめると、本研究において筆者らは、HPAECを用いて発現細胞の異なる組換えヒト型

EPOのシアロオリゴ糖の分布の違いを分析できることを示した。今後、HPAEC法によるEPO製剤の評価試験法を確立するために、HPAEC法による各シアロオリゴ糖の検出感度比および定量性等を確認し、オリゴ糖含量とEPOの比活性の相関関係を明らかにしていく予定である。

### 謝 辞

本研究遂行に際し、有益な御助言を賜りました掛樋一晃近畿大学薬学部助教授ならびに鈴木茂生博士に深く感謝致します。なお、本研究は、ヒューマンサイエンス基礎研究事業の支援を受けて行われたものである。

### 文 献

- 1) 森本和滋, 内田恵理子, 川崎ナナ, アハメド・アブド・サイド, 徳永裕司, 春日井勲, 早川堯夫: 医薬品研究, **25**, 501~523 (1994)
- 2) 森本和滋, 内田恵理子, 川崎ナナ, アハメド・アブド・サイド, 徳永裕司, 春日井勲, 早川堯夫: 医薬品研究, **25**, 405~425 (1994)
- 3) Hardy, M. R., Townsend, R. R. and Lee, Y. C.: *Anal. Biochem.*, **170**, 54~62 (1988)
- 4) Hardy, M. R. and Townsend, R. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **85**, 3289~3293 (1988)
- 5) Rice, K. G., Takahashi, N., Namiki, Y., Tran, A. D., Lisi, P. J. and Lee, Y. C.: *Anal. Biochem.*, **206**, 278~287 (1992)
- 6) Imai, N., Higuchi, M., Kawamura, A., Tomonoh, K., Oe-eda, M., Fujiwara, M., Shimonaka, Y. and Ochi, N.: *Eur. J. Biochem.*, **194**, 457~462 (1990)
- 7) Hase, S.: *Methods Mol. Biol.*, **14**, 69~80 (1993)
- 8) Hayakawa, T., Wada, M., Mizuno, K., Abe, S., Miyashita, M. and Ueda, M.: *Biologicals*, **20**, 253~257 (1992)

- 1) 森本和滋, 内田恵理子, 川崎ナナ, アハメド・アブド・サイド, 徳永裕司, 春日井勲, 早川堯

## 輸入イズミダイ中の一酸化炭素の検査

武田由比子・川崎洋子・杉田たき子・坂元史歩・佐藤恭子  
吉田 良\*<sup>1</sup>・米谷民雄・石綿 肇・山田 隆

## Inspection of Carbon Monoxide in Imported Tilapia

Yuiko Takeda, Yoko Kawasaki, Takiko Sugita,  
Shiho Sakamoto, Kyoko Sato, Ryo Yoshida\*<sup>1</sup>,  
Tamio Maitani, Hajimu Ishiwata and Takashi Yamada

Carbon monoxide in imported tilapia was determined with a gas chromatograph equipped with a molecular sieve 13x column (2.3 m), a methanizer and a FID for the inspection of imported food. The concentration of carbon monoxide in the sample, which was vacuum packed and suspected to be treated with carbon monoxide, was  $16 \times 10 \mu\text{g}/\text{kg}$  in fish meat, and  $37 \times 10^3 \mu\text{l}/\text{l}$  in the bubble in the package. On the other hand, carbon monoxide in the reference, which was vacuum packed but was not treated with carbon monoxide, was  $10 \mu\text{g}/\text{kg}$  in fish meat and  $76 \mu\text{l}/\text{l}$  in the bubble in the package. Carbon monoxide was less than  $4 \mu\text{g}/\text{kg}$  in two vacuum packed fish meat of tilapia sold in a market in Tokyo. From these results, the suspected sample was concluded to be treated with carbon monoxide for color fixating of protoheme in fish meat.

**Keywords :** tilapia, carbon monoxide, determination, color fixative

(Received May 31, 1995)

## 緒 言

プロトヘムは空気中で徐々に酸化されて赤褐色のメトプロトヘムに変化し、また、一酸化炭素とは非常に速やかに反応して安定で退色しにくい鮮赤色のCO-プロトヘムを生成する<sup>1)</sup>。一酸化炭素は食品添加物としては許可されていないが、この反応を利用して、魚の切り身を長期間鮮赤色に保ち、消費者の選択を誤らせることが技術的には可能である。この度、一酸化炭素処理された疑義のある輸入イズミダイ(テラピア)を入手し、検査を行ったので、その結果について報告する。

## 実 験 方 法

## 1. 試 料

1) 厚生省生活衛生局食品化学課より送付された試料

試料1. 一酸化炭素処理の疑義のある輸入イズミダイ(血合いの部分が鮮赤色のもの)。

試料2. 対照試料で、一酸化炭素無処理の国産イズミダイ(血合いの部分が褐色のもの)。

いずれも皮を剥いで、3枚におろした切り身で、透明プラスチックフィルムに真空パックされ、冷凍状態で当部に届けられた。試料1は1パック当たり半身2枚入り、試料2は1パック当たり半身1枚入り。試料は分析に供するまで冷凍庫(-20℃)中で保存した。

## 2) 市販試料

都内のマーケットで購入したイズミダイ(血合いの部分が褐色のもの)。皮をはいで三枚におろした切り身で、透明フィルムに真空パックされ、冷凍状態で市販されていたもの。

## 2. 試薬、試液

1) 校正用一酸化炭素ガス:一酸化炭素ガス、 $81.5 \mu\text{l}/\text{l}$ (ガステック社)。用時、空気で希釈して使用。

2) 硫酸:試薬特級(和光純薬工業)。

3) 1-オクタノール:試薬特級(片山化学工業)。

## 3. 器具および装置

1) ホモジナイザー:AM-7(日本精機)。

\*<sup>1</sup>(現) 日本大学農獣医学部

- 2) 冷却遠心器：H-103RS (コクサン)。
- 3) 吸引式ガス採取器：M-801 (ガステック)。
- 4) 直読式ガス検知管：No. 1 LL, 一酸化炭素用 (ガステック)。

5) ガスクロマトグラフ：FID 付き HP-5890A (Hewlett Packard) ガスクロマトグラフにメタナイザー MT-221 (ジーエルサイエンス) を装着したもの。

#### 4. 試験溶液の調製

試料を解凍し、真空バック中に気泡が残存している場合は気泡を集め、ガスタイトシリンジで採取して直接ガスクロマトグラフィーを行った。その後、開封して半身ずつ取り出し、重量を測定した。細切り、2倍量の水を加え、ホモジナイザーを用いて氷冷下で1分間ホモジナイズした。ホモジネートを10℃で遠心分離 (3000 rpm, 10分) し、上清を試験溶液とした。ただし、市販試料では、バック内に気泡が残存していなかったためガス分析は行わなかった。

#### 5. 検知管による一酸化炭素の定性

試験溶液 20 ml を 40 ml 容の通気ビンに採り、1-オクタノール 1 滴、10%硫酸 10 ml を加え、ただちに検知管を接続し、300 ml の空気を吸引した。空試験として、試験溶液の代わりに水を用いて、同様の操作を行った。試料および空試験検知管の色調の変化の比較を行った。

#### 6. ガスクロマトグラフィーによる一酸化炭素の定量

一酸化炭素の定量は通知の方法<sup>2)</sup>によった。以下にその詳細を記す。

##### 1) 試料ガスの調製

試験溶液 50 ml を 100 ml のヘッドスペース用バイアルビンにとり、消泡剤として1-オクタノール 5 滴、水 5 ml、20%硫酸 20 ml を加え、シリコンラバーセプタム付きの蓋をした後、2分間強く振とうした。10分間静置後、再び1分間振とうし、バイアルビン中の気体層を試料ガスとし、その 1 ml をガスタイトシリンジでガスクロマトグラフに注入した。

##### 2) ガスクロマトグラフィーの条件。

一酸化炭素還元ガス：水素

還元温度：380℃

カラム：SUS カラム (3 mm i.d.×2.3 m)

カラム充填剤：Molecular sieve 13X, 60-80 mesh

カラム温度：50℃

注入口温度：100℃

検出器温度：200℃

キャリアガス：窒素 (2.4 kg/cm<sup>2</sup>)

#### 結果および考察

送付試料中の一酸化炭素を簡易に検出するため検知管を使用した。試料 1 では一酸化炭素濃度 5  $\mu$ l/l の目盛り近くまで褐色化した。これに対し、試料 2 および市販試料では褐色化部分は狭く、空試験と同程度の色調の変化であった。これらの結果から、試料 1 には一酸化炭素が使用されたと推定された。

ガスクロマトグラフィーによる試料中の一酸化炭素の定量結果を Table 1 に示す。試料 2 より得た試験溶液を入れたバイアルビンに 81.5  $\mu$ l/l の一酸化炭素ガス 2 ml を注入し、試験溶液と同様に処理して測定したところ、回収率は 84.4% (n=2 の平均) であった。

一酸化炭素処理の疑義のあるイズミダイ (試料 1) では 16×10  $\mu$ g/kg の一酸化炭素が検出された。これに対し、一酸化炭素無処理のイズミダイ (試料 2) では 10  $\mu$ g/kg であり、試料 1 に比べ、約 1/16 の濃度に過ぎなかった。また、市販試料では一酸化炭素濃度は 4  $\mu$ g/kg および不検出 (2  $\mu$ g/kg 以下) であった。一方、真空バックの開封直前にバック内の残存気泡についてガス分析を行ったところ、試料 1 のバック中の気泡中の一酸化炭素濃度は 37×10<sup>3</sup>  $\mu$ l/l、試料 2 では 76  $\mu$ l/l であった。

生体中のヘモグロビンは、ビリルビンへの代謝過程でヘム 1 分子から 1 分子の一酸化炭素を遊離する。一酸化炭素無処理試料および市販試料中に認められた一酸化炭素は、プロトヘムの分解による内因性的のものと考えられる<sup>3-4)</sup>。

阿部ら<sup>5)</sup>は、くん煙した魚肉 (魚種は不明) について分析を行い、0.04~8.4 mg/kg の一酸化炭素を検出している。今回行った試料は鮮魚 (冷凍) で

Table 1. Concentration of carbon monoxide in tilapia

| Sample tilapia | Meat ( $\mu$ g/kg) | Bubble ( $\mu$ l/l) |
|----------------|--------------------|---------------------|
| 1 Suspected    | 16×10              | 37×10 <sup>3</sup>  |
| 2 Reference    | 10                 | 76                  |
| 3 Commercial   | n.d.*              |                     |
| 4 Commercial   | 4                  |                     |

\* : Lower than the detection limit, 2  $\mu$ g/kg

あるが、市販試料および一酸化炭素無処理の試料では、阿部らの結果より低く、一酸化炭素処理の疑義のある試料では阿部らの報告の範囲内にあった。

以上の結果から、送付試料1（一酸化炭素使用の疑義のあるイズミダイ）は一酸化炭素が使用されたものであると判断された。今後、各種鮮魚中の一酸化炭素濃度のバックグラウンド値の調査等詳細な検討を行う必要がある。

### 謝 辞

実験を行うにあたり、厚生省生活衛生局乳肉衛生課および食品化学課、名古屋市衛生研究所、および当所食品部の協力を得た。感謝いたします。

### 文 献

- 1) 大岡増二郎, 塚元久雄: “裁判化学”, 南山堂, 東京, pp. 147~149, (1956)
- 2) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課・食品化学課: 鮮魚中の一酸化炭素の検査の実施について, 衛乳第10号・衛化第7号 (1995年1月30日)
- 3) 阿部政夫, 宮崎仁志, 永井祐治, 中島正博, 宮部正樹: 名古屋市衛生研究所報, 30, 10~15 (1994)
- 4) 新版日本血液学全書刊行委員会編: “血液学的検査・正常値”, 新版日本血液学全書 13, 丸善, 東京, p. 1 および p. 878, (1979)
- 5) Sunderman, F. W., Sunderman Jr., F. W (池田良雄監訳): “新しい毒性学”, 廣川書店, 東京, pp. 236~239, (1973)

## 食品添加物としてのポリビニルポリピロリドンの成分規格に関する検討

川崎洋子・武田由比子・石綿 肇・山田 隆

## A study on the establishment of the specification of polyvinylpolypyrrolidone as a food additive

Yoko Kawasaki, Yuiko Takeda, Hajimu Ishiwata and Takashi Yamada

Polyvinylpolypyrrolidone (PVPP) has been used in many countries for removing polyphenols in beer and wine, and was permitted as a food additive in Japan in April 1995. Prior to this approval of the compound, we studied procedures for identifying PVPP and its water soluble substances by colorimetry and infrared (IR) spectrometry for the establishment of the specification.

**Keywords** : polyvinylpolypyrrolidone (PVPP), food additive, colorimetry, infrared (IR) spectrometry, water soluble substance

(Received May 31, 1995)

## はじめに

ポリビニルポリピロリドン (PVPP) はビニルピロリドンの網状重合体であり、ポリフェノール類と特異的に反応するため、欧米はじめ、多くの国でビールやワインの混濁防止剤あるいは清澄剤として用いられている<sup>1-3)</sup>。PVPPは不溶性であり、最終食品に残留する懸念はない。一方、原材料であるビニルピロリドンおよび直鎖重合体であるポリビニルピロリドン (PVP) は水、アルコールに易溶性である。PVPPの規格に関しては米国食品添加物規格 (Food Chemicals Codex, FCC<sup>1)</sup>) および Compendium of Food Additive Specifications (CFAS)<sup>2)</sup> において、含量、性状、確認試験、純度試験が設定されている。

1995年4月、わが国においてPVPPが食品添加物として指定された。これに先立ち、PVPPの食品添加物としての純度試験等規格設定に関する基礎的な検討を行ったので報告する。

## 実験方法

## 1. 試料

分析試料として、以下の2種類のPVPPを用いた。

試料1 : Polyclar® 10 (ISP Technologies, Inc., USA), FCC 適合品。

試料2 : Polyvinylpolypyrrolidone (Sigma Chemical Co., USA), 試薬。

## 2. 試薬

ヨウ素試液 : 0.1 N ヨウ素溶液, 容量分析用 (和光純薬(株))。

0.1 N チオ硫酸ナトリウム溶液 : 容量分析用 (和光純薬(株))。

ポリビニルピロリドン K-30 : 化粧品用 (和光純薬(株))。

臭化カリウム : スペクトル測定用 (Merck, Germany)。

デンプン試液 : 食品添加物公定書<sup>4)</sup> による。

チオシアン酸アンモニウム・硝酸コバルト試液 : 食品添加物公定書<sup>4)</sup> による。

その他の試薬 : 試薬特級。

## 3. 装置

赤外分光光度計 : JIR3510 (日本電子(株))。

pH メーター : ガラス電極式 HM-20E (東亜電波(株))。

メンブランフィルター : 孔径 0.45  $\mu\text{m}$ , 直径 47 mm (東洋ろ紙(株))。

ヒーター付きマグネチックスターラー : MR 2002 (Heidolph, Germany)。

遠心器 : RS-18GL (トミイ精工(株))。

## 4. 方法

## 4.1. PVPP の確認試験



#### 1) 比色法

試料 1.0 g をはかりとり、水 10 ml に懸濁し、ヨウ素試液 0.1 ml を加え、30 秒間振り混ぜた。さらにデンプン試液 1 ml を加え、振り混ぜた。

#### 2) 赤外吸収スペクトルの測定

試料 1~2 mg および乾燥した赤外吸収スペクトル測定用臭化カリウム 100~200 mg をメノウ製の乳鉢に採り、吸湿しないように混合した後、成形器で成形し、赤外吸収スペクトルを測定した。

#### 4.2. PVPP の pH 測定

試料 1.0 g をビーカーにはかりとり、これに水 100 ml を加えて 15 分間かき混ぜ、懸濁状態で pH を測定した。

#### 4.3. PVPP 中の水可溶物の確認

試料約 25.0 g を平底フラスコにはかりとり、水 225 ml を加え、長さ約 5 cm のかくはん子を入れた。還流冷却器を装着し、ヒーター付きマグネチックスターラーを用いて、かくはんしながら 20 時間穏やかに加熱沸騰させた。冷後、250 ml のメスフラスコに移し、水を加えて 250 ml とした。15 分間放置した後、上澄液を遠心管に移し、10,000×g で 1 時間遠心分離し、上澄液をメンブランフィルターでろ過した。ろ液 50 ml を重量既知のガラス製蒸発皿に取り、水浴上で蒸発乾固し、90° の通風乾燥器中で 3 時間乾燥した。デシケーター（シリカゲル）中で一晩放冷した後、重量を測定した。

#### 4.4. PVPP 中の PVP の確認

4.3. で得た水可溶物（乾燥物）に水を加えて（水可溶物 1 g → 50 ml に相当）溶解して試験溶液とし、以下の PVP の確認試験を行った。

1) 試験溶液を水で 200 倍希釈し、その 5 ml にヨウ素試液 2 滴を加えた。

2) 試験溶液 1 ml に 1 N 塩酸 2 ml および 7.5% 重クロム酸カリウム溶液 0.4 ml を加えた。

3) 試験溶液 1 ml にチオシアン酸アンモニウム・硝酸コバルト試液 0.4 ml を加え、さらに 1 N 塩酸 0.2 ml を加えて酸性にした。

#### 4.5. PVPP 中のビニルピロリドンの確認

試料約 4.0 g をはかりとり、水 30 ml を加え 15 分間かくはんした。これに水 20 ml を加えて 3000 rpm で 5 分間遠心分離し、上澄液をガラスろ過器 (G4) でろ過した。遠心管の残留物に水 40 ml を加えてかくはんし、同様に遠心分離して、上澄液を先のろ過器でろ過した。この操作を 2 回繰り返した。合わせたろ液に酢酸ナトリウム 0.5 g およびデンプ

ン試液 3 ml を加え、0.1 N ヨウ素溶液でヨウ素の色が消えなくなるまで滴定した。さらに 3.0 ml の 0.1 N ヨウ素溶液を加え、10 分間暗所に放置し、過剰のヨウ素を 0.1 N チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定した。

### 結果および考察

PVPP の規格設定に関して、FCC<sup>1)</sup> および Compendium of Food Additive Specifications (CFAS)<sup>2)</sup> を参考に比較検討した。

#### 1. PVPP の確認試験

##### 1) 比色法

FCC によれば、PVPP 1 g に水 10 ml を加えた懸濁液にヨウ素試液 0.1 ml を加え、30 秒間振とうするとヨウ素の色は消失するとされている。一方、CFAS では、PVPP は“不溶性 PVP”の名称で記載されており、FCC と全く同一条件でヨウ素を加えているが、ヨウ素の色の消失の有無については特に言及されていない。本報告で用いた試料では、ヨウ素の色は消失することなく、そのまま残留した。ヨウ素の色の消失は、主として PVPP 中に混在するビニルピロリドンのビニル基がヨウ素を消費することによるものであり、FCC においてヨウ素の色が消失するという記述は、確認試験としては不適当と考えられた。

また、FCC および CFAS では、このヨウ素試液を加えた懸濁液にデンプン試液 1 ml を加えるとき、青色を呈さないとされている。本実験においても、デンプン試液によるヨウ素・デンプン反応（青色）は認められなかった。PVP はヨウ素を吸着せず、デンプン試薬で陽性を示すが、PVPP はヨウ素を強く吸着するため、懸濁液はヨウ素の色を示しているにも関わらず、ヨウ素・デンプン反応を示さないものと考えられる。

##### 2) 赤外吸収スペクトルの測定

PVPP の確認のために赤外吸収スペクトルを測定した。試料の赤外吸収スペクトルを Fig. 1 に、特徴的な波数を Table 1 に示す。これらの波数は文献値<sup>3)</sup>と一致しており、確認試験として設定し得ると考えられた。なお、FCC、CFAS ともに赤外吸収スペクトルについては言及していない。

#### 2. pH の測定

PVPP の pH は、FCC の規格では 5.0~11.0、CFAS では 5.0~8.0 とされている。pH を測定したところ試料 1 では 6.5、試料 2 では 6.8 で、FCC、

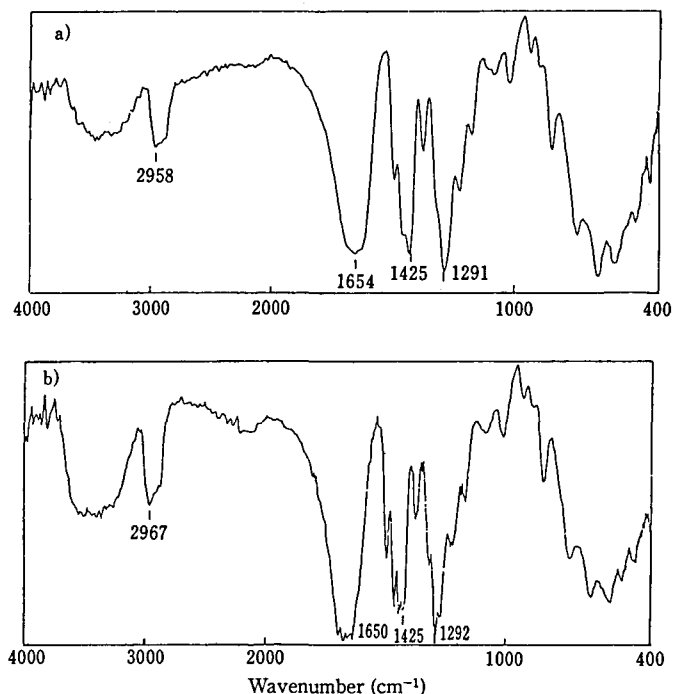


Fig. 1. IR spectra of polyvinylpolypyrrolidone

a: FCC food additive grade

b: reagent for laboratory use

Table 1. Characteristic Absorption in IR Spectra of PVPP samples

| Sample              | Wavenumber (cm <sup>-1</sup> ) |
|---------------------|--------------------------------|
| Food additive grade | 2958 1654 1425 1292            |
| Reagent grade       | 2968 1651 1425 1292            |

Assigned characterization

2968~2958 cm<sup>-1</sup>: saturated hydrocarbon C-H stretching1654~1651 cm<sup>-1</sup>: amide carbonyl C=O stretching1425 cm<sup>-1</sup>: saturated hydrocarbon C-H bending1292 cm<sup>-1</sup>: amide C-N stretching

CFAS の規格値の範囲内であった。

### 3. PVPP 中の水可溶物の確認

水可溶物の測定法は FCC と CFAS とでは大きく異なる。FCC ではろ過助材を加えてろ過し、ろ液に過塩素酸を加えて生成した濁りを濁度計を用いて測定している。一方、CFAS では、分離液が澄明となるまで、少なくとも 12,000 rpm で 1 時間の遠心分離を繰り返すこととされている。

そこで、我々は、CFAS による遠心分離操作の一部を改良して水可溶物の測定法を検討した。すなわち、遠心分離の条件は、ほぼ同等と考えられる 10,000×g で 1 時間とした。しかし、10,000×g で 1 時間の遠心分離では澄明な分離液は得られなかった。

また、10,000 xg を超える遠心分離では、通常、ポリエチレンまたはポリカーボネート製の遠心管が用いられ、分離液が澄明であるか否かはそのままでは判定が困難であり、判定のために、分離液を試験管に移すことによる微粒子の混入が考えられる。そこで、遠心分離は 1 回とし、分離液をメンブランフィルターを用いてろ過を行ったところ、澄明な液が得られた。したがって、遠心分離を繰り返すことなく、一定以上の澄明度の試験溶液を得ることが可能となった。

すなわち、遠心沈殿は 10,000×g で 1 時間 1 回とし、その分離液をメンブランフィルターでろ過する方法を用いることとした。この操作によって得られた水可溶物は、試料 1 では 1.97%、試料 2 では 1.37% であった。CFAS による規格値は 1.5% 以下で、試料 1 は CFAS の規格値を超えていた。

#### 4. PVPPの水可溶物中のPVPの確認

乾燥後の水可溶物は、無色透明で、樹脂状の薄い皮膜であった。これに水を加えて50倍に希釈したところ、速やかに溶解した。この溶液について、日本薬局方<sup>6)</sup>に準じてPVPの確認試験を行った。その結果、ヨウ素試液の添加により赤褐色～濃赤色を呈し、重クロム酸カリウム試液の添加により黄色～黄褐色の沈澱を生じ、また、チオシアン酸アンモニウム・硝酸コバルト試液により淡青色の沈澱を生じた。さらに、ヨウ素試液の添加により発色した液について500 nmで吸光度を測定し、PVP K-30の2%溶液を同様に処理して得られた吸光度と比較し、水可溶物中のPVPを算定したところ、ほぼ80%を占めていた。乾燥物の性状、諸確認試験および定量値から、試料中の水可溶物の大部分はPVPであることが推定された。なお、FCC、CFASともにPVPP中のPVPに関する規格は無い。

#### 5. PVPP中のビニルピロリドンの確認

PVPPのモノマーであるビニルピロリドンは規格の項目としてFCCでは“不飽和物”とし、CFASでは“遊離N-ビニルピロリドン”としている。定量法はFCC、CFASともにヨウ素滴定法で、規格値も滴定値として0.72 ml以下、含量に換算して0.1%以下としている。本報告も同一の方法で検討したところ、滴定値は試料1では0.22 ml、試料2では0.27 mlで、含量としてそれぞれ0.03%、0.04%に相当した。試験を行うに当たっての問題点は特になかった。

### 結 論

PVPPの食品添加物としての規格原案の作成を目的として、FCCおよびCFASの規格を参考に検討を行った。その結果は以下のようであった。

1. 比色による確認試験では、ヨウ素の色は消失することなく、そのまま残留した。しかし、デンブレン試液によるヨウ素・デンブレン反応(青色)は認められなかった。

2. 赤外吸収スペクトルでは、2960  $\text{cm}^{-1}$ 、1650

$\text{cm}^{-1}$ 、1420  $\text{cm}^{-1}$  および 1290  $\text{cm}^{-1}$  付近に特徴的な吸収スペクトルを示した。

3. pHは試料1は6.5、試料2は6.8であった。

4. PVPP中の水可溶物の測定法については、CFASの方法を一部改良し、10,000×gで1時間遠心分離し、メンブランフィルターによるろ過を行った。水可溶物は試料1では1.97%、試料2では1.37%であった。水可溶物の大部分はポリビニルピロリドンであることが推定された。

5. PVPP中のビニルピロリドンについては、滴定値として試料1では0.22 ml、試料2では0.27 mlで、含量としてはそれぞれ試料の0.03%、0.04%に相当した。

以上のように、CFASの規格を基に、我が国のPVPPの規格作成が可能であり、水可溶物については、一定以上の澄明度の試験溶液を得るために、メンブランフィルターによるろ過法が推奨できることを明らかにした。

### 文 献

- 1) Committee on Codex Specifications: "Food Chemicals Codex", 3rd Ed., pp. 237~238 (1981), National Academy Press, Washington, D. C.
- 2) Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: "Compendium of Food Additive Specifications", Vol. 2, pp. 791~794 (1992), Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- 3) 日本食品添加物協会: "食品添加物マニュアル", pp. 223~251 (1991), 日本食品添加物協会, 東京.
- 4) 厚生省: "第6版食品添加物公定書", pp. 73~107 (1992), 厚生省, 東京.
- 5) Keller, R. J.: "The Sigma Library of FT-IR Spectra", Vol. 1, pp. 701 (1986), Sigma Chemical Co., U.S.A.
- 6) 厚生省: "第十二改正日本薬局方", pp. 1056~1057 (1991), 厚生省, 東京.

## 漆器からの鉛およびカドミウムの溶出

河村葉子・杉田たき子・辻 郁子・山田 隆

## Migration of Lead and Cadmium from Lacquered Tableware

Yoko Kawamura, Takiko Sugita, Ikuko Tuji and Takashi Yamada

The migration of lead and cadmium from lacquered tableware was investigated. Seven samples of bowls and five samples of chopsticks were purchased on the market. The migration test was carried out with 4% acetic acid at 60°C for 30 min. Lead and cadmium in the test solution was determined by flameless-atomic absorption spectrometry. Release of lead was 3.4 and 4.4 ppb from two samples and release of cadmium was 1.3 ppb from one sample. Those samples were chopsticks coated with natural lacquer and colored with pattern. No other samples released lead and cadmium. Evaporation residue was less than 13 ppm in all samples.

**Keywords** : migration, lead, cadmium, lacquered tableware, evaporation residue

(Received May 31, 1995)

## はじめに

漆器は、素地にうるし等で塗装した製品をいい、我が国をはじめ中国、朝鮮、タイなど東洋独特の工芸品である。高級な漆器類の場合は、主に木製の素地を用い、うるしを下塗、中塗、上塗と何層にも塗布し、さらに蒔絵などの装飾が施される。一方安価な漆器類の場合は、木製または合成樹脂製の素地に、膠、糊等で下塗をし、うるしを上塗するか、または上塗のみを行う。天然うるしと表示されていても、うるしののびをよくするため合成樹脂を添加している場合も多い。

漆器は、重金属を含有する顔料を使用する場合があります。また天然うるしが重金属を含有する可能性もある。また、うるしの主成分であるウルシオール重合体と構造が類似しているフェノール樹脂等は、合成樹脂として重金属の溶出に関する規格基準が適用される。しかし、漆器については、食品衛生法の器具および容器包装の規格基準<sup>1)</sup>において原材料の材質別規格は設定されておらず、また鉛およびカドミウムの溶出に関する調査報告もみられない。

そこで、市販の食品用漆器類のうち家庭で使用される頻度が高い椀および箸について、溶出試験を行い鉛およびカドミウムの溶出量および蒸発残留物量を測定し、その実態を明らかにした。

## 実験方法

## 1. 試料

東京都内で市販の塗椀7種類、塗箸5種類を購入し試料とした。試料の概要を Table 1 に示した。

## 2. 試薬

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

酢酸：精密分析用 (片山化学工業製)

水：超高純度精製水 (ミリQ水)

## 3. 装置

原子吸光光度計：グラファイトファーネスアトマイザー GFA-4A 付フレーム分光光度計 AA-660 (島津製作所製)

ホットプレート：NHP-45 (IUCHI 製)

高温チャンバー：ST-120 (タバイエスペック製)

## 4. 溶出試験

浸出用液として4%酢酸溶液を用い、椀はあふれ出る点から5 mm 下まで浸出用液を満たし、箸は1膳を 100 ml 容のネスラー管に入れて浸出用液で満たした。60°Cで30分間加熱し、その溶出液を試験溶液とした。

## 5. 鉛およびカドミウム測定法

試験溶液中の鉛およびカドミウムの含量はフレームレス原子吸光法で測定した。

<測定条件>

測定波長：Pb 217.0 nm; Cd 228.8 nm

Table 1. 試料の概要

| 種類  | No | 塗の名称   | 内面塗装の種類 | 素地の種類         | 表面の色 | 表面積                 | 容量     |
|-----|----|--------|---------|---------------|------|---------------------|--------|
| 塗 椀 | 1  | 富山くれは塗 | カシュー塗装  | 木粉とメラミン樹脂の成形品 | 赤色   | 175 cm <sup>2</sup> | 300 ml |
|     | 2  | 会津塗    | うるし塗装   | 木粉とメラミン樹脂の成形品 | 赤色   | 174                 | 300    |
|     | 3  | 会津塗    | うるし塗装   | 木粉とメラミン樹脂の成形品 | 赤色   | 172                 | 300    |
|     | 4  | 会津塗    | うるし塗装   | 木粉とメラミン樹脂の成形品 | 赤色   | 172                 | 300    |
|     | 5  | 山中塗    | うるし塗装   | 木製            | 茶色   | 165                 | 270    |
|     | 6  | 山中塗    | うるし塗装   | 木製            | 茶色   | 176                 | 300    |
|     | 7  | 山中塗    | うるし塗装   | 木製            | 赤色   | 161                 | 250    |
| 塗 箸 | 1  | 不明     | うるし塗装   | 木製            | 黒色   | 65                  | 103    |
|     | 2  | 不明     | うるし塗装   | 木製            | 黒色   | 71                  | 103    |
|     | 3  | 輪島塗    | うるし塗装   | 木製            | 黒色   | 69                  | 103    |
|     | 4  | 輪島塗    | エポキシ塗装  | 木製            | 黒色   | 69                  | 103    |
|     | 5  | 輪島塗    | エポキシ塗装  | 木製            | 黒色   | 69                  | 103    |

塗箸の表面積は1膳(2本)分、椀の表面積は内側のみ  
容量は実際に使用した浸出用液量

乾燥条件: 150°C, 30 sec

灰化条件: 300°C, 20 sec

原子化条件: Pb 1400°C, 3 sec; Cd 1800°C, 3 sec

注入量: 10 µl

#### 6. 蒸発残留物測定法

食品衛生法に従い<sup>9)</sup>, 105°Cで乾燥後精秤した蒸発皿に試験溶液 100 ml を移し, ホットプレート上で蒸発乾固した。105°Cで2時間乾燥しデシケーターで放冷後精秤し, 重量差を求め, ブランク値を差し引いて蒸発残留物量とした。

#### 7. 測定値の換算

鉛およびカドミウムの測定値および蒸発残留物量は, 溶出試験に使用した浸出用液量と, 試料の表面積 1 cm<sup>2</sup> あたり 2 ml で計算した浸出用液量の比を求め, 各測定値を下記により換算した。なお, 表面積は, 椀は内側のみの表面積, 箸は1本分の表面積を求めその2倍(1膳分)を表面積とした。

計算上の浸出用液量 = 表面積 × 2 ml

換算測定値 =  $\frac{\text{使用した浸出用液量}}{\text{計算上の浸出用液量}} \times \text{測定値}$

#### 実験結果および考察

漆器は, 食品衛生法でその規格基準が定められておらず, 溶出試験の条件に関する規定もない。漆器のうるし塗装は, 主成分がフェノール化合物であるウルシオール重合体でありフェノール樹脂と近いこと, 外観や用途がフェノール樹脂, エポキシ樹脂, ポリウレタン等と類似していることなどから, 合成

樹脂の溶出試験にしたがって試験を行うこととした。すなわち, 溶出温度 60°C, 溶出時間 30 分間, 浸出用液は対象が器具であることから 4% 酢酸溶液とし, 測定値は浸出用液量を表面積 1 cm<sup>2</sup> あたり 2 ml として換算した。

塗椀 7 検体および塗箸 5 検体について, 各検体毎に 1~3 個を用いて溶出試験を行い, その鉛およびカドミウムの溶出量および蒸発残留物量を測定した。検出限界は鉛 2.5 ppb, カドミウム 0.5 ppb および蒸発残留物量 1 ppm であった。

測定結果は Table 2 に示すように, 鉛およびカドミウムの溶出は椀では全検体で溶出がみられなかったが, 箸では 2 検体から鉛が 3.4 および 4.4 ppb, 1 検体からカドミウムが 1.3 ppb と微量ではあるが検出された。蒸発残留物量は, 椀では 2~5 ppm, 箸では漆塗装 (No. 1~3) で 3~13 ppm, エポキシ樹脂塗装 (No. 4, 5) で ND および 2 ppm であった。

うるし塗装の箸において 2 検体から鉛が, 1 検体からカドミウムが検出されたが, これらの箸はいずれも上部の持つ部分に彩色された絵柄またはしまの模様があり, 全体を浸出用液に浸したため, その部分から微量の鉛またはカドミウムが溶出したものと考えられた。しかし溶出量は極めて少なく, また模様の部分は通常の使用においては食品に直接接触することはないので, 食品衛生上全く問題はないと考えられた。一方, エポキシ樹脂塗装の箸 2 検体は, 外観上うるし塗装と酷似しておりまた同様の絵柄が

Table 2. 漆器からの鉛およびカドミウムの溶出量と蒸発残留物量

| 種類  | NO | 検体数 | 鉛<br>(ppb) | カドミウム<br>(ppb) | 蒸発残留物<br>(ppm) |
|-----|----|-----|------------|----------------|----------------|
| 塗 椀 | 1  | 3   | ND         | ND             | 5 ± 2          |
|     | 2  | 3   | ND         | ND             | 4 ± 4          |
|     | 3  | 3   | ND         | ND             | 5 ± 1          |
|     | 4  | 2   | ND         | ND             | 2 ± 2          |
|     | 5  | 2   | ND         | ND             | 5 ± 2          |
|     | 6  | 2   | ND         | ND             | 4 ± 1          |
|     | 7  | 2   | ND         | ND             | 4 ± 5          |
| 塗 箸 | 1  | 2   | 4.4 ± 0.8  | ND             | 6 ± 4          |
|     | 2  | 2   | 3.4 ± 0.5  | ND             | 13 ± 13        |
|     | 3  | 2   | ND         | 1.3 ± 0.1      | 3 ± 4          |
|     | 4  | 1   | ND         | ND             | ND             |
|     | 5  | 1   | ND         | ND             | 2              |

測定値は平均値 ± S.D. で示した。

NDは検出限界（鉛 2.5 ppb, カドミウム 0.5 ppb, 蒸発残留物 1 ppm）以下。

あったが、鉛およびカドミウムの溶出はみられず、また蒸発残留物も低いことから、エポキシ樹脂の方がうるしよりも強固な塗装膜を形成していることが示唆された。

また、蒸発残留物量はNDから13 ppmであり、素地に木を用い、また天然うるしで塗装しているにもかかわらず十分に低く、すべて合成樹脂の規格値である30 ppm以下であった。

今回の試験においては、食品用漆器からの鉛およびカドミウムの溶出はほとんどみられず、また蒸発残留物量も低く、食品衛生上問題はないと結論された。

## 文 献

- 1) 厚生省告示第84号(1986年4月1日)

農薬の安全性評価の新しい動き  
—IPCS 農薬合同会議 (JMP) について—

関 沢 純

A New Programme on Safety Evaluation of Pesticides  
—The IPCS Joint Meeting on Pesticides (JMP)—

Jun Sekizawa

International Programme on Chemical Safety (IPCS), an international collaboration in safety evaluation of chemicals, initiated a programme called Joint Meeting on Pesticides or JMP, last autumn. The JMP is an activity contributing to harmonizing evaluation procedures and saving expertise and financial resources, having several unique features. First, the outputs of the scientific evaluations and data covering all major areas related to pesticide safety in one JMP meeting can be applied to the areas of food safety, occupational health, and environmental protection. Second, succinct presentation of the outputs of reliable evaluations in a tabular form, supported by detailed information in the Environmental Health Criteria documents help people in countries, especially those in developing ones, understand the evaluations and rely on them in establishing their guidelines on pesticide safety. This format of the JMP report is a good example for short assessment reviews on chemicals (Concise International Assessment Document) which will be prepared by an international cooperation project based on Agenda 21 decisions.

**Keywords** : pesticide safety, new IPCS programme, international harmonization, succinct presentation of evaluations, environmental health criteria

(Received May 31, 1995)

はじめに

農薬の安全性評価をめぐる、ここ2、3年国際的に大きな動きがある。OECD (経済協力開発機構) は「農薬プログラム」を発足させ、1994年以來「農薬フォーラム」と化学品グループ/管理委員会の合同セッションを中心に、(1)テストガイドライン、(2)農薬登録における要求データ、(3)ハザード/リスク評価、(4)再登録における安全性評価、(5)リスク削減の5分野について、3年計画で大がかりな検討を進めている<sup>1)</sup>。

EU (欧州連合) は加盟各国毎に行っていた農薬登録を、1993年7月以降EU域内で一本化し、既存剤については10年間で再評価を実施するとともに、新規登録については有効成分と製剤のデータを指定された担当国に申請して登録を取得すれば統一リストに掲載し、以後他の加盟国には製剤データのみを提出すれば良いということにした<sup>2,3)</sup>。

米国のEPA (環境保護庁) では1993年の全米科学アカデミーによる「幼児と子供に対する食品中残

留農薬の健康リスク」に関する報告<sup>4)</sup>を受け残留農薬基準の設定を見直し、子供の成長や食事パターンに対する配慮を反映させることを検討している<sup>5)</sup>。

国立衛生試験所では、IPCS (International Programme on Chemical Safety) への国際協力の中で、50近い農薬について作られた環境保健クライテリア (EHC: Environmental Health Criteria)<sup>6)</sup>のうち10農薬について原案の作成を担当するとともに、残留農薬の安全性を評価するJMPR (FAO/WHO 合同残留農薬会議)<sup>7)</sup>に毎年専門家を派遣してきた。このJMPRやEHCの安全性評価の結果は国際的に大きな影響力を持っているが、IPCSとWHO (World Health Organization) が関係している農薬の安全性に関連する活動はこれらにとどまらず、Table 1に示すように多岐にわたっている。IPCSはこれら活動における農薬の安全性評価作業を統合することにより、評価における作業の重複を省くとともに、ひとつの評価結果を各分野で有効に利用する目的で農薬合同会議 (JMP: Joint Meeting on Pesticides)<sup>8)</sup>を設立することにした。1994年10月

Table 1. Activities on pesticide safety in IPCS/  
WHO \* 追記参照Activities in, or products of IPCS

1. JMPR (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues)
2. EHC (Environmental Health Criteria documents)
3. HSG (Health and Safety Guides documents)
4. ICSC (International Chemical Safety Cards)
5. PIM (Poison Information Monographs)
6. WHO/FAO Data Sheets on Pesticides
7. WHO Expert Committee on Vector Biology and Control
8. WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification
9. Guidelines for Predicting Dietary Intake of Pesticide Residues
10. Assessment of Exposure to Pesticides in HEAL

Activities in WHO, other than listed above

1. WHO Guidelines for Drinking-water Quality
2. Joint FAO/WHO Food Standards Programme
3. GEMS (Global Environment Monitoring System)
4. WHO Pesticides Evaluation Scheme (WHOPES) administered by the Division of Control of Tropical Diseases
5. Specifications for pesticides used in public health developed by the Division of Control of Tropical Diseases
6. IARC (International Agency for Research on Cancer)

にジュネーブで JMP のコアアセスメントグループ (CAG) 第一回会議が開かれたが、筆者は会議で討議された EHC の原案作成を担当し、本会議に出席したので IPCS における農薬の安全性評価の新しい動き、“JMP” とその意義について記す。

### 1. JMP の組織と役割

JMP の概念と、種々の分野における農薬の安全性についての評価の関係を Fig. 1 に示す。この安全性評価において中核的な役割を担う CAG は、農薬の健康と環境への影響を総合的に評価することになる。より具体的にいうと、CAG は健康影響については、最もクリティカルな影響の種類と、その影響の見られる濃度を同定し、人になんらの有害影響を及ぼさないレベルを設定する。すなわち食品と飲料水については、一日耐容摂取量 (TDI: Tolerable Daily Intake) を評価することになる。環境影響については、指標となる生物種について影響の見られる濃度を同定する。これまで JMPR で用いられていた一日許容摂取量 (ADI) という表現は、残留農薬のような汚染物については相応しくないこと

から TDI が今後用いられることになる。

CAG の評価に基づいて、(1)食品/飲料水の安全性、(2)環境影響、(3)労働安全の3つのパネルが、それぞれ農薬の製造、使用実態、食品/飲料水への残留、環境中濃度などのデータに基づき、農薬の安全使用/生産のためのガイダンス値を評価する。食品の場合ガイダンス値としては、農薬の最大残留基準値 (MRL) を評価することになる。

第一回 JMP の CAG 会議では、JMP における評価方法の確立を図るとともに、以下の3つの課題を遂行することになった。(1)各 EHC 原案の内容の検討とそれに基づく安全性評価および、EHC の完成、(2) JMPR で行ってきた経口を中心とした毒性データと食品残留データによる安全性評価と TDI と MRL の設定のうち TDI の設定、(3)経皮、吸入データによる安全性評価および、環境中生物への影響評価。

### 2. 第1回 JMP 会議での検討対象物質と、 討議内容

今回は、IPCS の事業の一環として各国で用意さ



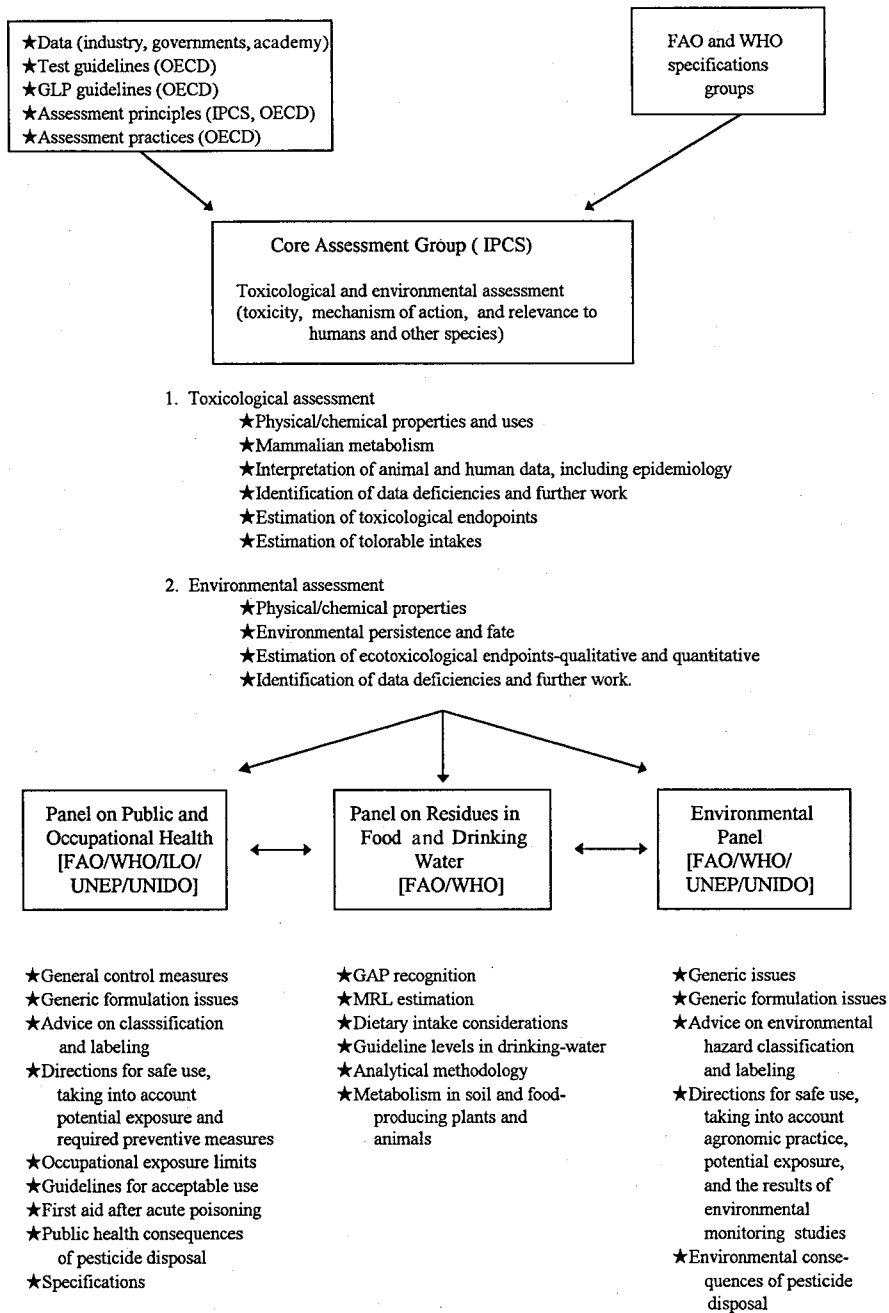


Fig. 1. Organizational structure of JMP (Joint Meeting on Pesticides)

Table 2. Compounds for which EHC drafts were presented in the first JMP meeting

| Compounds                | Responsible persons for the drafts |                     |
|--------------------------|------------------------------------|---------------------|
| Chlorothalonil           | Dr Litchfield :                    | UK, IPCS consultant |
| Diflubenzuron            | Dr Tasheba :                       | Bulgaria            |
| 1,2-dichloroethane (EDC) | Ms Hughes :                        | Canada              |
| 1,2-dibromoethane (EDB)  | Dr Sekizawa :                      | Japan               |
| Methomyl                 | Dr Litchfield :                    | UK, IPCS consultant |

Table 3. Contents of JMP report on individual compounds

|  |
|--|
| 1. Summary   |
| 1.1 Identity, physical and chemical properties, and analytical methods |
| 1.2 Sources of human and environmental exposure                        |
| 1.3 Environmental transport, distribution and transformation           |
| 1.4 Environmental levels and human exposure                            |
| 1.5 Kinetics and metabolism in laboratory animals                      |
| 1.6 Effects on laboratory mammals, and <i>in vitro</i> test systems    |
| 1.7 Effects on humans  |
| 1.8 Effects on non-target organisms in the laboratory and field        |
| 2. Assessments   |
| 2.1 Toxicological assessment   |
| 2.2 Environmental assessment   |
| 3. Toxicological criteria for setting guidance values                  |
| 4. Conclusions and recommendations                                     |
| 5. Further studies   |

れてきた Table 2 に示す 5 つの物質（農薬以外にも使用される物質を含む）についての EHC 原案を基に、評価を行った。すなわち最初に EHC 原案の内容を、健康影響と環境影響の評価に関連して詳細に吟味した。次に EHC の記述に基づいて作られた Summary, Assessments, Toxicological criteria, Conclusion and recommendations, Further studies の原案が検討された (Table 3)。討議過程を通して検討された評価手続き上の問題点と整理についても、まとめが作られたが紙面の関係で記述を省く。

### 3. 健康影響評価の例

健康影響評価の結果を、EDB と Chlorothalonil の例を用いて示す<sup>9)</sup>。

#### 3.1 EDB の例

EDB はラットとマウスの鼻腔、肺、胃、肝臓、皮膚、乳腺に腺種や癌腫を、その他に血管肉腫をも誘発する。多くの場合に腫瘍誘発の早期化が見られた。EDB は各種の *in vitro* および、*in vivo* 試験系で遺伝毒性または変異原性を示し、*in vitro* で一本鎖 DNA を切断した。代謝物と DNA が共有結合することも知られている。これらのデータより EDB

は、齧歯類に対して遺伝毒性を持つ発癌物質と見なされた。ヒトへの発癌性については適切な研究データはないが、動物実験での広範な発癌性の証拠により EDB がヒトに発癌性を有することが示唆される。CAG は、EDB がヒトに有害性を示さないレベルを見いだすことはできないと結論し、ヒトの曝露は可能な限り少なくしなければならないと勧告した。

#### 3.2 Chlorothalonil の例

Chlorothalonil は、データの総合的な評価により遺伝毒性を持つ発癌物質と見なされなかったため、犬を用いた 2 年間の給餌試験における無影響量 (NOEL) 3 mg/kg/day をヒトへの外挿の基礎に選り、TDI を 0.03 mg/kg/day と設定することにした。短期曝露による皮膚、眼刺激性、感作性と吸入毒性、中期曝露による経皮、経口毒性、催奇形性、長期の曝露による経口毒性試験における影響の内容と、クリティカルな濃度 (NOEL など) は Table 4 のようにまとめられた。

#### 4. 環境影響評価の例

環境影響評価の結果を Diflubenzuron の例を用いて示す<sup>9)</sup>。

Diflubenzuron は土壌に速やかに吸着し、その後

Table 4. Toxicological criteria for setting guidance values for chlorothalonil

| Exposure scenario        | Relevant route, effect, species | Results/remarks   |
|--------------------------|---------------------------------|---|
| Short-term (1-7 days)    | Skin, irritation, rabbit        | Irritant  |
|                          | Eye, irritation, rabbit         | Irritant  |
|                          | Skin, sensitization, ginea-pig  | Tests were inconclusive<br>Evidence in humans of contact dermatitis   |
|                          | Inhalation, lethality, rat      | High toxicity in 4-h study with hammer-milled technical chlorothalonil; not relevant for most human exposure situations |
| Medium-term (1-26 weeks) | Repeat dermal, rabbit           | 21-day study; irritant at 2.5mg/kg body weight per day and above; no systemic effects at 50 mg/kg body weight per day   |
|                          | Repeat oral, mouse and rat      | 13-22 week studies; NOEL: 3mg/kg body weight per day in rats and mice   |
|                          | Maternal, oral, rabbit          | Teratology study; maternal toxicity NOEL: 10mg/kg body weight per day by gavage; no fetotoxic or teratogenic effect     |
| Long-term                | Repeat oral, dog                | 2-year study; NOEL: 3mg/kg body weight per day  |

NOEL: No Observed Effect Level

脱着はほとんど見られず、溶脱しない。水中より速やかに消失し、底質に吸着される。光分解および環境水や土壌中の非生物的分解は遅いか、わずかである。水中および、土壌中で微生物により速やかに（半減期は数日）分解される。嫌気条件下では分解は遅くなる。環境中の生物への影響、推定される曝露レベルと影響濃度の比率を Table 5 に要約して示す。

#### 5. JMP レポートのフォーマット

JMP レポートのフォーマットを Table 3 に示した。Summary には EHC の記述に沿って、物質の同定、物性、分析法、ヒトと環境に対する曝露源、環境中の移動/分布/変化、環境中の濃度とヒトの曝露濃度、代謝と体内の分布、実験動物への影響、ヒトへの影響、環境中生物への影響が 3~6 頁にまとめられている。Assessments には、簡潔に紹介したような健康影響評価と、環境影響評価が物質毎に 2~4 頁に要約されている。特記すべき特徴として

は、Table 4 と、Table 5 に示したように、動物種、曝露期間と、曝露経路毎に、クリティカルな影響の内容と NOEL などが、表形式で一覧されていることがある。この表を見て概要を知り、Summary と Assessment においては評価済みの選ばれた情報に接することができる。さらに詳細を知りたい場合には並行して作られる EHC を参照できるのである。

#### ま と め

JMP にはこれまでの安全性評価になかったいくつかの新しい試みと成果が盛られており、要約すると次のようになる。

- (1) 農薬の安全性に関係するすべての分野（食品残留、労働衛生、環境影響）に適用できる評価内容
- (2) 基礎データと評価の道筋を明示し、かつ国際的に標準化された信頼性の高い評価方法と内容
- (3) 詳細な情報とセットになった、クリティカルな基本データのわかりやすい提示

Table 5. Toxicity-exposure ratios for birds, fish and invertebrates based on application rates of 2.5 kg a.i.\*/ha of diflubenzuron to soybeans (worst case)

| Risk category                       | LC <sub>50</sub> as mg/litre or mg/kg diet | Estimated exposure as mg/litre or mg/kg diet | Toxicity/exposure ratio |
|-------------------------------------|--|--|-------------------------|
| Acute bird                          | 3762                                       | 73.7-535.7                                   | 51.0-7.0                |
| Acute fish (stream)                 | 150  | 0.0007                                       | 214,300                 |
| Acute fish (pond)                   | 150  | 0.01   | 15,000                  |
| Acute aquatic invertebrate (stream) | 0.005                                      | 0.0007                                       | 7.1                     |
| Acute aquatic invertebrate (pond)   | 0.005                                      | 0.01   | 0.5                     |

\* a.i. : active ingredient

筆者はこれまで農薬を含むいくつかのEHCの原案の作成に携わってきたが、評価結果を各国で利用する上で、(1)~(3)のようなことが不可欠と考えてきた。要約と評価を簡潔に記し、評価結果を一覧表で示す方法は、評価資料のフォーマットのひとつのあり方を示しており、西暦2000年に向けて国際協力により500物質について作られる予定のConcise International Assessment Documentの良い具体例となりうるだろう。

今回の試みが良い反響を生み、さらに例えば米国有害物質疾病登録庁(ATSDR)のToxicological Profileのように、今後調査研究の必要なデータを動物種、曝露期間と、曝露経路毎に図示する、あるいは環境中または食品中濃度とクリティカルな影響濃度との関係を図示するなどの改善を図ることが望まれる。またJMPレポートの簡潔なSummaryとAssessmentをInternetのような国際的ネットワークで提供し、他方各国や専門家からは曝露データを含むさまざまなデータやコメントのフィードバックが、双方向的に同じInternetを通じてIPCSに届けられるようになれば良いと考えている。

なお今年のJMPでは従来通り、既に残留農薬規格委員会(CCPR)が勧告している農薬を対象に取り上げることになっている。

## 謝 辞

EDBのEHC原案の作成にあたっては、所内の多くの専門家(既に退所された方を含む)、芦屋大

学竹村望教授、横浜国立大学橋田ちせ教授、日本バイオアッセイ研究センター松島泰次郎所長のご協力を頂いた。ここに記して感謝する。本稿について助言を下された薬理部藤森観之助室長に感謝する。JMP報告の引用につき、IPCSの許可を得ていることを記しておく。

## 文 献

- 1) OECD: Pesticide programme, Progress report and planned activities for 1994, PEST/FOR (94)1, 16 December 1993
- 2) EC: Council Directive of 15 July 1991 concerning the placing of plant protection products on the market, 91/414/EEC, Official J. Europ. Comm., L230 Vol. 34, 19 August 1991
- 3) EC: Commission Regulation (EEC) No 3600/92 of 11 December 1992 laying down the detailed rules for the implementation of the first stage of the programme of work referred to in Article 8 (2) of Council Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market, Official J. Europ. Comm., L366/11, 15 December 1992
- 4) NRC: Pesticides in the Diets of Infants and Children, National Research Council, National Academy Press, Washington D.C. (1993)
- 5) Hanson, D.: Pesticides and food safety, administration proposes broad reforms, Chemical and Engineering News, September 27, 1993
- 6) 関沢 純: IPCSの環境保健クライテリア作成

における問題点とその解決策について, 衛生試験報, **110**, 95~102 (1992)

- 7) 高仲 正, 関沢 純: “総合食品安全事典, 第8章 生体異物の安全性評価”, 粟飯原景昭, 内山充, 田村真八郎, 藤巻正生監修, 産業調査会事典出版センター, 東京 (1994)
- 8) IPCS: International pesticide assessments, IPCS secretariat, April 1993
- 9) IPCS: Joint Meeting on Pesticides Report of the 1994 meeting of Core Assessment Group,

WHO/PCS/95.7 pp.57 (1995)

#### 追記

Table 1.に示したものに加えて, 1995年7月より IPCSはEHCより簡潔でかつ信頼性の高い国際的な評価文書(Concise International Assessment Document: CIAD)の作成を開始した. JMP reportのフォーマットは, CIADのフォーマットに反映されることになった.

## 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 (1994 年度)

大竹 千代子

First Drafts of the Environmental Health Criteria (EHC) Circulated  
for Comments by IPCS in 1994~1995.

Chiyoiko Ohtake

Summaries of first drafts of Environmental Health Criteria (EHC), which were circulated for comments by IPCS in the period of 1994~1995, are presented. EHC drafts on 10 compounds were received in this period.

**Keywords** : EHC, IPCS

(Received May 31, 1995)

## はじめに

1994年4月から1995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 17 件あった。例年通り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. Chlorinated Flame Retardants (塩素化難燃剤)**

・ Chlorinated paraffins (塩素化パラフィン類)  
(1994/4/20)

塩素化パラフィン類は天然起源のものはない。1930年代以来、原油の分留分を塩素化して製造され、四塩化炭素のような溶剤として使用されてきた。使用量は世界全体で年間 40 万トンといわれている。塩素化パラフィン類は可燃性プラスチックの部分置換体としての利用度が高い。したがって、それらの製造工場やそれらを使用する産業施設が固定発生源であり、移動発生源からは分解生成物として発生する。生物への影響として、目の刺激、生殖毒性、催奇形性および変異原性が報告されている。

・ Chlorendic acid

chlorendic acid は殺虫剤としての構造上では chlordane や dieldrin に関連しており、真っ白の結晶性の粉末で、水やベンゼン、ノルマルヘキサンにわずかに溶け、メタノール、アセトンなどには容易に

溶ける。変異原性は実験動物で 2 例報告されている。発がん性については 620 あるいは 1250 mg/kg 飼料を含んだ給餌をメスおよびオスのマウスに与えて 103 週間実験を行った結果、122 週間以内にすべてが死亡した。低濃度投与でもオスの肝臓に壊死が見られ、高濃度投与の場合、メス・オス双方のマウスに肝細胞がんがみられ、肺にも転移していた。ラットでも同様の結果が示されている。その他、3 物質について評価されている。

**2. Ethylene Dibromide (1994/4/20)**

ethylene dibromide はクロロフォルム様の臭いを持つ常温で無色の液体で、融点は 9.3℃、沸点は 131℃である。蒸気圧は 25℃で 11.0 mmHg、水への溶解度は 0.43%で、ほとんどの有機溶媒に溶解する。天然には存在しない。最近の生産量は把握されていないが、1975年に日本では 1400 トン生産された。主な用途としてアルキル鉛添加ガソリン等のアンチノック剤の掃鉛剤、土壌殺菌剤、染料・医薬品合成の中間体などがあげられる。また、発がん性については、実験動物において経口、吸入、経皮投与試験のいずれにおいても陽性の結果が報告されている。細菌を用いた変異原性試験では陽性で、一本鎖 DNA の切断が見られたほか、代謝物の DNA への共有結合も見い出されている (本 EHC の作成には当衛生試験所の研究者の方々のご協力を得た)。

**3. Principles and Methods for Assessing Direct Immunotoxicity Associated with Exposure to Chemicals (化学物質への暴露に関連した直接的な免疫毒性の影響評価の原則と方法) (原著の目次を回覧) (1944/4/20)**

#### 4. Thallium (1994/7/5)

thalliumは鉛と同様、柔らかく展性のある元素で、湿気のある空気や水に触れて表面に酸化物や水酸化物が形成される。工業的には少量生産されるだけで(1991年に世界で10~15トンの消費量)あるが、広い用途を持っている。脱毛剤、殺鼠剤、殺虫剤としての使用が制限・禁止された後は、電気・電子工業や特殊硝子の製造に用いられ、thalliumのアイソトープが診断に利用されている。

環境への放出は精錬所・火力発電所における石炭の燃焼などから年間2000kgと推定されている。thalliumの人への影響は古くから知られており、動物でも同様に観察されてきた。味、色、臭いがなく、以前は容易に入手できたため、その急性毒性を利用して、しばしば自殺や殺人、非合法的な避妊に利用された。

急性中毒の症状は年齢、投与経路および作用量に依存しているが、一日摂取耐容量は0.2あるいは0.53  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重である。致死量は6~40  $\text{mg}/\text{kg}$  であり、10~12日以内に死に至る。thallium中毒は胃腸炎、神経障害および脱毛が主な症状とみなされている。摂取後8~10時間以内で死亡した患者には、頻拍が現れ、低血圧になり、チアノーゼがみられた。致死量を摂取した後は、腸、肺、内分泌腺の出血、肝臓、心臓組織中への脂肪浸潤が現れる。

慢性中毒の場合も、症状は同様で、一般に急性毒性の場合より弱い。

thallium中毒の治療はプルシアンブルーの投与により結腸中での再吸収を阻止する。

#### 5. Acrylic Acid (1994/7/15)

acrylic acidは常温常圧で刺激臭をもつ無色の液体である。水、アルコール、ベンゼンなどに可溶で、オクタノール・水分配係数および蒸気圧は低い。1991年の生産量はアメリカ、EU、日本でそれぞれ55.4万トン、15万トン、7万トンであった。acrylic acidはethyl acrylateなどの生産の中間体として、polyacrylic acidなどの単体として、またイオン交換樹脂製造のためにethyleneとともに、最も多く利用されている。

天然には海藻や羊の胃液中に見いだされている。acrylic acidは水中で速やかに生分解され、酸化される。大気中では光化学的な作用を受け、半減期がおよそ14.6時間でヒドロキシラジカルとオゾンが生成される。

一般の人への影響の報告はないが、消費者はつや

出し、塗料、絆創膏、プラスチック中などの未反応acrylic acidから汚染される可能性がある。職業的には、吸入や皮膚・目の接触が多く、製造工場付近の住民は大気中のacrylic acidに暴露されている。経口、吸入および接触経路による急性毒性は低い。注目すべき毒性は、慢性毒性で、ラットへの150  $\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ の強制経口投与による3カ月経過後、死亡、胃潰瘍、化膿性鼻炎、腎の壊死がみられた。また、ラットの経口投与試験ではNOAELが確定していない。吸入による暴露では、ラットに対する224  $\text{mg}/\text{m}^3$  およびマウスの14.9  $\text{mg}/\text{m}^3$  以上の濃度では鼻への刺激性が見られた。

#### 6. Anticoagulant Rodenticides (1994/7/27)

このドラフトで討論されているanticoagulant(抗凝血剤)は、農業および都市のげっ歯類の駆除に主として用いられている。現在広く使用されているwarfarinが最初に製造された。anticoagulant rodenticides(抗凝血性殺鼠剤)は水にわずか溶ける結晶または粉末である。ここで扱った種類はhydroxycoumarinのタイプが9種類、indandionesのタイプが4種類である。第一世代のhydroxycoumarinは1940年代に最初に作られたが、耐性種が生じ、第二世代のhydroxycoumarinに代替された。

人への影響に関しては、軽い中毒の場合は出血しやすくなり、激しい場合には多量の出血が起きる。急性毒性の症状は数日遅れて現れることがある。anticoagulantによる中毒事故が報告され、そのいくつかは職業暴露の場合の急性中毒である。warfarinは墮胎の目的で摂取されると脊椎奇形を誘発する。

#### 7. Ethylene Dichloride(1,2-Dichloroethane) (1994/7/27)

ethylene dichloride(1,2-dichloroethane)(EDC)は室温で無色・液体の合成化合物である。非常に蒸発しやすく水に溶ける。用途は主として塩ビモノマーの合成に、またアンチノック剤としてのガソリン添加物としても使用される。年間の生産量はアメリカ、カナダでそれぞれで6318 ktおよび992 ktである。

環境への放出はほとんどが大気中であり、大気中での寿命は43~111日である。大気中の濃度は0.07~0.28  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、室内濃度は0.1~1.8  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  であり、飲料水中には0.2  $\mu\text{g}/\text{l}$  存在する。EDCは呼吸、摂取および皮膚接触から容易に吸収される。実験動物では高い急性毒性を示さない(ラットやマウスの

LD<sub>50</sub> は 413~2500 mg/kg 体重). 49~82 mg/kg 体重/日の経口投与による短期および亜急性毒性試験の結果, ラットの肝脂肪や器官の重量の増加がみられた. 発がん性については, ラットに対し 607 mg/m<sup>3</sup> の濃度で 78 週間行った吸入試験では陰性の結果が得られたが, 濃度に関係なく死亡率が高いことが特徴であった. 一方, ラットに対し 47 または 95 mg/kg 体重/日の強制経口投与を 78 週間行うと, 種々の部位に腫瘍(胃のがん腫, 血管肉腫, 皮下組織の腺腫)が増加するという結果が得られている. メスのマウスに対する経皮試験では, 肺がんの誘発も認められた. また, *in vitro* 試験で, 遺伝毒性が人を含む哺乳類の細胞で見いだされた.

#### 8. Nitrogen Oxides (1994/8/15)

6 種類の nitrogen oxides の他に, それらの前駆あるいは派生物質である nitric acid, ammonia, nitrite, nitrate, nitrogen acid, N-nitroso 化合物, peroxyacyl nitrates などについても述べている. また, 自然界の動植物および農業への影響, 労働環境で暴露された人への影響, 疫学的な調査にそれぞれ 52, 45, 50 頁を割いている.

nitrogen oxides は大気汚染物質として良く知られており, 近年世界的な汚染の進行に伴い, 野生の動植物および人への影響が注目されている. また, 特に途上国では nitrogen oxides による室内空気の汚染が深刻な問題となっている.

#### 9. Chlorinated Paraffins (1994/10/4)

chlorinated paraffins (CPs) (塩素化パラフィン) はノルマルパラフィンの塩素化によって生成される(炭素原子の結合数は通常 10~30 であり, 塩素重量比は 20~70% である). 長鎖・多塩素を除いて, 粘性があり, 無色かやや黄みを帯びた高密度のオイルである. 独特の臭いがあり蒸気圧は低い. ポリ塩化ビニルの二次可塑剤, メタルマッティング用液体の極圧添加剤, 金属加工用潤滑油および切削油などとして利用される. 潤滑油のうち 45% が環境に放出されている. 最大の消費はスウェーデンの年間 1400 トンである.

1964 年以來, アメリカでは 1972~74 年に 150 万人, 1964 年以來, デンマークでは 175 社 6 万人が職業暴露されているといわれている.

急性毒性は低く, 高濃度での単回投与の場合のみ筋肉協調運動障害などが観察された. 短い炭素鎖の CPs では皮膚と目に弱い刺激がみられた. 経口による CPs への暴露では, 肝臓および腎臓が主な標

的となり, 90 日間の暴露では, ラットおよびマウスの LOAEL はそれぞれ一日 100 mg/kg 体重および 250 mg/kg 体重であった. 他の影響としては肝臓の肥大と壊死がみられた. 腎臓では遊走腎, 器官重量の増大がみられた. 生殖毒性としては生存率の低下, 体重の減少が中位長炭素鎖 (52% 塩素) のみで観察され, 胎児毒性や催奇形性もみられた.

#### 10. Aluminosilicates (1994/10/14)

aluminosilicate 中の bentonite と fuller's earth (白土) は吸入により塵肺の原因となる. また皮膚や粘膜の刺激および結膜炎を起こす. 混合物のダストの毒性影響は含まれている結晶石英による. 100% の石英の場合, 労働環境における暴露限界として, 0.1~0.15 mg/m<sup>3</sup> が広く認められている.

illite および kaolinite はそれ自体では肺腺維症や肺がんの原因とはならない. ハンガリーでは吸入全ダストの暴露限界値を 10 mg/m<sup>3</sup> と規制している. zeolite の中の, 針状の erionite は人の発がん物質であることが証明されている. それは肺腺維症, 胸腺腺維症および石灰化に加え, 肺がん, 胸膜がんおよび腹膜中皮腫の原因となる. erionite が発がん物質とわかって以来, 吸入ダストのガイドライン値 1 mg/m<sup>3</sup> が勧告されている.

#### 11. General Principles and Methods for Chemical Safety (1994/10/20)

全体の構成は, 1. 人の健康保護における化学物質の安全性, 2. 毒性の原則, 3. 有害物質の同定, 4. リスクアセスメントに関連する要素, 5. リスクアセスメント, 6. リスク評価とリスクマネジメント関連事項となっている.

・冒頭の化学物質の安全性の定義のところでは以下のように述べている.

化学物質の安全性の核心を成している一般的な考え方は, 「化学物質には全く安全であるというものはないが, すべての化学物質は安全に使用することが可能である」であり, IPCS は化学物質の安全性を, 「化学物質の生産, 貯蔵, 輸送, 使用および廃棄によって生じる人と環境への有害な影響—短期毒性および長期毒性の双方—の予防と管理」として定義している.

・また, 人の健康に対する化学物質の安全性の管理の必要性を次のように記している.

すべての人々は, 家庭で, 職場で, あるいはまた大気中の, 食物中の, 飲料水中の天然化学物質あるいは人工的化学物質のおびただしい数に接している.



一般的には、物質の毒性は生物に危害を与える原因となる能力と定義され、科学的見地からは、「毒性のある」と「無毒な」あるいは「有害な」と「安全な」への分類は保証できない。無害な物質でも十分な量と適切な方法で与えれば生物に害を与え、また非常に有害な物質でも極めて微量であれば有害な影響は生じないであろう。このように「毒性」は、投与量あるいは吸収量、投与経路および投与時間、危害のタイプおよび程度、それに危害の現れる時間などとの関連なしには定義することはできない。

#### 12. Diazinon (1994/11/10)

diazinon は弱いエステル様の臭いをもつ無色の液体であり、蒸気圧は低く、水溶解性は室温で 40 mg/l である。酸によって急速に加水分解が進み、わずかな水の存在でも毒性の強い tetraethyl monothiopyrophosphate へと分解が促進される。diazinon は有機リン系殺虫剤として広く使用され、生産量はこの 10 年増加傾向にある。

一般人への暴露経路は吸入、経口によるものが主である。職業人では製造過程での暴露の危険性がある。農薬および動物薬として使用されており、diazinon の残留は農産物・果物などよりは肉類から検出される場合が多い。

1979 年以来製造されているが、工程が改良され副産物で毒性の高い tetraethyl pyrophosphate (TEPP) の混入割合が減り、diazinon の経口による急性毒性は、たとえばラットでは  $LD_{50}$  が 250 から 1250 mg/kg 体重と弱くなった。腹腔内投与試験による  $LD_{50}$  は 260 mg/kg で、吸入による急性毒性は  $LC_{50}$  が 2330 mg/m<sup>3</sup> 以上であった。ウサギによる試験では若干の皮膚刺激性があり、また鶏卵で催奇形性の徴候がみられた。

人への影響では、diazinon が呼吸によってあるいは消化管から吸収され、嘔吐、めまい、腹痛などの症状が現れる。

人の健康へのリスク評価として、diazinon は弱い毒性をもつ有機リン系殺虫剤であるが、複数回の暴露によってコリンエステラーゼ活性に対し蓄積作用がみられるとしている。残留農薬の MRL (Maximum Residue Levels) は、穀類中に 0.05 mg/kg、他の野菜類では 0.5 mg/kg、脂肪中に 0.07 mg/kg とされている。

#### 13. Di-n-butyl Phthalate (1994/12/1)

フタル酸エステルである dibutyl phthalate (DBP) は、無色の油状液体であり、蒸気圧は 0.01 Pa

(25℃)、オクタノール・水分配係数は 4.31 から 4.79 の間、水溶解性は 10 mg/l である。発生源の大部分は人為起源である。アメリカにおける生産施設からの放出は約 254 トン (1989 年) と推定され、この内 56% が地下に投入され、42% が大気中に直接放出されたと考えられる。DBP はポリビニルの乳化可塑剤に主として利用され、接着剤、ラッカーや紙などのコーティング剤中に使用される。

急性毒性は低くラットの経口による  $LD_{50}$  は 8 g/kg 体重であった。マウスに対する短期毒性試験では、ラットの肝臓中のペルオキシソームの増殖がみられた。長期毒性試験では、2300 mg/kg 体重/日以上の経口投与量で 7 カ月間暴露のラットの体重が減少し、肝臓のペルオキシソームの増殖がみられた。メスのマウスでは 98 日間の生殖毒性試験で、1300 mg/kg 体重/日の経口投与では出産可能なつがいの数が減り、1 腹当たりの生存する子供の数も減少した。

一般人への影響は、デオドラントスプレーでわきの下に赤い痒疹を生じた例があった。職業暴露では 10 g の DBP を飲んだ 23 歳の健康な男性が急性中毒にかり、悪心、嘔吐、およびめまいの症状があったが、2 週間ではほぼ回復し、1 カ月で完治した。

#### 14. Xylenes (1994/12/1)

xylene は ortho-, meta-, para-xylene の 3 異性体を持ち、室温で芳香があり、蒸気圧は 0.66~0.86 kPa (20℃) の揮発し易い無色の液体である。市販品は 60~70% の m-xylene を含む 3 異性体の混合物である。世界の生産量は 1543 万トン (1984 年) であり、混合 xylene はガソリンに添加されたり、有機溶媒として特に塗料および印刷インク工業で利用されている。

大気中で急速に分解される。水中での毒性は弱く、無脊椎動物の  $LC_{50}$  の最も小さいものは淡水で 1 mg/l、海水では 7.6 mg/l であった。

急性および慢性毒性は比較的低い。人への主な影響は粘膜組織および目への刺激、神経系への影響であり、吸入による LOEL は 200 ppm である。人の NOEL は 150 ppm 程度と考えられる。動物試験による妊娠中の遅発成育に関する NOEL はおよそ 150 ppm である。

#### 15. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) (1995/3/29)

多環芳香族炭化水素 (PAH) とは、通常 2 コ以上の芳香族縮合環を持ち、炭素と水素原子から成る

有機化合物で、数百の PAH が同定されているが、このモノグラフの中では、毒性学的あるいは暴露データの有無によって 33 物質が取り上げられている。

室温で PAH は固体である。一般に高い融点と沸点をもち蒸気圧は小さく水溶性も低い（分子量の増加とともに溶解性は減る傾向にある）。化学的にはむしろ不活性化化合物である。

人への影響の中で、衣類の防虫に使われる naphthalene 以外は、環境、人、職場等での影響は非常に複雑であり、純粋の PAH についてはボランティアによる科学的な実験に限られている。皮膚への作用は、anthracene, fluoranthene, phenanthrene では著しい皮膚反応を示し、benzo(a)pyrene では“腫瘍性細胞の増殖”に分類できる可逆性かつ退行性のいぼが見られた。naphthalene では全身への影響が知られており、LD<sub>50</sub> は大人で 5000~15000 mg、子供で 2000 mg である。皮膚および経口による暴露後の典型的な影響は、急性溶血性貧血であった。

PAH を含むタバコの煙は肺腫瘍のもっとも重要な一つの要因であることは一般によく知られている。喫煙に関係して他のがんの発生率が上昇し、他のがんとして血液の腫瘍、腎盂腫瘍、口腔および咽頭がんがあげられる。人のがんに対する食餌による PAH の寄与率は 30% 以下である。

PAH 混合物のリスクは疫学的な研究から推定されている。コークス燃焼炉の労働者は相対的ながんのリスクが  $15.7 \times 10^{-5}$  まで上昇している。一般の人の生涯リスクは、 $1 \text{ ng(B)P/m}^3$  につき、 $7 \times 10^{-5}$  と推測されている。

#### 16. White Spirits (揮発油) (1995/3/29)

揮発油は、飽和脂肪族あるいは脂環式炭化水素 (C<sub>7</sub>~C<sub>12</sub>) と、15~20% の芳香族炭化水素 (C<sub>7</sub>~C<sub>12</sub>) の混合物である。抽出溶媒、ペイントや木材保護剤等の製品の溶媒に使われている。1985 年にアメリカで 71.7 万トン販売され、1986 年に西ヨーロッパで 75 万トン消費されている。揮発油の臭いの閾値は非常に低く、蒸気は  $0.5 \sim 5 \text{ mg/m}^3$  の濃度で検出される。目の刺激の閾値は急性暴露で  $600 \text{ mg/m}^3$  と低い。高濃度では、吸入による刺激と目の刺激が顕著に現れる。口からの摂取は、痛み、嘔吐および下痢を伴う胃腸への刺激を引き起こす。食道や胃腸管の粘膜障害も起きる。

長期毒性は記憶障害、疲労、集中力の欠損などのような神経症状の発生率が増加する。揮発油に暴露された画家に、長期毒性の慢性脳疾患の疑いがある

という、臨床研究データが得られている。

#### 17. Chrysotile Asbestos (1995/3/29)

これまでに関連物質の EHC (No. 53 (1986), No. 77 (1988), No. 151 (1993)) が出版されているが、当 EHC は No. 53 「Asbestos and Other Natural Mineral Fibres」をアップデートしたものである。したがって重複を省く構成・内容となっている。

世界の生産量は 1970 年中頃より減少し、1992 年は 310 万トンであった。旧ソ連およびロシアが突出して多い。アスベストの大部分は、アスベストセメントやアスベスト含有ブロックなどの切断・孔開け、あるいは解体の時に放出される。

市販の chrysotile asbestos の人への影響評価は広く行われているが、crocidolite と amosite は混合物として扱われている。市販の chrysotile は、測定されていない細かくさまざまな amphibole (角閃石) 繊維、主に tremolite を含んでいる。天然由来の汚染物、特に mesothelioma に関して、健康への影響については現在わかっていない。

chrysotile 繊維に相応の濃度と期間で暴露されると肺がんを誘発することが明らかであるので、原因と影響の関連についての定量的な知見が報告されている。chrysotile の蓄積暴露と肺腺腫による機能障害の徴候および放射線写真との間に直接的な関係があった。chrysotile 関連の労働者は最も高い死亡率を示し、1000 人以上の調査では、50 年以上にわたり  $1 \text{ ml}$  当たりおよそ 3~6 本の繊維に暴露されると、1% のリスクで重大な病気にかかることがわかった。

この一年間に出版された EHC と HSG 一覧

EHC No. 151 : Selected Synthetic Organic Fibres

EHC No. 152 : Polybrominated Biphenyls

EHC No. 153 : Carbaryl

EHC No. 154 : Acetonitrile

EHC No. 155 : Biomarkers and Risk Assessment:  
Concepts and Principles

EHC No. 156 : Hexachlorobutadiene

EHC No. 157 : Hydroquinone

EHC No. 158 : Amitrole

EHC No. 159 : Glyphosate

EHC No. 160 : Ultraviolet Radiation

EHC No. 161 : Phenol

EHC No. 162 : Brominated Diphenyl Ethers

EHC No. 163 : Chloroform

HSG No. 78 : Carbaryl

HSG No. 79 : Methamidophos

HSG No. 84 : Hexachlorobutadiene

HSG No. 80 : Monocrotophos

HSG No. 85 : Amitrole

HSG No. 81 : Benomyl

HSG No. 89 : Triallate

HSG No. 83 : Polybrominated Biphenyls

## 平成6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

石光 進・梅本美佳・三島郁子・辻 澄子・柴田 正

Estimated Production by the Official Inspection of Coal-Tar  
Dyes (including Dye Aluminum Lakes) in 1994.Susumu Ishimitsu, Mika Umemoto, Ikuko Mishima,  
Sumiko Tsuji and Tadashi Shibata

The number of official inspection of coal-tar dyes and their lakes from April in 1994 till March in 1995 were 635 in total.

The quantity which passed inspection amounted to 186 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% in this period.

**Keywords** : food color, coal-tar dye, official inspection, production

(Received May 31, 1995)

わが国の食用タール色素は、平成3年1月に食用赤色40号およびそのアルミニウムレーキが追加され、現在はタール色素12品目が食品衛生法施行規則別表第2の食品添加物として指定されており、その販売等に当たって製品検査が必要とされている。

わが国における食用タール色素の製品検査はすべて大阪支所食品試験部で行われている。したがって、食用タール色素の需要の状況は、この色素が国の製品検査の対象になっていることから、明確に把握することが出来る。ここ数年に限れば検定数量は品種によって多少のばらつきはあるが、ほとんど横這いである。アメリカの場合もFDAによる検定制度になっており、その数量が把握できる。平成5年度に合わせて比較すると、原色素が約3049トン、レーキ色素が約1032トンと、わが国の19倍近くの量である。

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医薬品、化粧品、食品の包装材料、アルミニウム食器、文具、玩具、浴用剤等に用いられるが、大部分は食品添加物として使用されている。

平成6年4月1日から平成7年3月31日までに申請された635検体について、各色素別に月別およ

び製造社別の許可量統計を作成した。尚、検体の内訳は、赤色2号：7、赤色3号：33、赤色40号：2、赤色102号：124、赤色104号：16、赤色105号：1、赤色106号：23、黄色4号：254、黄色5号：111、青色1号：32、青色2号：4、赤色3号レーキ：4、黄色4号レーキ：93、黄色5号レーキ：7、青色1号レーキ：7、青色2号レーキ：1検体であった。

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5年度(前年度)<sup>1)</sup>と比較すると総量では213トンから186トンと27トン(約13%)減少した。主な要因は食用黄色4号が16.0トン、食用赤色102号が6.8トン、食用赤色3号が2.8トンが減少したためである。製造社は8社から9社に増えたが、全体の製造量は減少した。

各色素別では製造量の多いものから食用黄色4号、食用赤色102号、食用黄色5号、食用赤色3号、食用青色1号であり、前年度と順位は変わらなかった。また、食用緑色3号、食用赤色2号レーキ、食用赤色40号レーキおよび食用緑色3号レーキは製造されなかった。

色素別製造量では、第1位の食用黄色4号が91.7トン(42.9%)から75.7トン(40.7%)、第2位の食用赤色102号は44.0トン(20.6%)から37.2ト

表1 平成6年度 食用色素月別許可量

(単位: kg)

| 食用色素名   | 平成7年  |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       | 平成6年度  |       | 平成5年度   |        |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|---------|--------|
|         | 申請月   | 4月    | 5月    | 6月    | 7月    | 8月    | 9月    | 10月   | 11月   | 12月   | 1月    | 2月    | 3月     | 合計    | 色別比率(%) | 合計     |
| 赤色2号    | ---   | ---   | 300   | ---   | ---   | 600   | 300   | ---   | ---   | ---   | 600   | 300   | 2100   | 1.13  | 3380    | 1.58   |
| 赤色3号    | 1200  | 600   | ---   | 1200  | 15    | 600   | ---   | 850   | 600   | 900   | 900   | 1045  | 9410   | 5.06  | 12165   | 5.69   |
| 赤色4号    | ---   | ---   | ---   | ---   | 200   | ---   | ---   | ---   | 120   | ---   | ---   | ---   | 320    | 0.17  | 415     | 0.19   |
| 赤色102号  | 3600  | 300   | 2400  | 6000  | 1800  | 2100  | 2400  | 3600  | 2700  | 3900  | 3250  | 5100  | 37150  | 19.97 | 43997   | 20.58  |
| 赤色104号  | 900   | ---   | ---   | 1350  | 300   | 300   | ---   | ---   | ---   | 300   | 400   | 300   | 4380   | 2.35  | 3920    | 1.83   |
| 赤色105号  | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | 250   | ---   | 250    | 0.13  | 350     | 0.16   |
| 赤色106号  | 460   | ---   | ---   | 620   | 300   | 900   | 760   | ---   | 300   | 660   | 435   | 160   | 5255   | 2.82  | 6260    | 2.93   |
| 黄色4号    | 8950  | ---   | ---   | 8100  | 5100  | 7200  | 9240  | 2700  | 4440  | 8400  | 11400 | 6000  | 75730  | 40.70 | 91723   | 42.91  |
| 黄色5号    | 3300  | 1620  | 1800  | 7045  | 1500  | 2100  | 1800  | 2680  | 4106  | 1800  | 2100  | 2950  | 32801  | 17.63 | 32390   | 15.43  |
| 緑色3号    | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | 0      | 0     | 0       | 0      |
| 青色1号    | 1500  | ---   | ---   | 600   | 300   | 1200  | 300   | 800   | 600   | 600   | 1100  | 1200  | 9400   | 5.05  | 7895    | 3.69   |
| 青色2号    | -200  | ---   | ---   | ---   | ---   | 300   | 300   | ---   | 300   | ---   | ---   | ---   | 1100   | 0.59  | 960     | 0.45   |
| 赤色2号レーキ | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | 0      | 0     | 0       | 0      |
| 赤色3号レーキ | ---   | ---   | ---   | ---   | 174   | 300   | 300   | ---   | ---   | 300   | ---   | ---   | 1074   | 0.58  | 1100    | 0.51   |
| 赤色4号レーキ | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | 0      | 0     | 0       | 0      |
| 黄色4号レーキ | 300   | ---   | ---   | 600   | 300   | ---   | 300   | ---   | 600   | 300   | ---   | 300   | 2700   | 1.45  | 3700    | 1.73   |
| 黄色5号レーキ | 300   | ---   | ---   | 600   | ---   | ---   | ---   | 300   | ---   | 600   | 300   | ---   | 2100   | 1.13  | 2772    | 1.30   |
| 緑色3号レーキ | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | 0      | 0     | 0       | 0      |
| 青色1号レーキ | ---   | ---   | ---   | 600   | ---   | 300   | 300   | ---   | 300   | ---   | ---   | 500   | 2000   | 1.07  | 1825    | 0.85   |
| 青色2号レーキ | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | ---   | 300   | ---   | 300    | 0.16  | 300     | 0.14   |
| 合計      | 20710 | 2520  | 27015 | 9989  | 15900 | 16000 | 10930 | 13166 | 18060 | 21110 | 13315 | 17355 | 186070 | ---   | ---     | ---    |
| 月別比率(%) | 11.13 | 1.35  | 14.52 | 5.37  | 8.55  | 8.60  | 5.87  | 7.08  | 9.71  | 11.35 | 7.16  | 9.33  | 100.00 | ---   | ---     | ---    |
| 前年度合計   | 32160 | 18900 | 9000  | 23600 | 15665 | 12362 | 16855 | 13610 | 17468 | 11912 | 17167 | 25053 | ---    | ---   | 213752  | ---    |
| 月別比率(%) | 15.05 | 8.84  | 4.21  | 11.04 | 7.33  | 5.78  | 7.89  | 6.37  | 8.17  | 5.57  | 8.03  | 9.45  | ---    | ---   | ---     | 100.00 |

表2 平成6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  |       |       |      |       |      |      |      |      |      |
|-----------|-------|-------|-------|------|-------|------|------|------|------|------|
|           | A     | B     | C     | D    | E     | F    | G    | H    | I    |      |
| 赤色2号      | 1200  | 300   | 600   | ---  | ---   | ---  | ---  | ---  | ---  | ---  |
| 赤色3号      | 4910  | 900   | ---   | 1800 | 300   | 1500 | ---  | ---  | ---  | ---  |
| 赤色40号     | 120   | ---   | 200   | ---  | ---   | ---  | ---  | ---  | ---  | ---  |
| 赤色102号    | 10750 | 13800 | 2700  | 600  | 7200  | 1800 | ---  | 300  | ---  | ---  |
| 赤色104号    | 250   | 2700  | ---   | ---  | ---   | 1200 | 230  | ---  | ---  | ---  |
| 赤色105号    | ---   | ---   | ---   | ---  | ---   | ---  | 250  | ---  | ---  | ---  |
| 赤色106号    | 1575  | 2700  | ---   | 300  | 280   | 400  | ---  | ---  | ---  | ---  |
| 黄色4号      | 33180 | 26700 | 7800  | 300  | 6000  | 1500 | ---  | 250  | ---  | ---  |
| 黄色5号      | 19051 | 5100  | 2400  | 4500 | 1500  | 250  | ---  | ---  | ---  | ---  |
| 緑色3号      | ---   | ---   | ---   | ---  | ---   | ---  | ---  | ---  | ---  | ---  |
| 青色1号      | 4700  | 3000  | 300   | ---  | 900   | 200  | ---  | ---  | ---  | 300  |
| 青色2号      | 300   | 300   | 300   | ---  | ---   | 200  | ---  | ---  | ---  | ---  |
| 赤色2号レーキ   | ---   | ---   | ---   | ---  | ---   | ---  | ---  | ---  | ---  | ---  |
| 赤色3号レーキ   | ---   | ---   | ---   | ---  | ---   | ---  | ---  | ---  | ---  | ---  |
| 赤色40号レーキ  | 1974  | ---   | ---   | ---  | ---   | ---  | ---  | ---  | ---  | ---  |
| 黄色4号レーキ   | ---   | ---   | ---   | ---  | ---   | ---  | ---  | ---  | ---  | ---  |
| 黄色5号レーキ   | 2400  | 300   | ---   | ---  | ---   | ---  | ---  | ---  | ---  | ---  |
| 緑色3号レーキ   | 1800  | 300   | ---   | ---  | ---   | ---  | ---  | ---  | ---  | ---  |
| 青色1号レーキ   | ---   | ---   | ---   | ---  | ---   | ---  | ---  | ---  | ---  | ---  |
| 青色2号レーキ   | 1700  | 300   | ---   | ---  | ---   | ---  | ---  | ---  | ---  | ---  |
| 合計        | 83310 | 56400 | 14800 | 7500 | 16180 | 7050 | 480  | 550  | 300  | 300  |
| 製造社別比率(%) | 44.77 | 30.31 | 7.69  | 4.03 | 8.70  | 3.79 | 0.26 | 0.30 | 0.16 | 0.16 |
| 前年度合計     | 86727 | 68670 | 20145 | 9750 | 20930 | 6880 | 450  | 200  | 0    | 0    |
| 製造社別比率(%) | 40.57 | 32.13 | 9.42  | 4.56 | 9.79  | 3.22 | 0.21 | 0.09 | 0.00 | 0.00 |

ン (20.0%) に減少した。

製造社別では製造量の多い順に A, B, E, C, D, F 社であり, 平成5年度と順位に変動はなかった。

また, 製造量では A 社が 83.3 トン (44.8%) と最も多く, ついで B 社 56.4 トン (30.3%), E 社 16.2 トン (8.7%), C 社 14.3 トン (7.7%) であった。

## 文 献

- 1) 石光 進, 木村実加, 梅本美佳, 辻 澄子, 柴田正, 伊藤啓志男: 平成5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. 衛生試験, **112**, 152~154 (1994)

## 国立衛生試験所エルゴカルシフェロール標準品 (Control 941)

北島 文・前川京子・吉井公彦・小松裕明  
谷本 剛・岡田敏史

## Ergocalciferol Reference Standard (Control 941) of the National Institute of Health Sciences

Aya Kitajima, Keiko Maekawa, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu,  
Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada

The raw material for ergocalciferol was tested for preparation of the "Ergocalciferol Reference Standard (Control 941)". Analytical data obtained were as follows: melting point, 117.6°C; UV and infrared spectra, the same as those for JP Cholecalciferol Reference Standard; specific absorbance,  $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 458$  (265 nm); thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography (HPLC), no impurities were detected, respectively; assay, 100.6% by HPLC.

Based on the above results, the candidate raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Reference Standard (Control 941).

**Keywords** : ergocalciferol, quality evaluation, authorization, JP reference standard

(Received May 31, 1995)

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 941) を製造したので報告する。

### 1. 標準品原料

Duphar 社 (オランダ) より、カリ・デュファー<sup>(株)</sup> および第一製薬<sup>(株)</sup> を介し、本標準品原料を購入した。本品は、あらかじめ高純度のエルゴカルシフェロールの所定量をアンプル中に小分け・充填し、窒素置換した後、溶封されたものである。

### 2. 参照物質および試薬

第十二改正日本薬局方エルゴカルシフェロール標準品 (Control 921; 日局標準品と略称する)<sup>1)</sup> を対照に試験を行った。試薬は特級品または特級相当品を用いた。

### 3. 装 置

本品の品質評価試験にあたり、以下の測定装置を用いた: 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), 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 型データ処理装置および恒温水槽 (東洋科学, TE-104S 型) 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薄層板シリカゲル 60F<sub>254</sub> (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約 10 mg を精密に量り, それぞれにクロロホルム 1 ml を正確に加えて溶かし, 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 0.2~10  $\mu\text{l}$  (エルゴカルシフェロール 0.01~100  $\mu\text{g}$  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<sup>2)</sup>。

(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ずつを精密に量り、それぞれにイソオクタン4 mlを正確に加えて溶かし、試料溶液および標準溶液とする。これらの液10  $\mu$ lにつき、次の条件で液体クロマトグラフ法による試験を行った。

## 操作条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：254 nm）  
 カラム：Chemcosorb 5Si（4.0 mm $\phi$ ×150 mL）  
 移動相：ヘキサン・*n*-アミルアルコール混液（997：3）

流量：1.2 ml/min

カラム温度：20℃

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を調整する。さらに、この条件で、試料注入量の1/2000に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの面積が必ず検出されるように分析パラメーターを設定する<sup>3)</sup>。

面積測定範囲：溶媒ピークの後、エルゴカルシフェロールの保持時間の2倍の範囲

## 5. 試験結果

(1) 性状：白色の結晶で、においはない。

融点：117.6℃

(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458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、本品の比吸光度=458は日局規格に適合する。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：

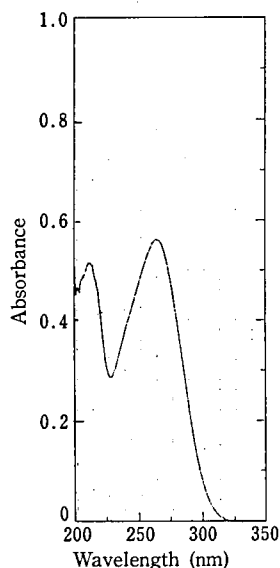


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum for the candidate Ergocalciferol Reference Standard

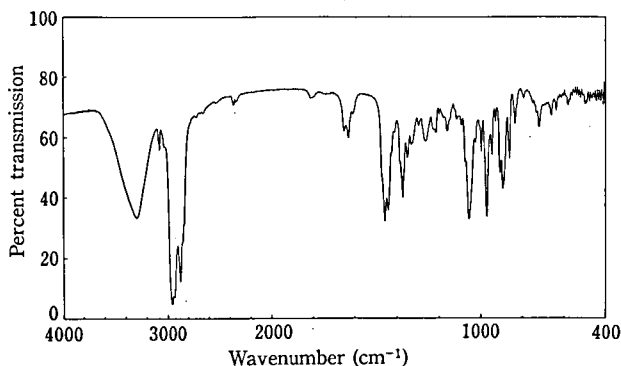


Fig. 2. Infrared absorption spectrum for the candidate Ergocalciferol Reference Standard

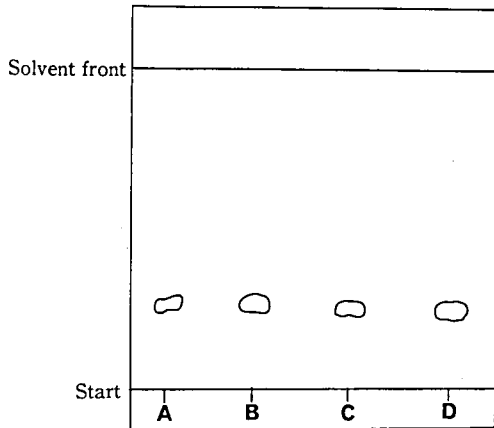


Fig. 3. Thin-layer chromatogram for the candidate ergocalciferol and JP Ergocalciferol Reference Standard

Solvent system: cyclohexane·diethyl-ether (1 : 1)

Spot: A and B are 50  $\mu\text{g}$  and 100  $\mu\text{g}$  of the candidate ergocalciferol, respectively. C and D are 50  $\mu\text{g}$  and 100  $\mu\text{g}$  of the JP Ergocalciferol Reference Standard, respectively.

Detection: after spraying sulfuric acid upon the plate, heat the plate at 100°C for 5 min.

(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  $\mu\text{g}$  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 0.08  $\mu\text{g}$  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、 $100.6 \pm 0.88\%$  ( $n=3$ ) 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を日局標準品を対照に比較検討した結果、本候補品は、液体クロマトグラフ法による定量分析および

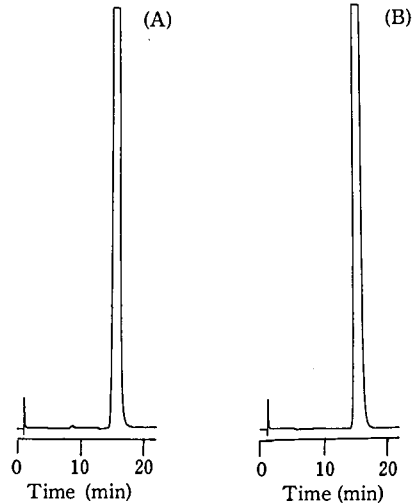


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms for the candidate ergocalciferol and the JP Ergocalciferol Reference Standard

(A): the candidate ergocalciferol

(B): the JP Ergocalciferol Reference Standard

HPLC conditions: column, chemcosorb 5Si (4.0 mm $\phi$   $\times$  150 mmL); column temp., 20°C; mobile phase, hexane·n-amylalcohol (997 : 3); flow rate, 0.7 ml/min; detection wavelength, 254 nm

赤外吸収スペクトル測定法による確認試験のための標準品として十分な品質を有することが明らかとなったので、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）として製造・配布することとした。

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カリ・デュファー(株)および第一製薬(株)に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 泉 若江, 北島 文, 吉井公彦, 小松裕明, 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 921), 衛生試験報, **111**, 127 (1993)
- 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 941)

北島 文・前川京子・吉井公彦・小松裕明  
谷本 剛・岡田敏史

Cholecalciferol Reference Standard (Control 941) of the National  
Institute of Health Sciences

Aya Kitajima, Keiko Maekawa, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu,  
Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada

The raw material for cholecalciferol was tested for preparation of the "Cholecalciferol Reference Standard (Control 941)". Analytical data obtained were as follows: melting point, 88.5°C; UV and infrared spectra, the same as those for JP Cholecalciferol Reference Standard (Control 923), respectively; specific absorbance at 265 nm  $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 471$ ; optical rotation,  $[\alpha]_D^{20} = +107.3^\circ$ ; thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography (HPLC), no impurities were detected, respectively; assay, 101.3% by HPLC.

Based on the above results, the candidate raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Reference Standard (Control 941).

**Keywords** : cholecalciferol, quality evaluation, authorization, JP reference standard

(Received May 31, 1995)

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 941) を製造したので報告する。

#### 1. 標準品原料

Duphar 社 (オランダ) より、カリ・デュファー<sup>(株)</sup> および第一製薬<sup>(株)</sup> を介し、本標準品原料を購入した。本品は、あらかじめ高純度のエルゴカルシフェロールの所定量をアンプル中に小分け・充填し、窒素置換した後、溶封されたものである。

#### 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 923; 日局標準品と略称する)<sup>1)</sup> を対照に試験を行った。試薬は特級品または特級相当品を用いた。

#### 3. 装置

本品の品質評価試験にあたり、以下の測定装置を用いた: 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 型データ処理装置および恒温水槽 (東洋科

学, TE-104S 型) 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ッド薄層板シリカゲル 60F<sub>254</sub> (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 10 mg を精密に量り、それぞれにクロロホルム 1 ml を正確に加えて溶かし、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 0.2~10  $\mu\text{l}$  (コレカルシフェロール 0.01~100  $\mu\text{g}$  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<sup>2)</sup>。

(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 ずつを精密に量り、それぞれにイソオクタン 4 ml を正確に加えて溶か

し、試料溶液および標準溶液とする。これらの液 10  $\mu$ lにつき、次の条件で液体クロマトグラフ法による試験を行った。

#### 操作条件

検出器：紫外吸光度計（測定波長：254 nm）

カラム：Chemcosorb 5Si (4.0 mm $\phi$ ×150 mmL)

移動相：ヘキサン・*n*-アミルアルコール混液 (997:3)

流量：1.2 ml/min

カラム温度：20℃

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を調整する。さらに、この条件で、試料注入量の1/2000に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの面積が必ず検出されるように分析パラメーターを設定する<sup>3)</sup>。

#### 5. 試験結果

(1) 性状：白色の結晶で、においはない。

融点：88.5℃

(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471であった。日局「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471は日局規格に適合する。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： $[\alpha]_D^{20} = +107.3^\circ$  (0.05 g, エタノール, 1000 ml)。日局「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、本品の旋光度は日局規格に適合する。

(5) 純度試験：

(a) TLC法 本品および日局標準品の薄層クロ

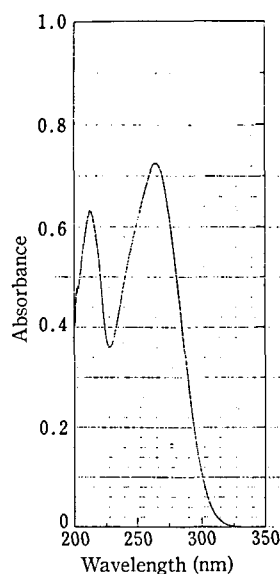


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum for the candidate Cholecalciferol Reference Standard

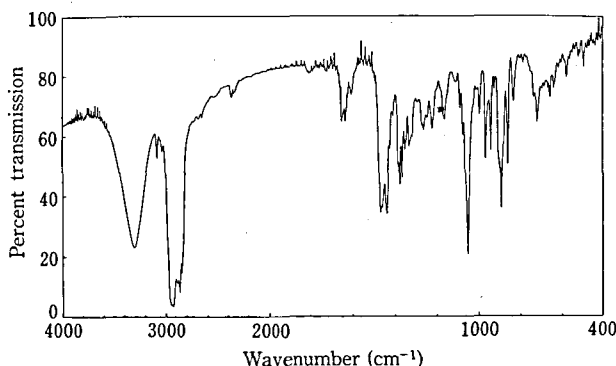


Fig. 2. Infrared absorption spectrum for the candidate Cholecalciferol Reference Standard

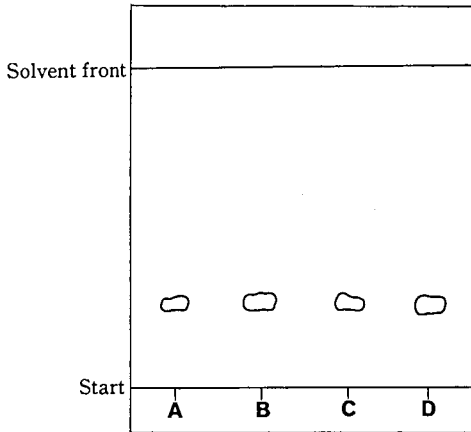


Fig. 3. Thin-layer chromatogram for the candidate cholecalciferol and the JP Cholecalciferol Reference Standard

Solvent system: cyclohexane·diethylether (1 : 1)

Spot: A and B are 50  $\mu\text{g}$  and 100  $\mu\text{g}$  of the candidate cholecalciferol, respectively. C and D are 50  $\mu\text{g}$  and 100  $\mu\text{g}$  of the JP Cholecalciferol Reference Standard, respectively.

Detection: after spraying sulfuric acid upon the plate, heat the plate at 100°C for 5 min.

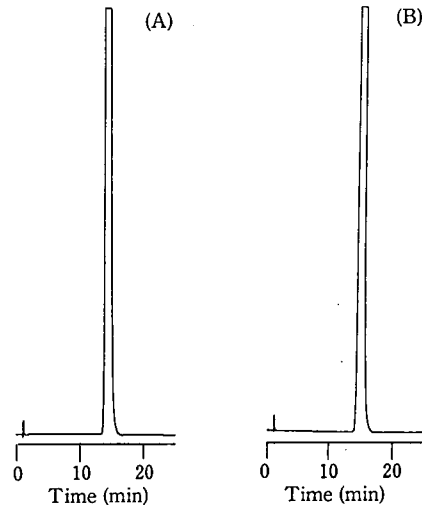


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms for the candidate cholecalciferol and the JP Cholecalciferol Reference Standard

(A): the candidate cholecalciferol

(B): the JP Cholecalciferol Reference Standard

HPLC conditions: column, chemcosorb 5Si (4.0 mm $\phi$ ×150 mmL); column temp., 20°C; mobile phase, hexane·n-amylalcohol (997 : 3); flow rate, 0.7 ml/min; detection wavelength, 254 nm

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 0.08  $\mu\text{g}$  であり、エルゴカルシフェロールと同様であった。

(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、いずれ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: 日局「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、101.3 $\pm$ 0.62% (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、本候補品は、液体クロマトグラフ法による定量分析および赤

外吸収スペクトル測定法による確認試験のための標準品として十分な品質を有することが明らかとなったので、国立衛生試験所コレカルシフェロール標準品(日本薬局方標準品)として製造・配布することとした。

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カリ・デュファー(株)および第一製薬(株)に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 泉 若江, 北島 文, 吉井公彦, 小松裕明, 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 921), 衛生試験報, **111**, 130 (1993)
- 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)

## 国立衛生試験所酢酸プレドニゾロン標準品 (Control 941)

北島 文・前川京子・吉井公彦・小松裕明  
谷本 剛・岡田敏史

## Prednisolone Acetate Reference Standard (Control 941) of the National Institute of Health Sciences

Aya Kitajima, keiko Maekawa, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu,  
Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada

The raw material for prednisolone acetate was tested for preparation of the "Prednisolone Acetate Reference Standard (Control 941)". Analytical data obtained were as follows: melting point, 237.5°C (decomposition); UV and infrared spectra, the same as those for JP Prednisolone Acetate Reference Standard (Control 903), respectively; specific absorbance at  $\lambda_{\max}$   $E_{1\%}^{1\text{cm}}=379$ ; optical rotation,  $[\alpha]_D^{20}=+115.2^\circ$ ; thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography (HPLC), no impurities were detected, respectively; assay, 100.8% by HPLC.

Based on the above results, the candidate material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Reference Standard (Control 941).

**Keywords** : prednisolone acetate, quality evaluation, authorization, JP reference standard

(Received May 31, 1995)

日局「酢酸プレドニゾロン」の確認試験と定量法および「プレドニゾロン」の純度試験に用いられる国立衛生試験所酢酸プレドニゾロン標準品のロットの更新を行い、Control 941として製造したので報告する。

本品の製造および品質評価にあたっては、(株)日本点眼薬研究所の協力を仰いだ。

### 1. 原料

本標準品原料は、(株)日本点眼薬研究所において精製されたものであり、同社より供与された。

### 2. 参照物質および試薬

第十二改正日本薬局方酢酸プレドニゾロン標準品 (Control 903; 日局標準品と略称する)<sup>1)</sup>を対照に試験を行った。別に、日局プレドニゾロン標準品、日局酢酸コルチゾン標準品および日局酢酸ヒドロコルチゾン標準品を用いた。その他の試薬類は JIS 特級品および特級相当品を用いた。

### 3. 装置

本標準品原料の品質評価試験にあたり、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, FT-IR VALOR-III), 融点測定器 (宮本理研, PA-20S 型)。また、液体クロマトグラフ (HPLC) 装置は島津製作所製の LC-6A 型送液ポンプ, 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

特に記すものの他は、第十二改正日本薬局方の一般試験法および医薬品各条「酢酸プレドニゾロン」の試験法を準用した。

#### 4.1 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 60F<sub>254</sub> (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 (470:50:1), 試料溶液：本品 20.0 mg を正確に量り, クロロホルム・メタノール混液 (9:1) 1 ml を加えて溶かし, 試料溶液とする。標準溶液：プレドニゾロン標準品, 酢酸コルチゾン標準品および酢酸ヒドロコルチゾン標準品の 0.2 mg/ml 溶液を調整し, 標準溶液とする。操作法：標準溶液 5  $\mu$ l (各標準品とも 1  $\mu$ g 相当量) および試料溶液とその希釈液 1~30  $\mu$ l (0.02~100  $\mu$ g 相当量) を薄層板にスポットし, 約 10 cm 展開した後, 風乾する。この薄層板に紫外線 (主波長 254 nm) を照射し, 不純物スポットの有無を観察する。

#### 4.2 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 10.0 mg ずつを正確に量

り、それぞれにメタノールを加えて溶かし、正確に10 mlとし、試料溶液および標準溶液とする。これらの液10  $\mu$ lにつき、次の条件で液体クロマトグラフ法による試験を行う。

#### 操作条件

検出器：紫外吸光度計（測定波長：254 nm）

カラム：Inertsil ODS-2 (4.6 mm $\phi$ ×150 mm)

カラム温度：30℃付近の一定温度

移動相：水・アセトニトリル混液（3：2）

流量：0.7 ml/min

カラムの選定：標準溶液10  $\mu$ lにつき、上記の条件で操作するとき、酢酸プレドニゾン、内標準物質の順に溶出し、その分離度が10以上のものを用いる。

検出感度：試料注入量の1%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1/10の高さになるように検出器およびデータ処理装置の感度を調整する。さらに、この条件で試料注入量の0.05%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検出感度を調整した<sup>2)</sup>。

面積測定範囲：溶媒ピークの後、酢酸プレドニゾンの保持時間の2倍の範囲

#### 4.3 液体クロマトグラフ法および吸光度測定法による定量

(a) HPLC法 日局「酢酸プレドニゾン」の定量法を準用する。

(b) 吸光度測定法 日局標準品を対照に吸収極大波長243 nmにおける吸光度を測定し、吸光度測定法により定量試験を行った。試験操作法は以下のとおりである。

本品および日局標準品を乾燥し、その約0.01 gずつを精密に量り、それぞれにメタノールを加えて溶かし、正確に100 mlとする。これらの液2 mlを正確に量り、メタノールを加えて正確に20 mlとし、試料溶液および標準溶液とする。試料溶液および標準溶液につき、吸光度測定法により試験を行い、波長243 nmにおける吸光度 $A_T$ および $A_S$ を測定する。

酢酸プレドニゾン ( $C_{23}H_{30}O_6$ ) の量 (mg)

$$= \text{酢酸プレドニゾン標準品の量 (mg)} \times \frac{A_T}{A_S}$$

#### 5. 試験結果

(1) 性状：白色の結晶性粉末で、においはない。融点237.5℃（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244 nmに吸収の極大が認められた。この吸収極大波長における比吸光度 $E_{1\%}^{1cm}$ は379であった。本品の紫外吸収スペクトルの一例を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。本品の赤外吸収スペクトルの一例をFig. 2に示す。

#### (4) 旋光度

本品の比旋光度は、 $[\alpha]_D^{25} = +113.0^\circ$ （乾燥後、0.1 g, ジオキサン, 10 ml, 100 mm）であった（日局規格： $[\alpha]_D^{25} : +112 \sim +119^\circ$ ）。

#### (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に示した。スポット量100  $\mu$ gにおいて、本品では不純物スポットは観察されなかったが、日局標準品で微量不純物スポット1個が検出された。なお、本法による酢酸プレドニゾンの検出限界は0.6  $\mu$ gであった。

(b) HPLC法 本品および日局標準品の液体ク

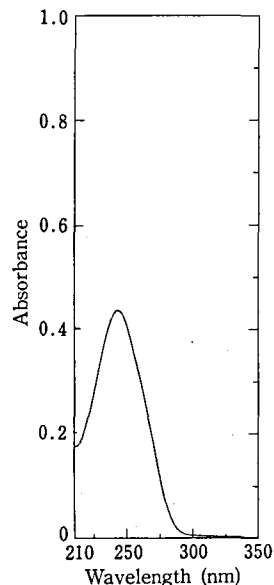


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum for the candidate Predonisolone Acetate Reference Standard

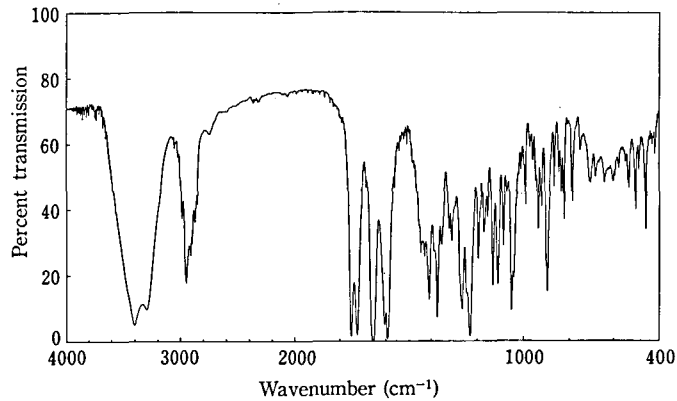


Fig. 2. Infrared absorption spectrum for the candidate Prednisolone Acetate Reference Standard

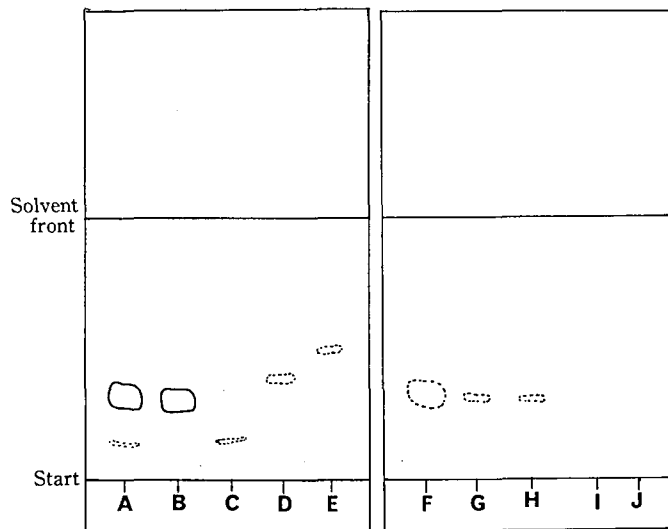


Fig. 3. Thin-layer chromatograms for the candidate prednisolone acetate and the JP Prednisolone Acetate Reference Standard

Solvent system: a mixture of 1,2-dichloroethane-methanol-water (470 : 50 : 1)

Spot: B, F, G, H, I and J are the candidate prednisolone acetate, at the concentrations of 100, 6, 1, 0.6, 0.1 and 0.02  $\mu\text{g}$ , respectively.

A is 100  $\mu\text{g}$  of JP Prednisolone Acetate Reference Standard (RS).

C, D and E are 1  $\mu\text{g}$  of Prednisolone RS, JP Cortisone acetate RS and JP Hydrocortisone acetate RS, respectively.

Detection: UV at 254 nm



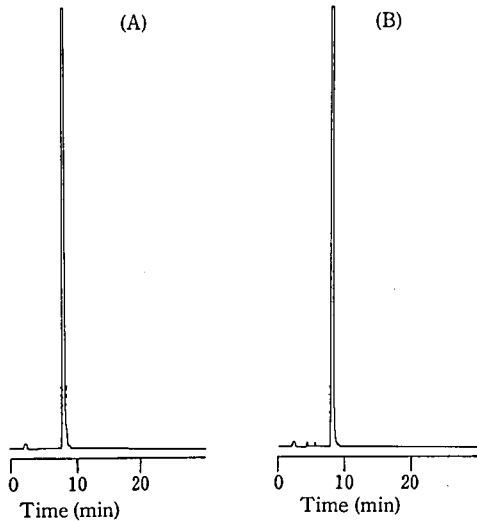


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms for the candidate prednisolone acetate and JP Prednisolone Acetate Reference Standard

(A): the candidate prednisolone acetate  
(B): JP Prednisolone Acetate Reference Standard

HPLC conditions: column, Inertsil ODS-2 (4.6 mm $\phi$   $\times$  150 mmL); column temp., 30  $^{\circ}$ C; mobile phase, a mixture of water-acetonitrile (3 : 2); flow rate, 0.5 ml/min; detection wavelength, 254 nm

ロマトグラムを Fig. 4 に示した。本品では面積百分率 0.05% 以上の不純物ピークは検出されなかったが、日局標準品では微量不純物 2 個が検出されており、それらの不純物総量は、 $0.19 \pm 0.02\%$  ( $n=3$ ) と推定された。

(6) 乾燥減量 : 0.04% (0.5 g, 105 $^{\circ}$ C, 3 時間)

(7) 定量法 :

(a) HPLC 法 日局「酢酸プレドニゾロン」の定量法を準用し、日局標準品を対照として HPLC 法による定量試験を行った結果、 $100.8 \pm 1.5\%$  ( $n=4$ ) の値が得られた。なお、本定量法においては内標準物質としてパラオキシ安息香酸ブチルを用いた。

(b) 日局標準品を対照とした吸光度測定法による定量では、 $100.6 \pm 0.2\%$  ( $n=4$ ) の値が得られた。

## 結 論

酢酸プレドニゾロン標準品原料の品質につき、日局標準品を対照として比較検討した結果、本候補品は日局「酢酸プレドニゾロン」の確認試験と定量法および「プレドニゾロン」の純度試験用の標準品として十分な品質を有することが認められたので、国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) として製造・配布した。

終わりに、本候補品の精製および品質評価にあたり、多大のご協力をいただいた(株)日本点眼薬研究所に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 笥 華子, 小松裕明, 村井真美, 石光 進, 岡田敏史 : 国立衛生試験所酢酸プレドニゾロン標準品 (Control 901), 衛生試験, **109**, 142~145 (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)

## 国立衛生試験所吉草酸ベタメタゾン標準品 (Control 941)

北島 文・谷本 剛・岡田敏史

## Betamethasone Valerate Reference Standard (Control 941) of the National Institute of Health Sciences

Aya Kitajima, Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada

The raw material for betamethasone valerate was tested for preparation of the "Betamethasone Valerate Reference Standard (Control 941)". Analytical data obtained were as follows: melting point, 194.3°C (decomposition); UV and infrared spectra, the same as those for JP Betamethasone Valerate Reference Standard (Control 844); optical rotation,  $[\alpha]_D^{20} = +79.4$ ; thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography (HPLC), no impurities were detected; assay, 100.0% by HPLC.

Based on the above results, the candidate material was authorized as the JP Betamethasone Valerate Reference Standard (Control 941).

**Keywords :** betamethasone valerate, quality evaluation, authorization, JP reference standard

(Received May 31, 1995)

「吉草酸ベタメタゾン」の赤外吸収スペクトル測定法による確認試験および液体クロマトグラフ (HPLC) 法による定量に用いられる国立衛生試験所吉草酸ベタメタゾン標準品のロットの更新を行い、Control 941 として製造したので報告する。

本品の製造および品質評価にあたっては、塩野義製薬㈱の協力を仰いだ。

### 1. 原 料

標準品原料は塩野義製薬㈱より購入した。同社による日局「吉草酸ベタメタゾン」の規格および試験法による主な試験成績は以下のとおりである：乾燥減量, 0.00%；純度試験 (他のステロイド), 主スポット以外のスポットは標準溶液のスポットより濃くない；定量, 99.8%。

### 2. 参照物質および試薬

第十二改正日本薬局方吉草酸ベタメタゾン標準品 (Control 844；日局標準品と略称する) を対照に試験を行った。その他の試薬類は JIS 特級品および特級相当品を用いた。

### 3. 装 置

本標準品原料の品質評価試験にあたり、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, FT-IR VALOR-III), 融点測定器 (宮本理研, PA-20S 型)。また、液体クロマトグラフ (HPLC) 装置は島津製

作所製の LC-6A 型送液ポンプ, 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

特に記すものの他は、第十二改正日本薬局方の一般試験法および医薬品各条「吉草酸ベタメタゾン」の試験法を準用した。

#### 4.1 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：クロロホルム・メタノール混液 (9:1), 試料溶液：試料 20 mg をとり、クロロホルム・メタノール混液 (9:1) 5 ml を加えて溶かし、試料溶液とする。この液 1 ml を正確に量り、クロロホルム・メタノール混液 (9:1) を加えて正確に 50 ml とし、標準溶液とする。操作法：標準溶液 (0.4  $\mu$ g) および試料溶液 5  $\mu$ l (20  $\mu$ g) を薄層板にスポットし、約 12 cm 展開した後、風乾する。これにアルカリ性ブルーテトラゾリウム試液を噴霧し、不純物スポットの有無を観察する。

#### 4.2 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 20 mg ずつを精密に量り、それぞれにメタノールを加えて溶かし、正確に 5 ml とし、試料溶液および標準溶液とする。これ

らの液 10  $\mu$ l につき、次の条件で液体クロマトグラフ法による試験を行う。

操作条件

検出器：紫外吸光度計（測定波長：254 nm）

カラム：LiChrosorb RP-18 (4.6 mm $\phi$  × 250 mmL, 7  $\mu$ m)

カラム温度：30℃付近の一定温度

移動相：メタノール・水混液 (7:3)

流量：1.5 ml/min

カラムの選定：標準溶液 10  $\mu$ l につき、上記の条件で操作するとき、吉草酸ベタメタゾン、内標準物質の順に溶出し、その分離度が5以上のものを用いる。

検出感度：試料注入量の1%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1/10の高さになるように検出器およびデータ処理装置の感度を調整する。さらに、この条件で試料注入量の0.05%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検出感度を調整した。

#### 4.3 HPLC法による定量

日局「吉草酸ベタメタゾン」の定量法を準用する。

#### 5. 試験結果

(1) 性状：白色の結晶性粉末で、においはない。

日局の性状における融点は約190℃（分解）とされているのに対し、実測によれば、本品の分解点は194.3℃であった。

(2) 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。本品の赤外吸収スペクトルの一例を Fig. 1 に示す。

(3) 旋光度

本品の比旋光度は、 $[\alpha]_D^{20} = +79.4^\circ$ （乾燥後、0.25 g, ジオキサン, 25 ml, 100 mm）であった（日局規格： $[\alpha]_D^{20} : +75 \sim +81^\circ$ ）。

(4) 純度試験：

(a) TLC法 試験方法の項に記載した方法により、TLC法による純度試験を行った。薄層クロマトグラムを Fig. 2 に示した。本品および対照として用いた日局標準品とも主スポット以外に、不純物スポットは観察されなかった。

(b) HPLC法 試験方法の項に記載した方法により、HPLC法による純度試験を行った。この結果、試料溶液および標準溶液とも保持時間15.4分の位置に面積百分率0.05%以上の不純物1個が検出され、それらの面積百分率法による推定値は、それぞれ0.05%および0.07%と推定された。試料および日局標準品とも他に微小ピークが複数個観察されたが、いずれも面積百分率0.05%未満の微量不純物であり、無視できるものとした。

液体クロマトグラムの一例を Fig. 3 に示した。

(5) 乾燥減量

本品の乾燥減量は、0.09% (1 g, 105℃, 3時間) であった（日局規格：0.5%以下）。

(6) 定量法：

日局「吉草酸ベタメタゾン」の定量法を準用し、日局標準品を対照とし、安息香酸イソアミルを内標準物質として HPLC 法による定量試験を行った結

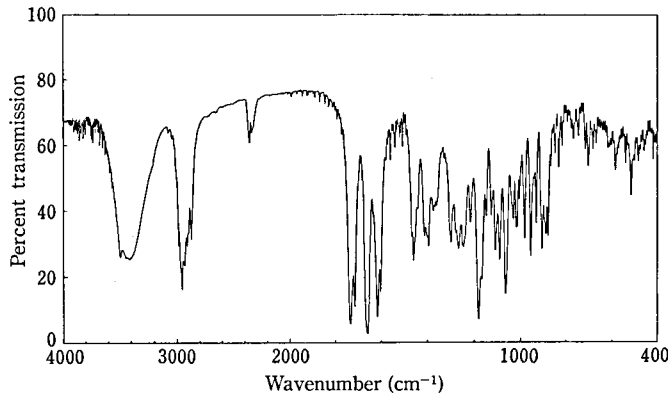


Fig. 1. Infrared absorption spectrum for the candidate JP Betamethasone Valerate Reference Standard

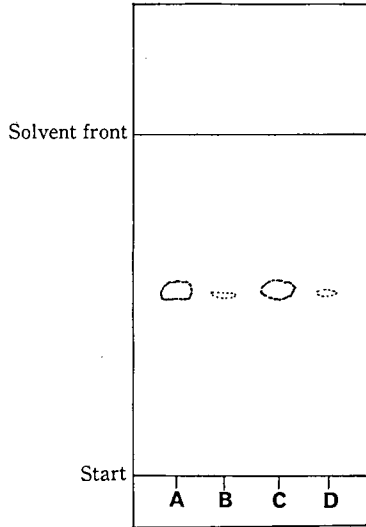


Fig. 2. Thin-layer chromatogram for the candidate betamethasone valerate and the JP Betamethasone Valerate Reference Standard

Solvent system: a mixture of chloroform-methanol (9 : 1)

Spot: A and B are 20  $\mu\text{g}$  and 0.4  $\mu\text{g}$  of the candidate betamethasone valerate, respectively.

C and D are 20  $\mu\text{g}$  and 0.4  $\mu\text{g}$  of JP Betamethasone Valerate RS, respectively.

果,  $100.0 \pm 0.67\%$  ( $n=3$ ) の値が得られた。

## 結 論

標準品原料として入手した吉草酸ベタメタゾンの品質について前回標準品を対照として比較検討を行った。その結果、HPLC法による純度試験により面積百分率0.05%の不純物1個が検出されただけであり、本品の化学的純度は極めて高いものと判断された。その他の試験成績についても、日局規格に適合し、現行の日局標準品に匹敵する品質を有するものであることが明らかとなった。

以上により、今回入手した吉草酸ベタメタゾンの

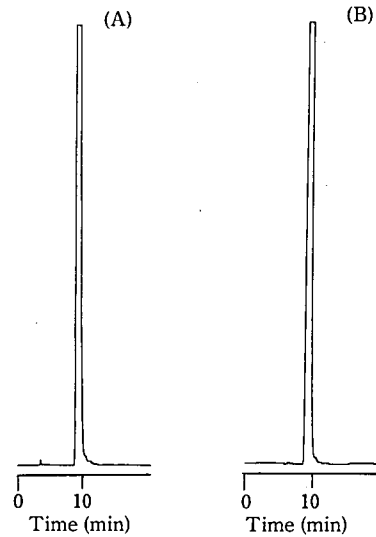


Fig. 3. High-performance liquid chromatograms for the candidate betamethasone valerate and the JP Betamethasone Valerate Reference Standard

(A): the candidate betamethasone valerate

(B): the JP Betamethasone Valerate Reference Standard (Control 833)

HPLC conditions: column, LiChrosorb RP-18(4.6 mm $\phi$ ×250 mmL); column temp., 30°C; mobile phase, a mixture of methanol-water (7 : 3); flow rate, 1.5 ml/min; detection wavelength, 254 nm

標準品原料は、国立衛生試験所吉草酸ベタメタゾン標準品（日本薬局方標準品）として十分な品質を有するものと認められた。

終わりに、本標準品の製造にあたってご協力いただいた塩野義製薬㈱に深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) 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)

## 国立衛生試験所グリチルリチン酸標準品 (Control 941)

岡田敏史・北島 文・谷本 剛・鈴木英世・佐竹元吉

## Glycyrrhithic Acid Reference Standard (Control 941) of the National Institute of Health Sciences

Satoshi Okada, Aya Kitajima, Tsuyoshi Tanimoto,  
Hideyo Suzuki and Motoyoshi Satake

The raw material of glycyrrhithic acid was examined for preparation of the "Glycyrrhithic Acid Reference Standard". The candidate material was evaluated physico-chemically by a collaborative study in which five laboratories participated. Analytical data obtained were as follows: UV spectrum,  $\lambda_{\max}=251$  nm and specific absorbance  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  (EtOH) at the  $\lambda_{\max}=145$ ; IR spectrum, specific absorption numbers were at 1719, 1654, 1216, and 1170  $\text{cm}^{-1}$ ; thin-layer chromatography, some laboratories detected a trace amount of one spot and others not detected; high-performance liquid chromatography, 2~6 impurities were detected and the amount of any impurities were estimated to be less than 0.2% and the total amount less than 0.5%.

Based on the above results, the candidate material was authorized as the Glycyrrhithic Acid Reference Standard of National Institute of Health Sciences.

**Keywords :** glycyrrhithic acid, quality evaluation, collaborative study, authorization, NIHS reference standard

(Received May 31, 1995)

本品はカンゾウ中の有効成分であり、日局「カンゾウ」、「カンゾウ末」、「カンゾウエキス」および「カンゾウ粗末」中のグリチルリチン酸含量を液体クロマトグラフ (HPLC) 法により求めるための標準品である。日局 12 では「成分含量測定用グリチルリチン酸」として試薬・試液中にその規格および試験法が定められているだけで、物としての供給が保証されているわけではない。塩化ベルベリンなどと同様に複数の試薬メーカーより、さまざまなグレードの私製標準品が供給され、医薬品メーカーおよび検査機関において何を標準品として選択すべきか混乱がみられ、公的機関からの標準品の供給が強く要望されている。

グリチルリチン酸は、カンゾウ末などグリチルリチン酸を含む生薬類から抽出され、再結晶およびクロマト的手法を用いて精製される。本標準品は HPLC 法による定量分析用の標準品として利用されるため、99.0%以上の純度が求められる。標準品候補品の選定については、国内 3 社により精製されたグリチルリチン酸 (私製標準品グレード) の品質につき、予備的検討を行い、HPLC 法による面積純度が最も高く、かつ安定的な原料供給の期待でき

る丸善製薬(株)製のグリチルリチン酸を日局グリチルリチン酸標準品の候補品として選択した。

本候補品の品質につき、富山県薬事研究所 (協力 2 機関を含む)、アルプス薬品工業(株)、丸善製薬(株)、生薬部および大阪支所薬品試験部の 5 機関による共同実験を行った。

## 実験材料および試験方法

**実験材料** 本候補品原料は、丸善製薬(株)より購入した。また、カラム選定用グリチルリチン酸および純度試験用標準物質 11-デオキシグリチルリチン酸アンモニウムは、丸善製薬(株)より供与された。そのほか、カラム選定用パラオキシ安息香酸プロピル (和光純薬製) は、配布試料を用い、他の試薬・試液は、各機関において特級品又は特級相当品が用いられた。

## 試験方法

## 1. 紫外吸収スペクトル

本品をデシケーター中で 12 時間以上乾燥し (減圧 5 mmHg 以下、五酸化リン、50°C)、その約 4 mg を精密に量り、希エタノール 30 ml を加えて溶かした後、希エタノールを加えて正確に 100 ml と

し、試料溶液とする。この液につき、希エタノールを対照にして吸光度測定法により、220~340 nmの波長範囲における吸収スペクトルを測定し、吸収極大波長における吸光度より比吸光度  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  を求める。

## 2. 赤外吸収スペクトル

本品をデシケーター中で12時間以上乾燥し（減圧5 mmHg以下、五酸化リン、50℃）、その1 mgを量り、赤外吸収スペクトル測定用臭化カリウム0.2 gと混合、磨砕した後、打錠する。この臭化カリウム錠剤につき、空気を対照に4000~400  $\text{cm}^{-1}$ の範囲で赤外吸収スペクトルを測定する。

## 3. 薄層クロマトグラフ法による純度試験

本品5 mgを希エタノール2.5 mlに溶かし、試料溶液とする。この液0.1, 0.3, 0.5 mlを量り、希エタノールを加えて正確に50 mlとし、標準溶液1, 2, 3とする。試料溶液および標準溶液10  $\mu\text{l}$ につき、以下の条件で薄層クロマトグラフ法による試験を行う。

### 薄層クロマトグラフ条件

薄層板：蛍光剤入りプレコートッド薄層板

展開溶媒：*n*-ブタノール・水・氷酢酸混液（7：2：1）

展開距離：10 cm

検出：1) 紫外線照射（主波長：254 nm）

2) 薄めた硫酸（1→2）を噴霧し、105℃、10分間加熱

不純物スポットの有無を観察し、その移動度 ( $R_f$ ) を求める。また、不純物スポットの蛍光または呈色の強さを標準溶液1~3のスポットのそれと比較し、不純物量を推定する。

### 4.1 液体クロマトグラフ法による純度試験 (1)

本品約5 mgを精密に量り、希エタノール5 mlを加えて溶かし、試料溶液とする。この液1 mlを正確に量り、希エタノールを加えて正確に100 mlとし、1%標準溶液とする。1%標準溶液5 mlを正確に量り、希エタノールを加えて正確に100 mlとし、0.05%標準溶液とする。試料溶液および標準溶液（1%および0.05%）20  $\mu\text{l}$ につき、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。それぞれの液の各々のピーク面積を自動積分法により測定し、全ピーク面積に対する相対値（%）を記録する。

#### 操作条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：254 nm）

カラム：内径4~6 mm、長さ15~25 cmのステンレス管に5~10  $\mu\text{m}$ の液体クロマトグラフ用オク

タデシルシリル化シリカゲルを充てんする。

カラム温度：30℃付近の一定温度

移動相：薄めた酢酸（1→50）・アセトニトリル混液（20：11）

流量：グリチルリチン酸の保持時間が約10分になるように調整する。

カラムの選定：グリチルリチン酸5 mgおよびパラオキシ安息香酸プロピル1 mgを希エタノールに溶かして20 mlとする。この液20  $\mu\text{l}$ につき、上記の条件で操作するとき、グリチルリチン酸、パラオキシ安息香酸プロピルの順に溶出し、それぞれのピークが完全に分離するものを用いる。

検出感度：0.05%標準溶液20  $\mu\text{l}$ につき分析するとき、グリチルリチン酸のピーク面積が自動積分法により確実にカウントされるように調整する。また、1%標準溶液20  $\mu\text{l}$ から得られるグリチルリチン酸のピーク高さがフルスケールの20%前後となるようにデータ処理装置の感度を調整する。

面積測定範囲：溶媒ピークの後から、グリチルリチン酸の保持時間の3倍の範囲

試験の再現性：上記の条件で1%標準溶液につき、試験を5回繰り返すとき、グリチルリチン酸のピーク面積の相対標準偏差は1.5%以下である。

### 4.2 液体クロマトグラフ法による純度試験 (2)

本品約5 mgを精密に量り、以下『液体クロマトグラフ法による純度試験(1)』の試験法を準用する。ただし、操作条件中の移動相を以下のようにする。

移動相：0.015 M 酢酸ナトリウム試液・アセトニトリル混液（3：1）

### 4.3 液体クロマトグラフ法による純度試験 (3)

本品約5 mgを精密に量り、希エタノール5 mlを加えて溶かし、試料溶液とする。以下『液体クロマトグラフ法による純度試験 (1)』の試験法を準用する。ただし、操作条件中の検出器および移動相を以下のように変更する。また、11-デオキシグリチルリチン酸 (DeGA, アンモニウム塩) 2 mgを量り、希エタノール50 mlを加えて溶かし、ポジション確認用 DeGA 溶液とする。

検出器：紫外吸光光度計（検出波長：210 nm）

移動相：0.1%リン酸・アセトニトリル混液（11：9）

## 5. 水分

本品約5 mgを精密に量り、電量滴定法によるカールフィッシャー水分測定法により本候補品中の水分含量を測定する。

## 試験結果

### 1. 紫外吸収スペクトル

吸収スペクトルの一例を Fig. 1 に、吸収極大波長およびそれぞれの波長における比吸光度  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  を Table 1 に示した。吸収極大波長は施設間で互いによく一致しているが（相対標準偏差 0.2%）、 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  に関する施設間変動はそれに比べてやや大きく、相対標準偏差は 1.8% であった。なお、 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  は、水分含量 3.42% の値を用いて無水物換算を行っている。

### 2. 赤外吸収スペクトル

赤外吸収スペクトルの一例を Fig. 2 に示した。1719  $\text{cm}^{-1}$ 、1654  $\text{cm}^{-1}$ 、1216  $\text{cm}^{-1}$ 、1170  $\text{cm}^{-1}$  付近にグリチルリチン酸に特有な吸収が認められた。本

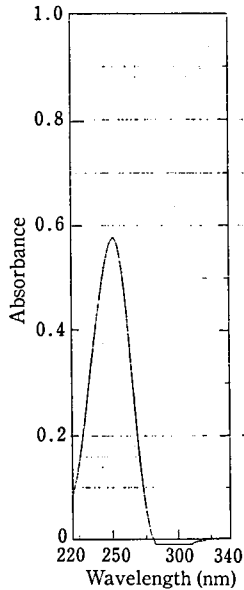


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum for the candidate Glycyrrhizinic Acid Reference Standard

試験は 1 機関によって行われたのみであり、この結果が複数機関によって確認され、かつ各特性吸収波数の帰属が明らかにされることにより、本法を確認試験に採用する道が開かれる。

### 3. 薄層クロマトグラフ法による純度試験

検出法(1)の紫外線照射法がより鋭敏であり、3 機関において不純物スポット 1 個を検出しているが、他の 4 機関においては検出できず、標準溶液との比較からその不純物量は 0.2% 以下と推定された。検出法(2)の硫酸噴霧法では、いずれの機関においても不純物スポットは観察されなかった。典型的な薄層クロマトグラムを Fig. 3 に示した。

#### 4.1 液体クロマトグラフ法による純度試験 (1)

本試験法は、日局「カンゾウエキス」の成分含量測定法の操作条件を準用したものであり、酢酸酸性下の分析であり、グリチルリチン酸の酸解離が抑制された条件下での分析法であるため、“イオン抑制法”と通称されている<sup>2)</sup>。

試料溶液についての典型的な液体クロマトグラムを Fig. 4 に示した。いずれの機関においても 2~6 個の微量な不純物ピークを検出しているが、いずれの不純物ピークも面積百分率 0.2% 以下の微小ピークであり、総不純物含量の推定値は各機関により若干異なるが (0.10~0.44%)、0.45% 以下と推定された。これらの結果を Table 2 にまとめて示した。Table 2 で個々の不純物ピークの大きさを面積百分率法で評価しているが、この場合、面積百分率 0.015% 以上の不純物につき、比較的再現性よく検出されたものとして記録しており、それ以下の不純物ピークは切り捨てている。

なお、不純物ピーク Imp. 1~Imp. 6 は、クロマトグラム上の溶出順に番号付けしたものであり、必ずしも各機関の間で同一の不純物を観察しているとは限らない。Table 2 中の矢印は主成分グリチルリチン酸のおおよその溶出位置を示しており、各機関

Table 1. UV Absorption Maxima ( $\lambda_{\text{max}}$ , nm) and the Specific Activity  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ , at the  $\lambda_{\text{max}}$  for Glycyrrhizinic Acid

|   | Laboratory |       |       |       |       |       | Aver. | S.D. |
|---|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
|   | A          | B     | C     | D-2   | D-3   | E     |       |      |
| Absorption max ( $\lambda_{\text{max}}$ , nm)                             |            |       |       |       |       |       |       |      |
| $\lambda_{\text{max}}$  | 250.7      | 251.8 | 251.3 | 252.0 | 251.1 | 250.8 | 251.3 | 0.48 |
| Specific absorptivity ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ , $\lambda_{\text{max}}$ ) |            |       |       |       |       |       |       |      |
| $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  | 145.7      | 147.2 | 146.5 | 146.2 | 144.9 | 139.2 | 144.9 | 2.67 |

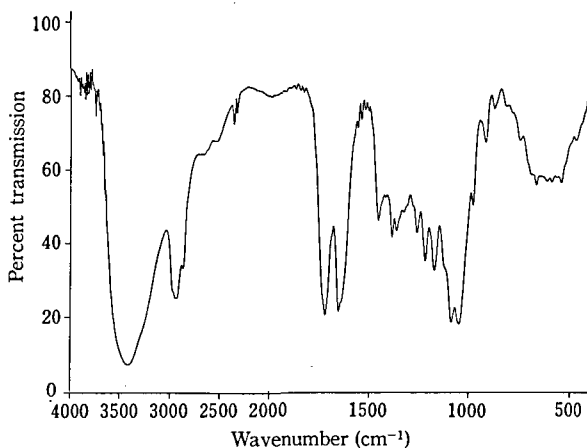


Fig. 2. Infrared absorption spectrum for the candidate Glycyrrhizinic Acid Reference Standard

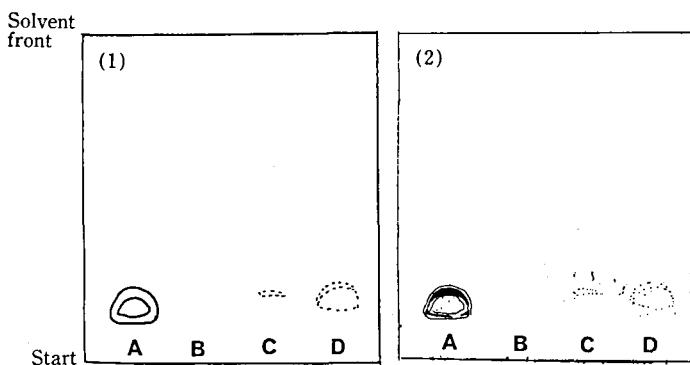


Fig. 3. Thin-layer chromatogram for the candidate Glycyrrhizinic Acid Reference Standard

Solvent system: a mixture of *n*-butanol·water·acetic acid (7 : 2 : 1)

Spot: A is sample solution.

B, C and D are the standard solutions 1, 2 and 3, prepared by dilution of the sample solution to 0.2, 0.6 and 1.0%, respectively.

Detection: (1) UV at 254 nm, (2) dil- $H_2SO_4$

において検出された不純物の種類と量の関係に一定の規則性が見いだし難いことを示している。主成分の保持時間約 10 分は共通に守られているので、類縁物質のカラムに対する保持性が、カラムを含めた分離条件のわずかな差により、微妙に影響されるものと考えられる。

#### 4.2 液体クロマトグラフ法による純度試験 (2)

本試験は、純度試験(1)における移動相中の“薄めた酢酸 (1→50)”を“0.015 M 酢酸ナトリウム試

液”に変更したものであり、水溶液の液性は弱アルカリ性となる。生薬研究者の間ではグリチルリチン酸の分析における“イオンペアー法”としてよく知られている分析法であり<sup>2)</sup>、“イオン抑制法”で分離できず、主成分ピーク中に隠れてしまう類縁体が分離できるとされている。

本試験による典型的な液体クロマトグラムを Fig. 5 に示した。主成分ピークの直前に類縁体  $G_R$  の鋭いピークが観察され、その含量は約 1% 強と推



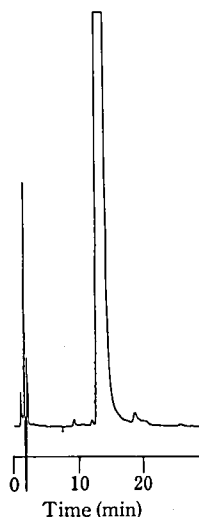


Fig. 4. High-performance liquid chromatogram on the Purity Test (1) for the candidate Glycyrrhizic Acid Reference Standard

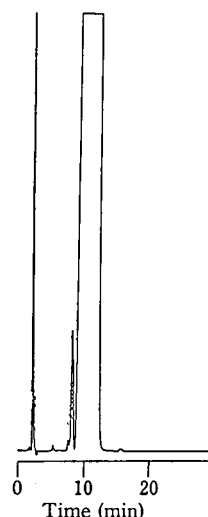


Fig. 5. High-performance liquid chromatogram on the Purity Test (2) for the candidate Glycyrrhizic Acid Reference Standard

Table 2. Purity Test (1) by HPLC for Glycyrrhizic Acid

| Impurity No.* | Impurity (%) |       |       |       |       |       |       |
|---------------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|               | Labo. A      | B     | C     | D-1   | D-2   | D-3   | E     |
| Imp. 1        | 0.044        | 0.044 | 0.015 | 0.050 | 0.040 | 0.113 | 0.035 |
| Imp. 2        | 0.052        | 0.033 | 0.233 | 0.040 | 0.041 | 0.207 | 0.040 |
| Imp. 3        |              | 0.116 | 0.100 | 0.070 | 0.067 | 0.119 | 0.156 |
| Imp. 4        |              | 0.040 | 0.016 | 0.030 | 0.117 |       | 0.042 |
| Imp. 5        |              | 0.124 |       | 0.120 | 0.083 |       | 0.026 |
| Imp. 6        |              |       |       | 0.107 |       |       |       |
| Total Imp.    | 0.096        | 0.357 | 0.323 | 0.417 | 0.348 | 0.439 | 0.299 |

\*Chromatographic impurities were counted, where the amount was estimated to be more than 0.015% as a peak area. The number of impurities designates the order of elution under the respective HPLC conditions. Therefore the same impurity No. does not always mean the same impurity in different laboratories. Arrows in this table indicate the nearly eluted position of Glycyrrhizic Acid in each HPLC condition.

定される。その他の不純物ピークも含め、面積百分率法で評価される不純物の種類と推定含量を Table 3 に示した。なお、本試験条件のままだとグリチルリチン酸ピークが割れたり、溶媒ピーク位置に一部のイオン化体が溶出したりすることがあるため、操作条件の一部変更が各機関の判断で行われた。これらの変更内容につき、Table 3 脚注 (\*\*\*)印) にま

とめて示している。したがって、本試験条件は本来の目的であるイオンペア法を満足するものではなく、通常用いられるイオンペア一試薬を加えるなり、イオン強度を高めるなりの一層の工夫が必要とされる。

Table 3 中、下線を付した数値が、各機関において検出された上述の類縁体 G<sub>R</sub> の含量を示しており、

0.60~1.27%の間に分布している。機関D-3の分析値は、分離不十分な条件下での推定値なのでこれを除いて平均値を求めると $1.13 \pm 0.12\%$  ( $n=6$ )となる。

各機関における純度試験(1)と(2)による総不純物含量を比較するとき、純度試験(2)による総不純物含量が約1.3%前後大きくなっていることから、主としてこの類縁体 $G_R$ が観察されたことによる増加と推定される。ただし、純度試験(1)と(2)における不純物の種類と量が必ずしも対応しているわけではない。

#### 4.3 液体クロマトグラフ法による純度試験 (3)

本試験法は、丸善製薬(株)より提案された方法であり、不純物としての可能性のある11-デオキシグリチルリチン酸 (DeGA) を特異的に検出しようとするものであり、リン酸酸性下で検出波長が210 nmに設定されている。

Fig. 6(A), (B) に典型的な液体クロマトグラムを示した。(A) は DeGA 標準溶液 (1 mg/25 ml) のクロマトグラムを、(B) は試料溶液のクロマトグラムを示す。試料溶液のクロマトグラム中、保持時間8分付近のピークがグリチルリチン酸のピークを示している。本試験の結果、DeGA はいずれの機関においても検出されていない。ただし、機関CはDeGAの保持時間に近接する位置に約1.1%量に相当する未知不純物を検出しているが、他の機関

では確認されていない。

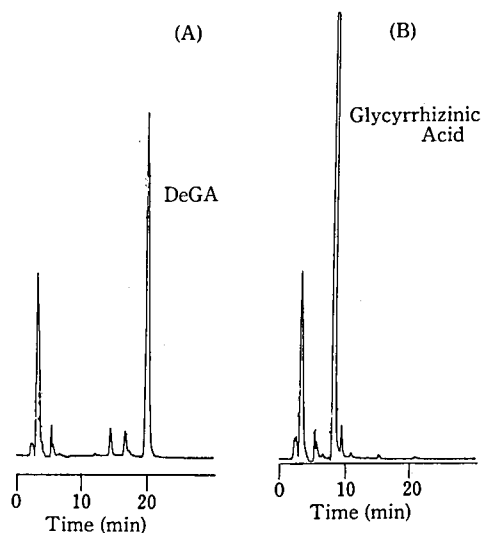


Fig. 6. High-performance liquid chromatogram on the Purity Test (3) for the candidate Glycyrrhizic Acid Reference Standard (A): 11-Deoxy-Glycyrrhizic Acid (DeGA), (B): the candidate glycyrrhizic acid  
In these chromatograms, DeGA and glycyrrhizic acid are eluted at 19.9 and 8.1 min., respectively.

Table 3. Purity Test (2) by HPLC\*\*\* for Glycyrrhizic Acid\*

| Impurity No.* | Impurity (%)    |              |              |              |              |              |              |
|---------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|               | Labo. A         | B            | C            | D-1          | D-2          | D-3          | E            |
| Imp. 1        | <u>1.270</u> ** | <u>1.226</u> | 0.040        | 0.033        | 0.048        | <u>0.602</u> | 0.042        |
| Imp. 2        | 0.021           | 0.122        | 0.120        | 0.287        | <u>1.088</u> |              | 0.055        |
| Imp. 3        |                 | 0.085        | <u>1.190</u> | <u>0.960</u> | 0.355        |              | 0.068        |
| Imp. 4        |                 | 0.039        |              | 0.020        |              |              | <u>1.052</u> |
| Imp. 5        |                 | 0.094        |              |              |              |              | 0.038        |
| Total Imp.    | 1.291           | 1.566        | 1.350        | 1.300        | 1.491        | 0.602        | 1.255        |

\* The chromatographic data was treated by the same method as the Purity Test (1) by HPLC. Thus see the footnote in Table 3.

\*\* The underlined data designates the percent peak area ascribed to the impurity, eluted just before the main peak of glycyrrhizic acid.

\*\*\* HPLC conditions of the mobile phase were partially changed in some laboratories as described below.

Labo. A: The composition was modified to {0.02M(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>+0.077 M Tetrabutylammonium Hydroxide (pH 6.0)} · Acetonitrile (13 : 7)

Labo. C and Labo. E: The composition ratio was modified to (39 : 11) and (4 : 1), respectively.

## 5. 水分

本候補品中の水分含量をカールフィッシャー法により測定した結果、 $3.42 \pm 0.11\%$  ( $n=4$ ) の値が得られた。本試験は機関Eにおいて行われたものであり、試料量が十分でないため、他機関においては行われなかった。なお、Table 1に示した  $E1\%$  の計算にあたっては、この値を用いて無水物換算を行った。

## 結 論

以上の結果、本候補品はグリチルリチン酸としては極めて高い純度を有するが、純度試験(2)の“イオンペア法”を用いて純度評価するとき、99.0%以上の純度は保証されない。しかし、現行の日局「カンゾウエキス」の成分定量法における“イオン抑制法”がHPLC操作条件として規定されている範囲内では、本品は99.5%以上の化学的純度をもつものと評価される。したがって、日局中では、本品を

グリチルリチン酸のHPLC法による定量用標準品として問題なく利用することができるので、日局試薬中の「成分含量測定用グリチルリチン酸」を「グリチルリチン酸標準品」に置き換えて本品を利用する試験法の採用が可能である。なお、水分含量3.42%は、無水物換算用の保証値として利用してもらう予定である。また、将来的に本標準品を用いた“イオンペア法”が採用されることがある場合、99.0%以上の純度が保証できないため、含量を明示する必要がある。

終わりに、本候補品の品質評価につき、共同実験に参加いただいた富山県薬事研究所、アルプス薬品工業(株)および丸善製薬(株)の各社に感謝いたします。

## 文 献

- 1) 厚生省, 第十二改正日本薬局方, p. 104 (1991)
- 2) 原田正敏編集, 繁用生薬の成分定量, 廣川書店, p. 94 (1993)

## 国立衛生試験所塩化ベルベリン標準品 (Control 941)

岡田敏史・北島 文・谷本 剛・鈴木英世・佐竹元吉

## Berberine Hydrochloride Reference Standard (Control 941) of the National Institute of Health Sciences

Satoshi Okada, Aya Kitajima, Tsuyoshi Tanimoto,  
Hideyo Suzuki and Motoyoshi Satake

The raw material of berberine hydrochloride was examined for preparation of the "Berberine Hydrochloride Reference Standard". The candidate material was evaluated physico-chemically by a collaborative study in which five laboratories participated. Analytical data obtained were as follows: UV spectrum,  $\lambda_{\max}$  = 228, 263, 345, and 421 nm and specific absorbance  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  at each  $\lambda_{\max}$  = 814, 794, 722, and 160, respectively; IR spectrum, specific absorption wave numbers at 2845, 1633, 1568, and 1506  $\text{cm}^{-1}$ ; thin-layer chromatography, some laboratories detected a trace amount of one or two spot and others not detected; high-performance liquid chromatography, 2~5 impurities were detected and the amount of any impurities were estimated to be less than 0.05% and the total amount less than 0.2%.

Based on the above results, the candidate material was authorized as the Berberine Hydrochloride Reference Standard of National Institute of Health Sciences.

**Keywords** : berberine hydrochloride, quality evaluation, collaborative study, authorization, NIHS reference standard

(Received May 31, 1995)

本品はオウレン、オウバク中の有効成分であり、日局「オウバク」、「オウバク末」、「オウレン」および「オウレン末」中のベルベリン含量を液体クロマトグラフ (HPLC) 法により求めるための標準品である。日局 12 では「成分含量測定用塩化ベルベリン」として試薬・試液中にその規格および試験法が定められているだけで<sup>1)</sup>、物としての供給が保証されているわけではない。複数の試薬メーカーより、さまざまなグレードの私製標準品が供給され、医薬品製造メーカーおよび検査機関においても、何を標準品として選択すべきか混乱がみられ、公的機関からの標準品の供給が求められていたものの一つである。

ベルベリンはオウバク粗末などベルベリンを含む生薬類から抽出され、再結晶およびクロマト的手法を用いて精製される。本標準品は HPLC 法による定量分析用の標準品として利用されるため、99.0%以上の純度が求められる。標準品候補品の選定については、国内 4 社により精製された塩化ベルベリン (私製標準品グレード) の品質につき、予備的検討を行い、HPLC 法による面積純度が最も高く、か

つ安定的な原料供給の期待できるアルプス薬品工業 (株) の塩化ベルベリンを日局塩化ベルベリン標準品候補品として選択した。

本候補品の品質につき、富山県薬事研究所 (協力 2 機関を含む)、アルプス薬品工業 (株)、丸善製薬 (株)、生薬部および大阪支所薬品試験部の 5 機関による共同実験を行った。

## 実験材料および実験方法

**実験材料** 本候補品原料は、アルプス薬品工業 (株) より購入した。カラム選定用塩化ベルベリン (日局適合品) および塩化パルマチンは、アルプス薬品工業 (株) より供与された。

その他の試薬・試液は、各機関において特級品又は特級相当品が用いられた。

## 実験方法

## 1. 紫外および可視吸収スペクトル

本品約 5 mg を精密に量り、水 10 ml を加え、加温して溶かし、冷後、水を加えて正確に 100 ml とする。この液 10 ml を正確に量り、水を加えて正確に 50 ml とし、試料溶液とする。この液につき、

210~500 nm の波長範囲で紫外および可視吸収スペクトルを測定する。吸収極大波長を求め、その吸光度より比吸光度  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  を求める。別途、水分量を求め、無水物換算を行う。

## 2. 赤外吸収スペクトル

本品を乾燥し (60℃, 1時間), その1 mg を量り, 赤外吸収スペクトル測定用臭化カリウム 0.2 g と混合, 磨砕した後, 打錠する。この臭化カリウム錠剤につき, 4000~400  $\text{cm}^{-1}$  の範囲で赤外吸収スペクトルを測定し, 波数 2840, 1637, 1568, 1508  $\text{cm}^{-1}$  付近の吸収位置を読みとる。

## 3. 薄層クロマトグラフ法による純度試験

本品 5 mg を量り, メタノール 1 ml を加えて溶かし, 試料溶液とする。この液 5, 10, 20, 40  $\mu\text{l}$  を量り, メタノールを加えて 20 ml とし, それぞれ標準溶液 1, 2, 3, 4 とする。試料溶液および標準溶液 1~4 の各 5  $\mu\text{l}$  につき, 蛍光剤入りプレコート薄層板にスポットし, 次の条件で薄層クロマトグラフ法による試験を行う。

### 薄層クロマトグラフ条件

展開溶媒: *n*-ブタノール・水・氷酢酸混液 (7:2:1)

展開距離: 10 cm

検出: 紫外線照射 (主波長: 365 nm)

不純物スポットの有無を観察し, その移動度 ( $R_f$ ) を求める。また, 不純物スポットの蛍光の強さを標準溶液 1~4 のスポットのそれと比較し, 不純物量を推定する。

### 4.1 液体クロマトグラフ法による純度試験 (1)

本品約 5 mg を精密に量り, メタノール 10 ml を加えて溶かし, 試料溶液とする。この液 1 ml を正確に量り, メタノールを加えて正確に 100 ml とし, 1% 標準溶液とする。1% 標準溶液 5 ml を正確に量り, メタノールを加えて正確に 100 ml とし, 0.05% 標準溶液とする。試料溶液および標準溶液 (1% および 0.05%) 20  $\mu\text{l}$  につき, 次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。それぞれの液の各々のピーク面積を自動積分法により測定し, 全ピーク面積に対する相対値 (%) を求める。

### 操作条件

検出器: 紫外吸光光度計 (測定波長: 345 nm)

カラム: 内径 4~6 mm, 長さ 15~25 cm のステンレス管に 5~10  $\mu\text{m}$  の液体クロマトグラフ用オクタデシルシリル化シリカゲルを充てんする。

カラム温度: 40℃ 付近の一定温度

移動相: 水・アセトニトリル混液 (1:1) 1000 ml にリン酸二水素カリウム 3.4 g およびラウリル硫酸ナトリウム 1.7 g を加えて溶かす。

流量: ベルベリンの保持時間が約 10 分になるように調整する。

カラムの選定: 塩化ベルベリンおよび塩化パルマチン 1 mg ずつをメタノールに溶かして 10 ml とする。この液 20  $\mu\text{l}$  につき, 上記の条件で操作するとき, パルマチン, ベルベリンの順に溶出し, それぞれのピークが完全に分離するものを用いる。

検出感度: 0.05% 標準溶液 20  $\mu\text{l}$  を注入して分析するとき, ベルベリンのピーク面積が自動積分法により確実にカウントされるように調整する。また, 1% 標準溶液 20  $\mu\text{l}$  から得られるベルベリンのピーク高さがフルスケールの 20% 前後となるようにデータ処理装置の感度を調整する。

面積測定範囲: 溶媒ピークの後からベルベリンの保持時間の約 2 倍の範囲

試験の再現性: 上記の条件で 1% 標準溶液につき, 試験を 5 回繰り返すとき, ベルベリンのピーク面積の相対標準偏差は 1.5% 以下である。

### 4.2 液体クロマトグラフ法による純度試験 (2)

本品約 5 mg を精密に量り, 以下「液体クロマトグラフ法による純度試験(1)」の試験法を準用する。ただし, 操作条件中の移動相を以下のように変更する。

移動相: ラウリル硫酸ナトリウム 2 g および酒石酸 0.4 g を水 450 ml に溶かし, アセトニトリルを加えて 1000 ml とする。

## 5. 水分測定

本品約 5 mg を精密に量り, 電量滴定法によるカール・フィッシャー水分測定法により, 本候補品中の水分含量を測定する。

## 試験結果

### 1. 紫外および可視吸収スペクトル

吸収スペクトルの一例を Fig. 1 に, 吸収極大波長およびそれぞれの波長における  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  を Table 1 に示した。4 つの吸収極大波長は, 日局「塩化ベルベリン」で規定される波長範囲に一致し, 塩化ベルベリンであることが確認される。吸収極大波長は施設間で互いによく一致しているが,  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  に関する施設間変動は, 必ずしも小さくなく (相対標準偏差 2.8~4.5%), 特に 228 nm 付近の鋭い吸収および 421 nm 付近のブロードな吸収では 4% 以上の相対

Table 1. UV & Visible Absorption Maxima ( $\lambda_{\max}$ , nm) and the Specific Activity ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ ) at each  $\lambda_{\max}$  for Berberine Hydrochloride

|  | Laboratory |       |       |       |       |       | Aver. | S.D. |
|--|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
|  | A          | B     | C     | D-2   | D-3   | E     |       |      |
| Absorption max ( $\lambda_{\max}$ , nm)          |            |       |       |       |       |       |       |      |
| $\lambda_{\max 1}$                               | 227.8      | 228.0 | 226.5 | 228.0 | 227.8 | 227.5 | 227.6 | 0.52 |
| $\lambda_{\max 2}$                               | 262.9      | 263.3 | 262.0 | 263.0 | 263.0 | 263.2 | 262.9 | 0.43 |
| $\lambda_{\max 3}$                               | 344.9      | 345.0 | 343.8 | 345.0 | 344.7 | 344.3 | 344.6 | 0.43 |
| $\lambda_{\max 4}$                               | 420.1      | 422.0 | 419.7 | 421.3 | 421.0 | 419.7 | 420.6 | 0.88 |
| Specific absorptivity ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ ) |            |       |       |       |       |       |       |      |
| $\lambda_{\max 1}$                               | 798.0      | 849.4 | 863   | 766.8 | 782.2 | 822.5 | 813.7 | 34.7 |
| $\lambda_{\max 2}$                               | 775.0      | 820.4 | 836   | 778.2 | 758.8 | 796.6 | 794.1 | 26.7 |
| $\lambda_{\max 3}$                               | 707.2      | 743.8 | 751   | 710.7 | 690.2 | 725.9 | 721.5 | 21.1 |
| $\lambda_{\max 4}$                               | 154.3      | 164.8 | 172   | 156.9 | 149.6 | 159.7 | 159.5 | 7.2  |

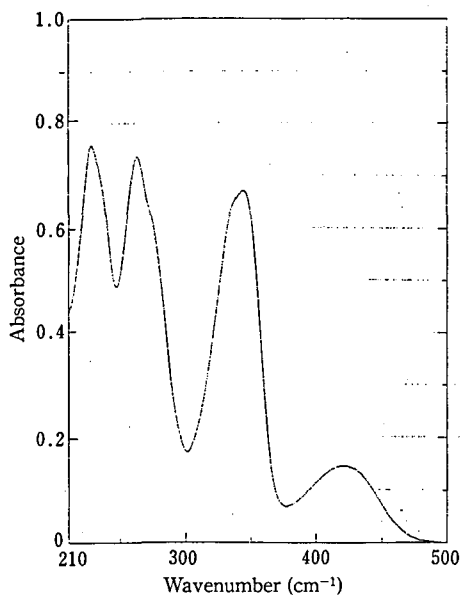


Fig. 1. Ultraviolet and visible absorption spectrum for the candidate Berberine Hydrochloride Reference Standard

標準偏差であった。なお、 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ は水分含量10.1%の値を用いて無水物換算を行っている。

## 2. 赤外吸収スペクトル

赤外吸収スペクトルの一例をFig. 2に、指定した吸収位置における特性吸収波数の実測値をTable 2に示した。3600  $\text{cm}^{-1}$ 付近に水によるブロードな吸収がみられるが、指紋領域の吸収ピークは鋭く、本品に特有な赤外吸収スペクトルの得られることが

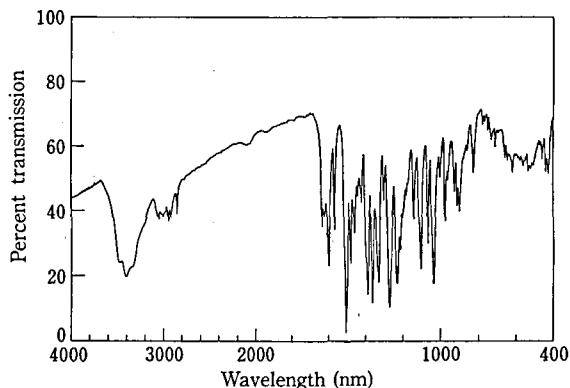


Fig. 2. Infrared absorption spectrum for the candidate Berberine Hydrochloride Reference Standard

わかる。指定した4つの吸収波数位置の観察結果によれば、施設間での一致性は極めてよく、それらの相対標準偏差は0.2%以下であった。この結果、日局「塩化ベルベリン」の確認試験として赤外吸収スペクトル測定法の採用が可能であることが示唆される。なお、2840  $\text{cm}^{-1}$ はメトキシ基の $\nu_{\text{C-H}}$ を、1637  $\text{cm}^{-1}$ および1568  $\text{cm}^{-1}$ は芳香環の $\nu_{\text{C=C}}$ を、1508  $\text{cm}^{-1}$ はキノリン核の $\nu_{\text{C=N}}$ に帰属される吸収である。

## 3. 薄層クロマトグラフ法による純度試験

4機関においては不純物スポットを検出せず、他の3機関においては0.025%以下と推定される不純物スポットを観察したか、または、0.02~0.03%量の不純物スポット2個の検出が報告された (Fig. 3参照)。不純物が観察された場合でも、本法による

Table 2. Specific Absorption Wave Number ( $\text{cm}^{-1}$ ) for Berberine Hydrochloride in Infrared Absorption Spectra

| Indicated wave number ( $\text{cm}^{-1}$ ) | Laboratory |      |      |      |      | Aver. | S.D. |
|--|------------|------|------|------|------|-------|------|
|  | A          | B    | C    | D-1  | E    |       |      |
| 2840                                       | 2846       | 2840 | 2845 | 2848 | 2845 | 2845  | 2.7  |
| 1637                                       | 1636       | 1631 | 1634 | 1628 | 1635 | 1633  | 2.9  |
| 1568                                       | 1569       | 1564 | 1568 | 1568 | 1569 | 1568  | 1.6  |
| 1508                                       | 1507       | 1504 | 1507 | 1507 | 1506 | 1506  | 1.2  |

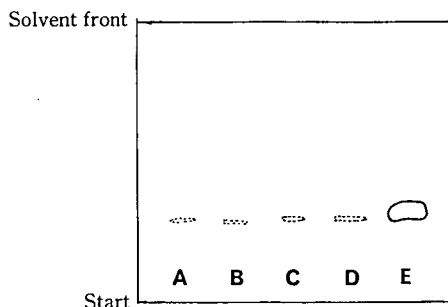


Fig. 3. Thin-layer chromatogram for the candidate Berberine Hydrochloride Reference Standard (Control 941)

Solvent system: a mixture of *n*-butanol·water·acetic acid (7:2:1)

Spot: A, B, C and D are standard solution 1, 2, 3 and 4, prepared by dilution of the sample split to 0.025, 0.05, 0.10 and 0.20%, respectively.

E is sample solution.

Detection: UV at 254 nm

検出限界 (0.01%) に近い量と推定され、本候補品の純度に大きな影響を与えるものではない。

#### 4.1 液体クロマトグラフ法による純度試験 (1)

本試験法は、日局「オウバク」の成分含量測定法の操作条件をベースにしたものであり、純度試験への応用のため、検出感度および面積測定範囲が追加規定されている。

試料溶液についての典型的な液体クロマトグラムを Fig. 4 に示した。いずれの機関においても 2~3 個の微量な不純物ピークを検出しているが、いずれの不純物ピークも 0.05% 標準溶液より小さなピークのため、2 機関 (A, D-2) においては個々の不純物ピークの大きさについての評価はしていない。これらの結果を Table 3 にまとめて示した。観察されたいずれの不純物ピークも 0.05% 標準溶液のピークよりも大きくなく、それらの合計面積は 0.1% 以下であった。Table 3 で個々の不純物ピークの大きさを評価している場合、面積百分率 0.015% 以上の不純物につき、比較的再現性よく検出されたものとしてとりあげており、それ以下の不純物ピーク

Table 3. Purity Test (1) by HPLC for Berberine Hydrochloride

| Impurity No.* | Impurity (%) |   |       |       |       |       |       |       |
|---------------|--------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|               | Labo.        | A | B     | C     | D-1   | D-2   | D-3   | E     |
| Imp. 1        |              |   | 0.017 | 0.015 | 0.017 |       | 0.017 | 0.040 |
| Imp. 2        | ≤0.05        |   | 0.033 | 0.015 | 0.023 | ≤0.05 | 0.031 | 0.016 |
| Imp. 3        |              |   |       | 0.016 | 0.017 |       |       | 0.015 |

\* Chromatographic impurities were counted, where the amount was estimated to be more than 0.015% as a peak area. The number of impurities designates the order of elution under the respective HPLC conditions. Therefore the same impurity No. does not always mean the same impurity in different laboratories.

In Labo. A and D-2, all the detected impurities were less than 0.05% and the quantitative estimation was not performed for those trace amounts of impurities.

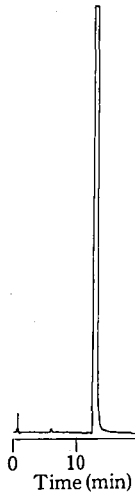


Fig. 4. High-performance liquid chromatogram on the Purity Test (1) for the candidate Berberine Hydrochloride Reference Standard

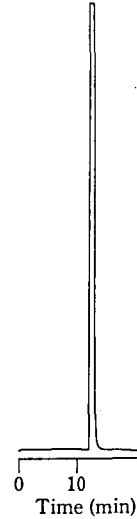


Fig. 5. High-performance liquid chromatogram on the Purity Test (2) for the candidate Berberine Hydrochloride Reference Standard

Table 4. Purity Test (2) by HPLC for Berberine Hydrochloride

| Impurity No.* | Impurity (%) |       |       |   |       |       |       |       |
|---------------|--------------|-------|-------|---|-------|-------|-------|-------|
|               | Labo.        | A     | B     | C | D-1   | D-2   | D-3   | E     |
| Imp. 1        | 0.035        | 0.034 |       |   | 0.053 |       | 0.023 | 0.017 |
| Imp. 2        | 0.016        | 0.017 | ≤0.05 |   | 0.023 | ≤0.05 | 0.019 | 0.016 |
| Imp. 3        | 0.019        | 0.018 |       |   | 0.030 |       | 0.018 | 0.015 |
| Imp. 4        |              | 0.024 |       |   | 0.080 |       | 0.022 | 0.020 |
| Imp. 5        |              | 0.059 |       |   |       |       |       |       |

\* The chromatographic data was treated by the same method at the Purity Test (1) by HPLC. Thus see the footnote in Table 3.

In Labo. C and D-2, all the detected impurities were less than 0.05% and the quantitative estimation was not performed for those trace amounts of impurities.

は切り捨てている。

なお、不純物ピーク Imp. 1~Imp. 3 は、クロマトグラム上の溶出順に番号付けしたものであり、必ずしも各機関の間で同一の不純物を観察しているとは限らない。また、カラムの選定に用いられた塩化パルマチンは、塩化ベルベリンピークの直前に溶出するはずであるが (Fig. 4 のクロマトグラムでは保持時間 11.9 分付近)、いずれの機関においても不純物として検出していない。

#### 4.2 液体クロマトグラフ法による純度試験 (2)

本試験法は、富山県薬事研究会より提案されている方法であり<sup>2)</sup>、純度試験(1)に対する主な変更点は、

pH 調整試薬がリン酸二水素カリウム (pH 4.58) から酒石酸 (pH 2.68) に変更されたことおよび水・アセトニトリル混液の組成比が若干変更されただけである。

典型的な液体クロマトグラムを Fig. 5 に示したが、純度試験(1)におけるクロマトグラムと基本的に変わらない (Fig. 4)。各機関における分析結果を Table 4 に示した。データの取り扱いは、純度試験(1)におけると同様である。面積百分率 0.05% 以上の不純物ピークは、機関 B および D-1 で各 1 個検出されただけであり、他の不純物ピークはいずれも 0.05% 以下の微量不純物であった。不純物ピークの



合計面積から推定される総不純物量は0.2%以下であり、純度試験(1)の結果と基本的に変わらない。また、塩化パルマチンは本試験においても検出されていない。

#### 5. 水分

本候補品中の水分含量をカールフィッシャー法により測定した結果、 $10.1 \pm 0.24\%$  ( $n=5$ )の値が得られた。本試験は機関Eにおいて行われたものであり、試料量が十分でないため、他機関においては行われなかった。なお、Table 1に示したE<sub>1%</sub>の計算にあたっては、この値を用いて無水物換算を行った。

#### 結 論

以上の結果、本候補品の化学的純度は極めて高く、

吸光度測定法又はHPLC法による定量用標準品として十分な品質を有することが明らかとなった。したがって、日局試薬中の「成分含量測定用塩化ベルベリン」を「塩化ベルベリン標準品」として本品を利用することが可能である。なお、水分含量10.1%は、無水物換算用の保証値として利用してもらう予定である。

終わりに、本候補品の品質評価につき、共同実験に参加いただいた富山県薬事研究所、アルプス薬品工業㈱および丸善製薬㈱の各社に感謝いたします。

#### 文 献

- 1) 厚生省, 第十二改正日本薬局方, p. 95 (1991)
- 2) 富山県薬事研究会・分析部会業績集 (I), p. 27 (1993)

## 国立衛生試験所ウリナスタチン標準品 (Control 941)

前川京子・谷本 剛・岡田敏史

Ulinastatin Reference Standard (control 941) of the National  
Insitute of Health Sciences

Keiko Maekawa, Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada

The raw material of ulinastatin was examined for preparation of the "Ulinastatin Reference standard". The candidate material was evaluated in collaboration with one domestic laboratory, and the potency of trypsin inhibiting activity was determined to be 3500 unit/vial. Other analytical data obtained were as follows: UV maximum absorption was observed at 276 nm, the molecular weight was estimated to be about  $66000 \pm 5000$  by gel filtration method. Maximum variance of material contents in 10 vials was 6.52% by means of the weight variation test in JP XII.

Based on the above results, this raw material was authorized to be the first "Ulinastatin Reference Standard" of the National Institute of Health Sciences.

**Keywords :** ulinastatin, NIHS reference standard, quality evaluation

(Received May 31, 1995)

ウリナスタチンは、ヒト尿からイオン交換クロマト法などで分離精製された分子量 67000 の糖たん白質であり、トリプシン阻害活性を有し、急性および慢性再発性膀胱炎や各種ショックによる急性循環不全の治療に点滴用静脈注射剤として用いられる。また、本品は第 13 改正日本薬局方に収載予定の品目であり、現在その収載に向けての検討が行われている。

ウリナスタチン製剤の品質評価における中心課題は、その活性評価であり、加水分解酵素トリプシンの酵素活性に対する阻害度を指標として行われる。しかし、ウリナスタチンのトリプシンに対する阻害活性を絶対的に評価する方法は、多くの因子の影響を受け易く、正確な活性評価は容易でない。したがって、ウリナスタチンのトリプシンに対する阻害活性の評価を精度よく簡便に行うには、本品の阻害活性を標準物質と比較するという相対的な活性評価法が優れた方法となる。

このような状況から、ウリナスタチン原薬とその製剤の定量用に用いられる公的な標準品が求められており、今回国立衛生試験所ウリナスタチン標準品を新たに設定したので、その結果を報告する。

## 実験材料および実験方法

## 1. 候補標準品の作製

候補標準品用のウリナスタチンはヒト尿から分離

精製し、比活性 3000 単位/mg 以上の画分を集めたものであり、セラチンを加え、バイアル中に約 3500 単位ずつ小分け充填し、凍結乾燥品として調製した。なお、本品の作製は持田製薬㈱に依頼して行った。保存は  $-20^{\circ}\text{C}$  で行った。

## 2. 試薬・試液

*N*- $\alpha$ -ベンゾイル-L-アルギニン-p-ニトロアニリド塩酸塩は Sigma 社から購入した。結晶トリプシンは Novo 社から購入した。その他の試薬類は JIS 特級品または特級相当品を用いた。

## 3. 重量偏差試験

日局一般試験法、重量偏差試験法の注射剤の項にしたがって試験した。

## 4. 紫外吸収スペクトル

候補標準品 1 バイアルの内容物を水に溶かし、表示単位に従い、その 1 ml 中に約 2000 単位を含むように調製し、紫外吸収スペクトルを測定した。

## 5. 分子量測定

リン酸緩衝液 (pH 7.5) で平衡化した Sephadex G-100 カラム (2.6×100 cm) を用いて、Andrews の方法<sup>1)</sup>にしたがって分子量を測定した。分子量標準にはウシ血清アルブミン (M. W. : 67000)、卵白アルブミン (M. W. : 45000)、キモトリプシノーゲン A (M. W. : 25000)、ブルーデキストラン (M. W. : 200000) を用いた。試料溶液は、候補標準品

を1%塩化ナトリウムを含むリン酸緩衝液 (pH 7.5) に溶かし、その1 ml中に10000単位を含むように調整した。

#### 6. ウリナスタチンのトリプシン阻害活性 (カ価) 測定法

(1) 試料溶液 候補標準品1バイアルをとり、pH 7.8のトリエタノールアミン (TEA) 緩衝液5 mlを正確に加えて溶かす。この液の適量を取り、TEA緩衝液を加えて2, 3, 4および6倍に希釈した液をそれぞれ試料溶液1, 2, 3および4とする。また、ウリナスタチンを含まないTEA緩衝液を試料溶液5とする。

(2) トリプシン溶液 結晶トリプシン (比活性約3400単位/mg) の適量を精密に量り、1 mM塩化カルシウムを含む0.001 N塩酸試液を加えて溶かし、180  $\mu\text{g/ml}$ となるよう調整する。用時調整し、氷冷して保存する。

(3) 基質溶液 *N*- $\alpha$ -ベンゾイル-L-アルギニン-p-ニトロアニリド塩酸塩0.1 gを水に溶かし、100 mlとする。

(4) 操作法 試料溶液1, 2, 3, 4および5の0.1 mlをそれぞれ試験管に正確に量り、あらかじめ25  $\pm$  0.1  $^{\circ}\text{C}$ に保温したTEA緩衝液1.6 mlを正確に加えて振り混ぜ、25  $\pm$  0.1  $^{\circ}\text{C}$ の恒温槽に入れる。1分後、それぞれの試験管に氷冷していたトリプシン溶液0.2 mlを正確に加えて振り混ぜ、再び恒温槽に戻し、更に1分後に基質溶液1 mlを正確に加えて振り混ぜる。2分後、それぞれの試験管に薄めた酢酸 (1 $\rightarrow$ 2) 0.1 mlを正確に加えて振り混ぜ、試料溶液1, 2, 3, 4および5とする。別に、試料溶液1, 2, 3, 4および5の0.1 mlをそれぞれ試験管に正確に量り、あらかじめ25  $\pm$  0.1  $^{\circ}\text{C}$ に保温したTEA緩衝液1.6 mlを正確に加えて振り混ぜ、25  $\pm$  0.1  $^{\circ}\text{C}$ の恒温槽に入れる。1分後に薄めた酢酸 (1 $\rightarrow$ 2) 0.1 mlを正確に加えて振り混ぜた後、氷冷していたトリプシン溶液0.2 mlを正確に加えて振り混ぜ、再び恒温槽に戻し、更に1分後に基質溶液1 mlを正確に加えて振り混ぜ、対照液1, 2, 3, 4および5とする。試料液1, 2, 3, 4および5の波長405 nmにおける吸光度A1, A2, A3, A4およびA5をそれぞれの対照液を対照として測定する。試料溶液1, 2, 3および4の希釈倍数の逆数を横軸に、吸光度を縦軸にとり、標準直線を作成する。この標準直線から、ウリナスタチンを含まない試料液5の吸光度の1/2の吸光度を示す試料溶液の希釈倍数を求

め、次式により本品1バイアル中の単位を算出する。ただし、ウリナスタチン1単位はトリプシン2  $\mu\text{g}$ を50%阻害する量とする。

1バイアル中のウリナスタチン単位=

$$\frac{M \times 0.2 \times DN}{V \times 2 \times 0.1} \times 5 \times 1.68$$

M: 結晶トリプシンの採取量 ( $\mu\text{g}$ )

V: 結晶トリプシンの溶解液量 (ml)

DN: ウリナスタチンを含まない試料溶液の吸光度の1/2の吸光度を示す試料溶液の希釈倍数

#### 結果および考察

##### 1. 紫外吸収スペクトル

紫外吸収スペクトルの一例をFig. 1に示した。候補標準品は276 nmに吸収の極大を示した。

##### 2. 分子量試験

ゲルろ過法で測定した候補標準品のウリナスタチンの分子量は約66000であった。

##### 3. 重量偏差試験

本品のバイアル中への充填の均一性が確保されていることを確認するために、内容物の重量偏差試験を行った。10バイアルの平均充填量は0.00629 gで、最大偏差は6.52%であった。

この結果から、バイアル中の内容重量の変動は十分許容できるものと判断された。

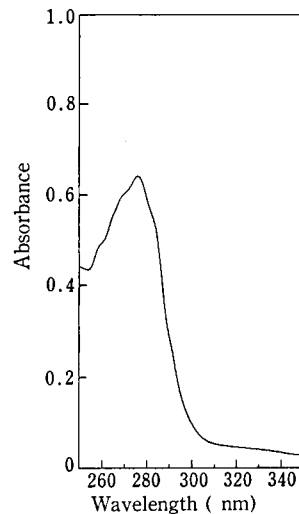


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum of ulinastatin for NIHS Reference Standard

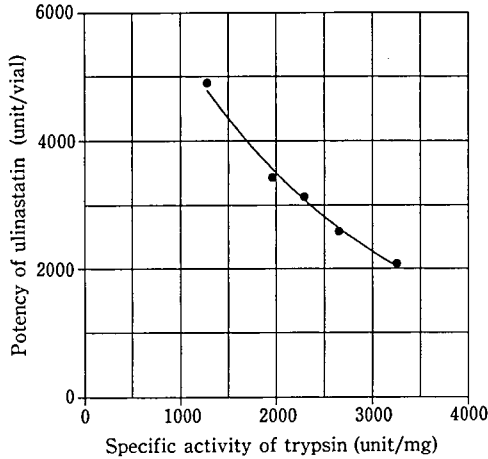


Fig. 2. Relationship between specific activity of trypsin and potency of ulinastatin

#### 4. 含量

ウリナスタチン単位の承認書における定義は、「ウリナスタチン1単位は、トリプシン2 $\mu$ gを50%阻害するウリナスタチン量」である。この定義に従えば、トリプシンの純度によってウリナスタチンの絶対力価は変動することが当然予想される。事実、高純度結晶トリプシンにウシ血清アルブミンを添加して調製した種々の比活性をもつトリプシンを用いて力価を測定すると、トリプシンの比活性が高いほど見かけのウリナスタチンの力価は低くなった (Fig. 2)。したがって、使用するトリプシンの純度 (比活性) は本来規定されなければ表示力価と真の力価との間に差異が生じてくる。

ウリナスタチン製剤が承認されて以来、今日まで本製剤の力価、含量は上記の定義にしたがって表示され、医療現場においても同様の定義による用法・用量で臨床使用されてきた。医療現場や医療保険における混乱を避けるために、同一製剤の単位 (力価) 表示は本質を維持したまま継続されるのが原則

である。本剤の場合、製造会社では開発当時入手可能であったトリプシンを用いて上記のように定義したウリナスタチン単位の絶対単位を決定し、それに基づいて自家標準物質を作製し、以後その標準物質を基準にして相対的定量法により標準物質の更新と製剤の品質管理がなされてきた。このため、本剤製造会社における自家標準物質の本質と表示単位は承認時から現在まで一定に維持、継続されてきたものと考えられる。

今回、公的なウリナスタチン標準品を設定するにあたり、候補標準品を調製した製薬会社が自家標準物質を対照に相対定量法で推定したその含有量は3510単位/バイアルであった。一方、ウリナスタチン製剤が承認を得た当時の品質を有する結晶トリプシンが入手不能であったので、現在入手可能な結晶トリプシン (比活性約3400単位/mg) を使用してその絶対力価を測定したところ、見かけのウリナスタチン力価は約2000単位/バイアルであった。このウリナスタチン候補標準品の相対定量法と絶対定量法による値の相違は上述した如く、使用したトリプシンの純度 (比活性) の違いによるものである。単位と本質の継続性を維持するためには、現在入手できるトリプシンを用いて承認時のウリナスタチン単位の表示が可能になるような換算係数を決定する必要がある。そこで、この高純度結晶トリプシンにウシ血清アルブミンを添加して種々の比活性のトリプシンを調製し、トリプシンの比活性とウリナスタチンの見かけの力値の関係を明らかにした (Fig. 2)。三種のトリプシンを用い、この関係曲線を実験的に作成し、絶対定量法による力価から自家標準物質を用いた相対定量法による力価への換算係数を1.68と決定した (Table 1)。

以上の状況ならびに結果をふまえて、ウリナスタチン候補標準品の力価を2機関で共同検定し、本候補標準品1バイアル中に含まれるウリナスタチンの

Table 1. Determination of the conversion coefficient

| Trypsin<br>(specific activity) | Potency of Ulinastatin (unit) |                             |                           |
|--------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
|                                | Relative<br>assay<br>method   | Absolute<br>assay<br>method | Conversion<br>coefficient |
| A(3250U/mg)                    | 3510                          | 2080                        | 1.69                      |
| B(3400U/mg)                    | 3510                          | 2090                        | 1.68                      |
| C(3400U/mg)                    | 3510                          | 2100                        | 1.68                      |
|                                |                               | mean                        | 1.68                      |

Table 2. Determination of Ulinastatin potency

| Exp       | Potency of Ulinastatin for<br>NIHS Reference Standard<br>(unit/vial) |
|-----------|--|
| 1         | 3550   |
| 2         | 3440   |
| 3         | 3420   |
| 4         | 3590   |
| 5         | 3530   |
| mean ± SD | 3506 ± 73.0  |

力価は 3500 単位であると決定した (Table 2).

### 結 論

ヒト尿から精製したウリナスタチンをバイアル中に小分け・充填し、凍結乾燥したものをウリナスタ

チンの候補標準品とし、その含有力価を 2 機関で共同検定し、1 バイアル中 3500 単位のウリナスタチンを含有するものと認定した。また、本候補標準品の充填変動は最大偏差が 6.52% であり、バイアル間の内容重量の変動は十分許容できる範囲にあった。以上のことから、本候補標準品を初回の国立衛生試験所ウリナスタチン標準品と認定した。

### 謝 辞

ウリナスタチン標準品の設定にあたり、標準品原料および候補標準品の調製ならびに力価測定等の共同検定に参加していただきました持田製薬株式会社に深謝いたします。

### 文 献

- 1) P. Andrews, *Biochem. J.*, **91**, 222 (1964)

## 国立衛生試験所胎盤性性腺刺激ホルモン標準品 (Control 941)

江馬 真・黒坂麗子・天野博夫・中川ゆかり  
村井敏美・小川義之The Human Chorionic Gonadotrophin Reference Standard (Control 941) of the  
National Institute of Health SciencesMakoto Ema, Reiko Kurosaka, Hiro Amano, Yukari Nakagawa,  
Toshimi Murai and Yoshiyuki Ogawa

Raw human chorionic gonadotrophin material was examined for preparation of the "Human Chorionic Gonadotrophin Reference Standard (Control 941)". The candidate material was assayed against the 3rd International Standard by the rat ovarian weight method. The potency of the new standard was defined as 1180 international units per ampoule as the result of 18 assays in four collaborative laboratories.

**Keywords** : human chorionic gonadotrophin, biological assay, authorization, NIHS reference standard

(Received May 31, 1995)

胎盤性性腺刺激ホルモン (HCG) の生物検定用標準品は 1986 年に第 10 回の更新が行われ、1 アンプル当たり 1050 単位 (Control 861) として配布されてきた。今回これを更新するために、第 11 回標準品 (Control 941) を三共ゾーキ(株)、帝国臓器製薬(株)および持田製薬(株)の協力を得て製造した。

## 実験材料および方法

## 1. 標準品原料

三共ゾーキ(株)より入手した比活性 2740 単位/mg (Lot no. 050121) のものを用いた。

## 2. 標準品のアンプル充填

三共ゾーキ(株)に依頼した。アンプル充填の概略は以下のとおりである。

比活性 2200000 単位相当の標準品および乳糖 20 g をそれぞれ注射用蒸留水に溶解し、混合して全量を 3000 ml とした。これをろ過滅菌したのち、1.5 ml ずつ分注し、内容液を凍結乾燥し、アンプルを融封した。充填した 20 本のアンプルについて重量法により調べた液量の分注精度は、平均重量 1527.4 mg、標準偏差 1.8 mg、変動係数 0.115% であった。

## 3. 力価の検定

第 12 改正日本薬局方胎盤性性腺刺激ホルモンの定量法を準用し、幼若雌ラットを用いた卵巣重量増

加法によりその生物活性を測定した。本試験には対照標準品として第 3 回国際標準品 (650 IU/アンプル) を用い、前記 3 社および国立衛生試験所大阪支所生物試験部の 4 機関による共同検定を行った。使用ラットの系統は特定せず、それぞれの機関において日常的に用いられているウイスターまたは SD ラットを使用し、1 群の動物数は 10 例と定めた。また、いずれの機関とも高用量群と低用量群の容量比は 2 であった。

## 4. 検定結果の集計

それぞれの試験によって得られた測定値の加重平均力価を USP の方法<sup>2)</sup>により求めた。

## 試験結果

4 機関で得られた計 18 回の試験結果を Table 1 に示した。いずれの試験においても F 値は 4.119 (df=36) を越えず、また L 値も 0.3 を越えず、本試験結果の精度が確保されていた。これらの結果については分散の均一性が 5% の危険率で否定されなかった。加重平均力価を算出したところ、Table 1 に示したように、総平均力価は 1184 単位/アンプルとなった。その 95% 信頼限界は 1136-1234 単位/アンプル (Lc=0.0361) であった。これらの試験結果に基づいて、日本薬局方胎盤性性腺刺激ホルモン標準品 (第 11 回, Control 941) の力価を 1180 単

Table 1. Summary of the collaborative assay for the candidate Human Chorionic Gonadotrophin Reference Standard

| Exp. no. | Lab. code | No. of rats | Log unit (M) | L      | F'     | w (4 t <sup>2</sup> /L <sup>2</sup> ) | Potency (IU/Amp.) |
|----------|-----------|-------------|--------------|--------|--------|---------------------------------------|-------------------|
| 1        | A         | 40          | 3.0457       | 0.2389 | 2.4793 | 288.7                                 | 1111              |
| 2        | A         | 40          | 3.0637       | 0.1760 | 0.1800 | 531.9                                 | 1158              |
| 3        | A         | 40          | 3.0849       | 0.1216 | 0.7473 | 1114.3                                | 1216              |
| 4        | A         | 40          | 3.1082       | 0.1782 | 0.2707 | 518.8                                 | 1283              |
| 5        | A         | 40          | 3.0931       | 0.1987 | 3.4093 | 417.3                                 | 1239              |
| 6        | B         | 40          | 3.0237       | 0.1802 | 1.5265 | 507.6                                 | 1056              |
| 7        | B         | 40          | 3.1169       | 0.1517 | 0.4526 | 715.6                                 | 1309              |
| 8        | B         | 40          | 3.0542       | 0.1493 | 0.0006 | 739.6                                 | 1133              |
| 9        | B         | 40          | 3.0370       | 0.1575 | 0.0765 | 664.5                                 | 1089              |
| 10       | B         | 40          | 3.0282       | 0.1747 | 0.8290 | 539.9                                 | 1067              |
| 11       | C         | 40          | 3.0966       | 0.1078 | 0.0636 | 1407.0                                | 1249              |
| 12       | C         | 40          | 3.0828       | 0.0991 | 0.4473 | 1664.9                                | 1210              |
| 13       | C         | 40          | 3.0700       | 0.1273 | 0.2898 | 1009.0                                | 1175              |
| 14       | C         | 40          | 3.0803       | 0.1067 | 0.3431 | 1434.9                                | 1203              |
| 15       | C         | 40          | 3.0535       | 0.0891 | 0.0283 | 2056.5                                | 1131              |
| 16       | D         | 40          | 3.1083       | 0.1982 | 0.2786 | 419.5                                 | 1283              |
| 17       | D         | 40          | 3.1341       | 0.2049 | 1.3615 | 392.3                                 | 1362              |
| 18       | D         | 40          | 3.0333       | 0.1740 | 0.0014 | 544.3                                 | 1080              |

Approx.  $\chi^2 M^2 = 10.706 < 27.587$  ( $p=0.05$ ,  $df=17$ )

Weighted mean of  $M=3.0734$

Combined potency=1184 IU/Amp.

$L_c=0.0361$  (1136-1234 IU/Amp.,  $p=0.95$ )

位/アンプルと決定した。

### 結 論

国際標準品を対照として4機関による共同検定を行った結果、本標準品候補品の生物活性は1184単位/アンプルとなり、その95%信頼限界は1136~1234単位/アンプルと算出された。これらの結果に基づいて、日本薬局方胎盤性性腺刺激ホルモン標準品(第11回, Control 941)の力価を1180単位/アンプルと決定した。

終わりに、本標準品の製造のために御協力頂いた三共ゾーキ(株)、帝国臓器製薬(株)および持田製薬(株)に深謝いたします。

### 文 献

- 1) 福田秀男, 押沢 正, 横田椅江, 木村俊夫, 田中 彰: 日本薬局方胎盤性性腺刺激ホルモン標準品(第10回, Control 861)について, 衛生試験, **105**, 87~89 (1987)
- 2) US Pharmacopoeia XXII, pp. 695~700 (1990)

## 国立衛生試験所硫酸プロタミン標準品 (Control 941)

谷本 剛・石光 進・北島 文・岡田敏史

## Protamine Sulfate Reference Standard (Control 941) of the National Institute of Health Sciences

Tsuyoshi Tanimoto, Susumu Ishimitsu, Aya Kitajima and Satoshi Okada

Three kinds of the candidate raw material for protamine sulfate was tested for preparation of the "Protamine Sulfate Reference Standard (Control 941)". The candidates were evaluated by physico-chemical tests and anti-heparin tests. Analytical data were summarized in Table 1.

Based on the above results, the best one having the highest anti-heparin activity was selected and authorized as the Japanese Pharmacopoeia Reference Standard (Control 941).

**Keywords** : protamine sulfate, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard

(Received May 31, 1995)

日局「イソフェンインスリン水性懸濁注射液」製剤の純度試験に用いられる国立衛生試験所硫酸プロタミン標準品 (日本薬局方標準品) のロットの更新を行い、Control 941 として製造したので報告する。

本品の製造および品質評価にあたっては、アルプス薬品工業㈱の協力を仰いだ。

### 1. 標準品候補原料

本標準品の候補品として3種の硫酸プロタミン (Lot. A, Lot. B, Lot. C) をアルプス薬品工業㈱より供与された。

### 2. 参照物質および試薬

各候補品の抗ヘパリン活性の評価のため、日局ヘパリンナトリウム標準品 (1515ヘパリン単位/バイアル; 7.75 mg/バイアル)<sup>1)</sup>を用いた。また、試薬類は特級品および特級相当品を用いた。

### 3. 試験方法

特に記すものの他、第十二改正日本薬局方の一般試験法、日局医薬品各条「硫酸プロタミン」の試験法および USP XXII<sup>2)</sup>を準用した。

#### 3.1 乾燥減量

各候補品約1gを秤量瓶中に精密に量り、105°C、3時間乾燥させ、デシケーターで放冷した後、その質量を測定し、減量率を求める<sup>2)</sup>。

#### 3.2 硫酸塩

各候補品0.15gを精密に量り、水75mlを加えて溶かし、3N塩酸試液5mlを加えた後、加熱する。加熱時、塩化バリウム試液10mlをゆっくりと加え、蓋をした後、蒸気浴上で1時間放置する。沈

殿物をろ過した後、温湯で数回洗浄する。この沈殿物を乾燥し、恒量となるまで強熱した後、その質量を量る。ここで得られた質量に係数0.4117を乗じて硫酸塩の質量とする<sup>2)</sup>。

#### 3.3 旋光度

各候補品を3.1記載の条件で乾燥した後、それぞれ約1gを精密に量り、水を加えて溶かし、正確に100mlとし、試料溶液を調製する。これらの液につき、旋光度測定法により試験を行い、比旋光度 $[\alpha]_D^{25}$  (1g, 100ml, 100mm)を求める。

### 4. 試験結果

候補品3ロットについての理化学的試験および抗ヘパリン活性に関する試験結果をTable 1にまとめて示した。

いずれの候補品も、日局の性状 (pHを含む) および純度試験の(1)溶状、(2)窒素の規格に適合することが示されている。

また、乾燥減量試験および硫酸塩に関する試験は USP XXII で規定されている試験であり、日局「硫酸プロタミン」で規定されているものではない。Table 1によれば、いずれの候補品も乾燥減量および硫酸塩に関する USP 規格に適合するものであることがわかる。

一方、抗ヘパリン試験は、日局および USP とも硫酸プロタミンによるヘパリンナトリウムの抗凝血活性を抑制 (中和) する能力 (力価) を試験しているが、その表現方法が両者で異なっている。日局では硫酸プロタミン1mgがヘパリンナトリウム標準



Table 1. Analytical Data for Three Kinds of Protamine Sulfate

| Item                  | Specification     | Analytical results |         |         |
|-----------------------|-------------------|--------------------|---------|---------|
|                       |                   | Lot. A             | Lot. B  | Lot. C  |
| Description           | A white to light  | Confirm            | Confirm | Confirm |
| pH                    | 4.0~7.0 (1 → 100) | 6.9                | 6.8     | 6.5     |
| Purity test           |                   |                    |         |         |
| (1) Clarity of soln.  | Clear             | Confirm            | Confirm | Confirm |
| (2) Nitrogen          | 0.255 mg N/mg PrS | 0.241              | 0.251   | 0.249   |
| Anti-heparin activity | 0.85~1.15         | 1.00               | 0.94    | 0.98    |
|                       | >100 Hep.U/mg PrS | 137                | 129     | 134     |
| Loss on drying*       | <5%               | 3.3                | 3.7     | 2.8     |
| Sulfate*              | 16%~22%           | 18.7               | 18.8    | 18.8    |
| Optical rot.          | —                 | -72.8°             | -72.9°  | -73.5°  |

\* This item is not specified in the JP, but in the USP.

品約 0.7 mg (0.595~0.805 mg) を中和することを要求しているのに対し<sup>3)</sup>, USP は硫酸プロタミン 1 mg (無水物換算) がヘパリンナトリウム 100 単位以上を中和することを要求している。BP も USP と同様に硫酸プロタミンの抗ヘパリン活性を硫酸プロタミン単位質量当たりのヘパリン単位 (100 単位以上/mg) で表している<sup>4)</sup>。ただし、BP の抗ヘパリン活性の測定は、一定濃度の試料溶液をヘパリンナトリウム標準溶液で滴定し、中和の進行につれて濁度が急激に変化する点を可視部領域の吸光度変化から求める方法を採用している。

このように、日局の抗ヘパリン試験は、試験方法としては USP と同様な方法を採用しながら、その活性の表現方法が不十分であり、硫酸プロタミンの生物活性の本質を捉えた表現となっていない。したがって、規格および試験法の国際調和の観点からも、日局「硫酸プロタミン」の含量規格と抗ヘパリン活性試験法を見直す必要がある。

Table 1 に示すように、各候補品の抗ヘパリン活性は、日局規格 (0.85~1.15) でみた場合も、USP 規格 (100 ヘパリン単位以上/1 mg 硫酸プロタミン) でみた場合も、いずれも適合していることがわかる。なお、USP による抗ヘパリン活性の計算に

あたっては、乾燥減量試験の結果を用いて無水物換算を行っている。

旋光度に関する規格および試験法は、日局および USP とも採用していないが、純度に関する一つの有力な指標となりうるものなので、参考値としてこれを求めた。

## 結 論

硫酸プロタミン標準品原料につき、比較検討した。その結果、いずれの試験項目でも、ロット間に有意な差異は認められなかったため、抗ヘパリン作用の最も高い Lot. A を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ものとして選択した。

終わりに、本標準品の製造にあたり、ご協力いただいたアルプス薬品工業㈱に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 四方田千佳子, 長谷川隆一, 小室徹雄, 岡田敏史, 木村俊夫: 衛生試報, **107**, 148 (1989)
- 2) US Pharmacopoeia XXII, p. 1184 (1990)
- 3) 第十二改正日本薬局方解説書, 廣川書店 (1991)
- 4) BP 1993 (I), p. 560 (1993)

レギュラトリーサイエンス討論会

## 新医薬品の規格および試験方法の設定に関する技術的問題点について

内 山 充

## Technical Implications on the Quality Standard of New Drugs

Mitsuru Uchiyama

New guidelines on the establishment of quality specifications and analytical methods for a new drug application were notified from the Evaluation Division of the Pharmaceutical Affairs Bureau, Ministry of Health and Welfare, on September, 1994.

General policies as well as an impurity test, drug release, and the uniformity of dosage unit are discussed from the viewpoint of international harmonization and technical advancement.

**Keywords** : pharmaceutical standard, guidelines for drug quality, drug release, impurity, uniformity of dosage unit

(Received May 31, 1995)

医薬品の開発と製造技術の進歩を取り入れ、国際的な調和をも念頭に置いて、平成6年9月に「新医薬品の規格および試験方法に関するガイドライン」が薬務局審査課長より通知された。このガイドラインの策定に当たったものの一人として、内容の解釈と実施に際しての技術的問題等につき述べる。

## 1. 規格および試験法についての総括的方針

1) 総合評価—当該医薬品の品質の特色と水準を規格全体から総合的に規定して、公に登録する。定量法を確認試験の目的に利用したり、含量均一性試験結果を定量値に代用したりする柔軟性を持たせる。

2) GMP重視—原料の品質や製造法を品質規格設定に際して十分に考慮し、製造工程管理と共役させて規格を合理化する。

3) 試験法は原則として局方準用—日本薬局方の通則、総則、一般試験法、標準品、試薬・試液等に準拠し、規格の水準は薬局方各条を参考にした上当該医薬品の特色については適切な追加規格を設定する。

4) 試験法選択基準—一般試験法以外については、有効的確に目的を果たせるもの、信頼度の高い方法、および新技術の導入に心掛ける。

5) 規格値レベル—必要以上の厳しい規格値は求めず、承認の前後を通じて有効性、安全性の確保できる一定の品質規格とすることを優先する。製造工

程の管理により規格変動幅の少ない品質の確保に努める。

6) 記載法・形式—日本薬局方に準拠する。

## 2. 特記すべき事項 (純度試験と製剤試験)

## 1) 純度試験

承認申請書の添付資料の「ロ-1 構造決定」における合成法 (原料・溶媒・精製方法) を参照しつつ「ロ-2 物理化学的性質」の強制分解生成物の検出法と生成機構の検討結果、および「ハ 安定性試験」の苛酷試験データの結果に基づき、類縁物質 (原料、中間体、副生成物、および分解生成物) の検出量と分析法を「ロ-2 物理化学的性質」に記載する。0.1%以上含有する類縁物質あるいはそれ以下でも作用の強いことが予想されるものについては化学構造を記載する。同時に、前臨床試験や臨床試験に用いた全ロットおよび実生産のロットの不純物プロファイルを記録しロット間の差異を考察する。0.1%含有又は1mg/日摂取以上の不純物については原則的に安全性の検討が求められる。ただし、前臨床と臨床試験に用いたロット中に存在したものおよび体内代謝物は除く。

これらの検討結果に基づき、規格項目は類縁物質、試薬・触媒、溶媒、重金属・無機塩等の中から選ぶ。0.1%以上あるいは作用の強いものについては個別の規格を、その他については各々を0.1%以下とす

るようにまとめた相対規格とする。試験法は分析の特異性、検出下限、物質間の検出感度の比較などを考慮して定め、規格限度値は安全性と用量を勘案して妥当な値を定める。これら規格項目、規格試験法および規格値を定めた経過と妥当性を「ロ-3 規格試験法」に説明する。

## 2) 製剤試験

製剤技術の進歩をうけ、製剤の機能の特徴づけその有用性を保証するための試験法開発が必要となっている。製剤単位の含量や物性の均一性、およびバイオアベイラビリティの同等性を確保するための試験項目の充実などが検討すべき問題である。

すべての固形製剤（坐剤、貼付剤、懸濁性製剤を含む）に溶出試験又は放出試験を、崩壊試験より優

先して設定すべきである。試験方法は研究段階のものも含め、各製剤について最適のものを工夫する。消化管内や投与部位の生理的条件を試験条件に反映するように検討し、放出に個人差が少ない製剤を目指すべきである。これらの試験はバイオアベイラビリティの保証ではなく品質管理であり著しい非同等性の防止を目指す。一方放出調節製剤では *in vivo* での放出を反映するような試験条件の設定を検討する必要がある。

また、すべての固形内服製剤（主薬含量の多いもの、作用の緩徐なものを除く）には、重量偏差試験に替えて含量均一性試験を設定する方向にある。含量均一性試験を定量法の代替とすることは望ましい。

日本薬局方にみがきをかけるために  
—一定量法について—

石 橋 無味雄

Improving on the Japanese Pharmacopeia  
—On Assays and Determinations—

Mumio Ishibashi

Dr. Mitsuo Watanabe has offered many suggestions and points to be considered on the Japanese Pharmacopeia. His points of the matter include the nomenclature of reagents. Issues on electrodes and volumetric standard solutions to be used in nonaqueous potentiometric titrations are also involved, as well as the justification of a method for quantitative determination and analytical method validation.

His concerns have prompted studies and careful surveys of these vital points to consider investigating that the nomenclature of reagents should be directed to principally follow the rules of IUPAC. Consideration has also been given to an issue of nonaqueous potentiometric titration, where problems many frequently be found with liquid junction between the electrode and the solution under titration. To work out the issue, investigations have started of an alternative technique characterized in using a platinum (or silver) electrode and a glass electrode as an indicator electrode and a reference electrode, respectively, without any liquid junction. For any titration system in question that can be regarded as nonaqueous titration from viewpoints of analytical chemistry. It has been suggested the use of any volumetric standard solutions of aqueous system should generally be avoided. Other points received consideration include sampling procedures for testing, interpretation of results from quantitation, and analytical method validation.

**Keywords :** JP, nonaqueous titration, assay

(Received May 31, 1995)

「日本薬局方にみがきをかけるために」とのご意見とご指摘を帝京大学渡辺 光夫教授から日本薬局方フォーラム<sup>1)</sup>に頂いた。それらのご意見について、寺尾 允前日本薬局方部長から日本薬局方フォーラム<sup>2)</sup>誌上で回答がなされ、それらの回答のうち幾つかについて検討を約している。本報では、それらの事項について、その内容および検討の結果を報告する。なお、ここに報告するものは、これまでの調査研究報告であり日本薬局方調査会として審議された結果ではない。

(意見1) 金属イオンでイオン価の異なるものがあるときは、鉄(II)、鉄(III)等とイオン価をつけて呼ぶのが正しいが、日局では試薬名を第一鉄、第二鉄等と呼び、また定性反応においても、鉄塩第一、鉄塩第二などの呼び名を用いている。これらは正し

い呼び方に統一すべきである。

(回答) 今後、「試薬等の名称は、原則として、IUPACに準拠して定められた JIS 試薬の名称に整合させる。ただし、医薬品各条に由来する試薬の名称は、原則として、医薬品各条の名称に整合させる。」ことを原則に、かつ可能な限り教育の場で用いられている名称に整合させることも考慮しつつ改正作業を行っていきたい。また定性反応等においても同様の方向で名称を改めることを検討する。

(意見2) 弱塩基の塩酸塩を過塩素酸を用いて非水滴定(電位差法)をするとき、溶媒に無水酢酸を用いると再現性に問題がある。また電極を無水酢酸で処理した後、用いるとよい結果が得られるとした文献がある。

(回答) 無水酢酸を溶媒とした実験の結果、電

極の被滴定溶液の液絡部に問題が生じ易く、滴定結果に影響を与えることがあった。しかし、飽和カロメル電極又は銀/塩化銀電極と被滴定溶液の液絡部(膜)が詰まらなければよい定量結果が得られた。しかし、滴定系に無水酢酸が多いほど再現性ある結果を得ることは難しかった。これらのことから無水酢酸のみを滴定溶媒とする試験方法は、望ましい方法とはいえない。また無水酢酸で処理した電極を用いると、処理しないときの結果よりも再現性が良くなるなどの結果は、今回の実験の結果として認めることはできなかった。

なお、本滴定法を用いた試験の実施および試験方法の設定に際しては、現在の一般試験法の規定を尊重しながら滴定の目的に最も適した塩橋を選択して使用すること、滴定系内の水分(溶媒、標準液、電極液)に注意すること、試料のアセチル化等に注意し、分析化学として正しい分析方法を採用すること、試験方法を定量結果から評価するとき過剰な「あいまいさ」を入れないように配慮することが必要である。

(意見3) (2)の滴定法で指示電極に白金を用いた例(臭化ジスチグミン)がある。他のものもガラス電極との優劣を検討するとよい。

(回答) 臭化ジスチグミンでは、白金とガラス電極の間に優劣はなく(電位の飛躍は白金が大きかったが、滴定値の評価に差がない)、(1)の回答と同様に電極と被滴定溶液との液絡部が問題であった。なお、ガラス電極の検出部は無水酢酸による脱水により質的な変化を起こすように見受けられた。白金はガラス電極のように質的な変化は受けないが、文献<sup>3)</sup>によれば白金表面の酸化等により電位の変化が起こりやすいと言われている。現在、指示電極および参照電極にそれぞれ白金(又は銀)、ガラス電極を用い、液絡部なしで分析を行う方法を検討している。予備実験の結果では、非水滴定の際の電位差滴定用電極として液絡部を持つ電極と比較して良い試験結果が得られている。

(意見4) 水が含まれるテトラメチルアンモニウムヒドロキシド液を用い、本来、非水滴定法で定量すべき弱酸の滴定を行うのは、分析化学的におかしい。

(回答) 日局の方法で問題なく、定量は可能である<sup>4)</sup>。その理由は、本定量法が、過塩素酸による

非水定量法よりも水分の影響を受け難いためである。しかし、その反応系が水の水酸基により妨害を受けることが明らかな定量法は、水がない状態で行うことが望ましい。現在は、水を含まないテトラメチルアンモニウムヒドロキシド液の入手が可能で無水の状態で容量分析用標準液の調製が可能である。そこで提案法に改めるべく実験を行った。その結果、非水系で滴定を行っても真値と推定される100%からずれる定量結果を与える試料が見いだされ、その原因を検討中である。この原因としては非滴定物質の性質に起因することが予想される。そこで弱酸の定量法については、今後も検討する。なお、弱酸の滴定溶媒にジメチルホルムアミド等の塩基性溶媒を用いるときは、空気中の水および二酸化炭素の影響に注意し、窒素を流しながら滴定を行う等の注意が必要である。

(意見5) 定量結果の判定について、「数回、定量を行い、その標準偏差を求め、平均値から上下標準偏差の3倍の範囲が、規格値の上限、下限の外にでない」ことで適否を判定する。

(回答) 日局は、医薬品が、製造会社から出荷されてから消費されるまでの間、様々な経路で流通する医薬品のすべてが保持しているべき品質を示したものである。そのため、試験の対象とする試料は様々な経歴、量(試料を採取した母集団としての量)を持つことになる。それゆえ試験を行うに際してのサンプリング法および試験結果の判定に関し、日局では規定していない。例えば、医薬品製造会社が出荷のための試験として、日局の試験を実施するときには、その試験を実施するための手順書(SOP)にロットとしての品質を保証するために必要なサンプリング法および試験の判定方法等が医薬品製造者の責任において定められる。しかし、国や地衛研が取去して試験を行うとき、その取去した検体の母集団は、病院の薬局、町の薬局、卸等が保持していた医薬品である。そこで、試験者が検体から不適なものを見いだしたとき、まず薬局や卸等の保管している医薬品(母集団)が不良品である可能性が高いと考えるべきで、短絡的に同一ロットのすべてが不良品であるとは考えないことが必要になる。すなわち、流通過程にある医薬品の試験を行ったとき、その結果は「必ずしも同一ロットの製品の品質を反映した試験結果ではない」ことになる。このことが日局にサンプリング法や判定方法の記載が必要

とされなかった理由である。しかし、現状を考えると医薬品の製造工程に関する事項に日局が関連を深めていくことも必要なことと考えられ、提案された判定方法も非常に興味あるご提案で、判定方法等について「その考え方」を日局に記載していくことも必要と思われる。その具体的方法および考え方は、今後の審議に委ねるが、その一つの方法として「測定値の変動が大きい場合は、5~7回測定し、その標準誤差を求め、平均値から上下標準誤差の3倍の範囲が規格値の上限、下限の外に出ない」等が考えられる。

(意見6) 定量法に滴定法が規定されているとき、標準液1mlを消費する医薬品の量に適当な名称があると便利である。「標準液1mlに対応する医薬品の量(対応量)」とし、この語を認知してはどうか。

(回答) 対応量として特に問題がないと思われるが、委員会で検討する。

(意見7) USPのように分析法バリデーションを日局に取り入れることが望ましい。また、USPのバリデーションには添加回収率のみがあげられ標準添加法の考え方が抜けている。日局に標準添加法の考え方を取り入れてはどうか。

(回答) 分析法バリデーションについては、一般試験法委員会で検討中であり、ICHと整合したものを第13改正日局に収載する予定である。

## 文 献

- 1) 渡辺光夫 JP Forum 1, 28 (1992)
- 2) 寺尾 允 JP Forum 2, 66 (1993)
- 3) 鹿島 哲, 園 欣弥, 滴定と溶媒抽出, 南江堂, 東京 (1958); 化学の領域 増刊 30
- 4) 石橋無味雄, 豊岡利正, 佐藤真奈美, 武田 寧, 寺尾 允, 医薬品研究, 23, 58 (1992)

## 生薬および生薬製剤の国際的な動き

佐竹元吉

## Globalization of Herbal Medicines

Motoyoshi Satake

Herbal medicines, as the major remedy in traditional medical systems, have been used in medical practice and made a great contribution to maintaining human health. WHO is fully aware of the importance of herbal medicines of the health of many people throughout the world, and then WHO reported 3 kinds of guideline for herbal medicines. U.S.A. has the new bill for dietary supplement included herbal medicines, and been discussed the harmonizing North American Herbal Regulation.

**Keywords :** globalization, herbal medicines, dietary supplement

(Received May 31, 1995)

## 緒言

最近、伝統医薬品を中心とした植物療法が盛んに行われるようになり、生薬製剤の国際的な交流が行われている。新しく開発された、または再開発された生薬製剤も新薬同様にその品質、有効性および安全性が評価され、使用が許可されている。しかし、各国とも異なる評価基準で認可しているため、各国で流通するためには国際的調和が必要になってくる。生薬製剤は化学医薬品とは異なり、それぞれの国の伝統的な文化に基づいて薬として認知されたものである。特に、伝統医学体系の中での有効な医薬品であるため、新しい異なった医療体系ではその実験的・臨床的な有効性が認められないことが多く、医薬品として西洋医学の医療体系に入らないことが多い。これらの生薬製剤の有効性を証明するためには母体となる医療体系（漢方、アユルベータ等）を理解して、疾病の実験的・臨床的モデルを作成しなければならない。

EU および米国は伝統医療で用いる薬物はほとんど医薬品としては認めていないが、我が国は伝統薬の漢方製剤が医療体系の中に組み込まれているので、伝統医療と西洋医学を同列で評価できる数少ない国の一つである。化学薬品の恩恵を受けることの出来ない、世界の人口の70%の人達が安く、安全で、有効な自国の伝統薬のみならず、諸外国の伝統薬を用いることができるようになることが期待されてい

る。

生薬・生薬製剤に関する国際的な動きを紹介して、我が国の役割に触れてみたい。

## 1. WHOの動き

WHOは1978年のアルマータ宣言で有用性が証明された伝統薬 (traditional remedy) を各国の医薬品行政に取り入れようと提唱し、これを受けて第4 (東京, 1987年) および第5 (パリ, 1989年) 国際医薬品行政官会議 (ICDRA) で国際的に取引される伝統薬の規制に関する検討会議が持たれた。第6回のオタワ会議 (1990年) で Guidelines for the Assessment of Herbal Medicines, Assessment of quality, safety, and efficacy and intended use が作成された。これに引き続き、品質および有用性に関する2つのガイドラインが作成された。

(1) 生薬および生薬製剤 (HERBAL MEDICINES) の品質、安全性、有効性および実際の使用に関する評価のためのガイドライン<sup>1)</sup>

このガイドラインの目的は HERBAL MEDICINES の品質、安全性、有効性の評価のための基準を定義して、各国の行政当局、研究機関、および製薬業界等が書類や申請書を作ったり、評価したりするときの一つの目安となることである。

このガイドラインでの HERBAL MEDICINES は生薬および生薬製剤と訳す。生薬および生薬製剤とは医薬品として市販され、かつ有効成分として生

薬又は植物の一部が用いられているものを指している。

#### A) 薬物としての評価

##### (Pharmaceutical assessment)

各国の薬局方の各条に記載されている生薬を重視して、製品にするときには医薬品製造管理および品質管理に関する基準 (GMP) に従わなければならないとされている。生薬および生薬製剤は化学薬品とは異なるので、以下の点に留意して取り扱う。

a) 生薬に関してはその基原植物の学名を正確に同定し、利用部位を明らかにして特徴を記載すること。もし活性化化合物が明らかなき場合はそれを記載すること。証拠となる標本は同定した分類学者の名前を記載して、少なくとも 10 年間は保存すること。ロット番号は記載すること。これは製品ラベルに記載すること。

b) 生薬製剤に関しては詳細にその製造方法を記載しなくてはならない。また、品質を確認する方法を記載しなければならない。その方法がないときにはクロマトパターンでもよい。

c) 最終製品に関しては賦形薬等を詳細に記載すること。生薬成分が確認できる方法を記載すること。確認する方法がないときにはクロマトパターンでもよい。服用する形に関する一般的な規則に従うこと。

d) 物理的および化学的な安定性に関しては製品を貯蔵条件で試験して、自己管理法を確立すること。

#### B) 安全性の評価 (Safety assessment)

a) 毒性の研究が可能であれば評価法に取り入れるべきである。

b) 経験に基づく安全性の根拠としては、長期間使用してその評価がなされていることを原則とする。

#### C) 有効性と実際の使用に関する評価

##### (Assessment of efficacy and intended use)

有効性評価の臨床試験、薬理試験およびそれに関連する文献をまとめ、試料と文献記載の方法とを比較して評価を行う。

a) 活性に関しては活性成分の薬理と臨床の効果を記載する。

b) 適応症とするための根拠としては医師や伝統薬の治療師から報告された個々の経験を考慮すべきである。

c) 配合製品は古いものと新しいものとの配合の相違を比較した上で評価すべきである。

d) 消費者のための製品の情報として、製品や梱包にラベルを正確につけること。

e) 宣伝やその他の啓蒙活動を通じて、製品の有用性を医療関係者や一般の人々に堅実に伝えるべきである。

#### (2) 生薬の品質確保に関するガイドライン<sup>2)</sup>

##### (Quality control methods for medicinal plant materials, WHO, July, 1992)

各国の薬局方収載生薬の一般試験法を参考にして、下記の 17 項目にまとめあげられたものである。

A) 品質試験を行うときの試料の扱い、B) 異物の鑑別法、C) 外部形態の観察および顕微鏡観察法、D) 薄層クロマトグラフィー法、E) 灰分の測定法、F) エキス含量測定法、G) 水分と揮発性物質の含量測定法、H) 精油含量測定法、I) 苦味の測定法、J) 溶血性の測定法、K) タンニンの測定法、L) 膨脹指数、M) 気泡指数、N) 残留農薬の試験 (42 種類の農薬を対象とする)、O) 砒素と重金属の試験法、P) 微生物の検出法、Q) 放射線物質の汚染、について記載されている。

#### (3) 生薬の安全性と有効性評価のための研究用のガイドライン<sup>3)</sup> (Research guideline for the safety and efficacy evaluation of herbal medicines) (WHO, Oct. 1992)

このガイドラインは科学的に裏付けされた生薬・薬用植物を医療に使用する際に、その安全性や有効性を検討するためのもので、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された。また、伝統的に用いられてきた技術や文献資料を参考にして、追補として 1) 生薬の品質と材料の調整方法に関する指針、2) 生薬の薬物動態学および薬理学的研究方法の指針、3) 生薬の毒性の試験法の指針 (急性、慢性、局所、特殊毒性試験) を付け、さらに、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) も記載して、生薬および生薬製剤の安全性や有効性を評価する方法を示している。

以上の 3 つのガイドラインが伝統薬の品質評価には重要な資料となると思われる。

## 2. アメリカの動き

### 1) DIETARY SUPPLEMENT

アメリカでは生薬および生薬製剤を含む DIETARY SUPPLEMENT の規制に関するハック・ホキン法 (Hatch-Harkin bill) が 1994 年 10 月に議会でも可決された<sup>4)</sup>。

この概要は 1. この法律は食品、DIETARY SUPPLEMENT 又は慢性病 (ガン、心臓病、骨多孔症



など)を予防するために摂取すべきものを取り扱う。2.この法律は、需要者が価格の高い医療サービス(西洋医学)を避け始め、かえってヘルスケア(西洋医学以外)関係者の実績の方が消費者(需要者)の信頼を得てきているという調査結果に基づいて作られている。3.栄養食品産業はアメリカ経済における重要な産業の一つとしての法的裏付けが必要である。4.連邦政府は安全性を欠くものや偽物に対しては厳しい処置を取るが、消費者への正確な情報と安全性を保障されたものの流通に関して理由のない規制をしたり、処理を遅延することはしない。以上のようにDIETARY SUPPLEMENTの振興に向かった法律である。

DIETARY SUPPLEMENTの規制上の定義はビタミン、ミネラル、ハーブ又はその他の植物、アミノ酸となっており、その他のDIETARY SUPPLEMENTは病人が摂取するものがほとんどで、食事制限のための補助食品、濃縮物、代謝産物、繊維、抽出物、又はこれらの混合物とされている。

また、最初にDIETARY SUPPLEMENTとして市場で取引され、後に新薬として成分が承認されたものは継続してDIETARY SUPPLEMENTとしても売ることができる。

またこの法律でFDAは、食品添加物にHERBSとDIETARY SUPPLEMENTを含めることを禁止している。

DIETARY SUPPLEMENTの安全性に関しては、それを証明する本や科学的文献を正しく参考にしていれば認可され、それらは記載が認められる。栄養補給に有用であるとの表現は体の機能や構造に対して有効であるとも記載してよい。ラベルに関する規制は、DIETARY SUPPLEMENTという意味の表現を付記することとなっている。その他、製品管理に関しても触れている。

しかし、未だ十分にDIETARY SUPPLEMENTの定義が確立していないため、この法律の実施に先立って、大統領直属のDIETARY SUPPLEMENT委員会が2年間の検討期間を必要とする。この委員会は生薬学者、植物学者、医師、アメリカインディオの生薬の知識のある人等を委員として構成される。

## 2) 北アメリカのHERBAL REGULATIONの国際的調和<sup>5)</sup>

アメリカ合衆国の生薬関係の経済成長率は1年間

に15~20%にもなり、アメリカの製薬会社もこの領域には興味を持ちだしてきている。このような事情を背景に北米3国(カナダ、メキシコ、アメリカ)間でHERBSの評価方法について意見の交換が行われている。ある意見ではHERBSを3つのカテゴリーに分けている。1つはOTC薬、2つめはDIETARY SUPPLEMENT(ビタミン、ミネラル、ハーブ、その他の植物、アミノ酸、その他の類縁物質)、3つめは伝統薬(ヨーロッパのホメオパシー薬等)である。このような問題の討論会を計画することにより、国際的調和の考えがより一層広がってきている。

## 結 語

我が国の生薬および生薬製剤の市場の伸びはここ数年横這いである。だが、これらの品質を向上させることにより、さらなる伸びが期待できるであろう。

WHOが各国の共通の品質規格を提案し、薬効に関してもガイドラインを定めていることを考慮すれば、我が国は共通の生薬を用いる中国、韓国、モンゴル等の国との生薬および生薬製剤の品質に関する国際的調和を行うことにより、薬効の明らかな生薬および生薬製剤を各国で流通しやすく、かつ安価に供給し、安全性に問題がないものとして普及させることが出来ると期待される。

## 文 献

- 1) WHO/TRM/91.4, Guidelines for the Assessment of Herbal Medicines, Assessment of quality, safety, and efficacy and intended use, 1991
- 2) WHO/PHARM/92.559, Quality control methods for medicinal plant materials, 1992
- 3) RS/92/GE/15 (PHL) (Annex 4), Research guideline for the safety and efficacy evaluation of herbal medicines WHO, Oct. 1992
- 4) Mark Blumenthal, Congress passes dietary supplement health and education act 1994, herbs to be protected as supplements, Herbalgram, 32, 18~20, 1994
- 5) Loren D. Israelsen, Harmonizing north american herbal regulation: A U.S. perspective, Herbalgram, 32, 20~22 1994

## 酵素製剤の品質確保のあり方

谷本 剛・早川 堯夫

## Requirement for Quality Control of Enzyme Preparations

Tsuyoshi Tanimoto and Takao Hayakawa

Enzyme preparations are medicine which prepared from natural and biotechnological enzymes or modified enzymes. The catalytic ability of the preparations display the efficacy of a medicine, and its chemical substance is protein. From these characteristics, the quality of enzyme preparations has to be evaluated at viewpoints what distinguish from synthetic drugs. Quality of enzyme preparations should be evaluated and assured from the following viewpoints: 1) definition of enzyme source, 2) identification of function for catalyst and substance as protein, 3) purity for functional enzyme protein, 4) biochemical evidence that justifies pharmacological action, 5) safety, and 6) contents.

**Keywords** : enzyme, enzyme preparations, quality control

(Received May 31, 1995)

酵素剤は天然あるいはバイオテクノロジーを施した動物、植物、微生物あるいは培養細胞などの生物素材から抽出精製した酵素、あるいはこの酵素に修飾を施したものを医薬品にしたものである。このような酵素剤はその触媒能を薬効に期待するものであり、化学的本質がタンパク質であることを大きな特徴とする。したがって、酵素剤の品質は通常の合成医薬品とは異なる観点からの評価が必要となり、それに基づいて品質を確保していかなければならない。次に、酵素剤の品質を評価し、保証する上で特に重要と考えられる幾つかの点について述べる。

### 1. 基原の明確化

基原が異なれば、同じ触媒能をもつ酵素であっても酵素化学的性質、タンパク質化学的性質、免疫化学的性質、生物学的安定性など諸々の性質が異なり、このことはその有効性や安全性に大きく影響する。例えば、L-アスパラギナーゼは急性白血病の治療薬として *Escherichia coli*, *Erwinia carotovora*, *Bacillus coagulans*, *Fusarium tricinctum* などの種々の基原の酵素が検討され、*E. coli* の酵素が医薬品化されている。何れの基原の酵素も触媒能は類似しているが、*B. coagulans* や *F. tricinctum* の酵素は半減期が短く、薬理作用である抗腫瘍作用も示さない。したがって、酵素の基原を明確にすることはその有効性を保障する上で必要なことである。

基原の明確化は規格書に基原を単に記載すること

ではなく、規格試験法によってそれが確認されなければならない。試験法としては、基質特異性などの酵素化学的性質や免疫化学的性質などを利用した方法が考えられる。エンドペプチダーゼ型プロテアーゼのように触媒的性質が極めて類似している酵素の場合にも、ペプチド結合に対する作用部位特異性のわずかな相違を利用して当該プロテアーゼを確認することは可能である。例えば、可溶性還元リゾチームのようにすべてのアミノ酸を含有し、適当な分子量で、一次構造が決定されており、高純度標品が容易に入手できるタンパク質を基質として、その分解産物をペプチドマッピングすることによってそれぞれのプロテアーゼの酵素化学的性質が確認できる。

### 2. 酵素の確認

#### (1) 触媒としての機能の確認

酵素剤はその触媒能を薬効に期待するものである。その薬理作用を反映した特異的な触媒活性を確認することは必須である。定量法がこの特異的な活性を利用しておれば、定量試験が確認試験をも兼ねることになるが、そうでない場合は薬理作用に関連した特異的な活性による確認試験を設定する。例えば、カリジノゲナーゼの本質はキニノーゲンへの作用であって、生じたキニンが末梢血管の拡張という薬理作用を示す。したがって、キニノーゲンへのカリジノゲナーゼの作用によるキニンの生成を適当な方法で確認する。

現在の酵素剤は主に生物から抽出して得た native な酵素を利用しているが、今後はこの天然型酵素を修飾し、従来薬にできなかったものを医薬品化したり、あるいは天然型が持つ欠点を改良して有効性や安全性の向上を図る方向に向かう。この修飾型酵素剤は修飾によって新しい機能が付与されており、このことが大きな特徴であるので、この付与された機能は当然保証されなければならない。

### (2) 物質としての実体の確認

酵素の機能が確認されても、必ずしも特定基原の酵素あるいは医薬品としての当該酵素分子種であることが確認されたわけではない。1で述べたように酵素機能が共通であっても基原が異なればその物性が異なるので、免疫化学的、物理化学的、タンパク質化学的な諸性質を利用してその物質としての実体を確認することが必要になる。例えば、ヒト尿ウロキナーゼには分子量の異なる2種の分子種が存在し、両者の酵素化学的および免疫化学的な性質は極めて類似しているが、医薬品には高分子量型の分子種が用いられる。このような場合は分子量によって当該酵素を規定していくことが考えられる。その他、アミノ酸組成分析、抗原抗体反応、ゲル電気泳動などが確認の手段として利用できる。

### 3. 純度

酵素は生物体から得られるものであるから、タンパク質以外の多くの生体成分の混入が予想される。これらの混入物は必要に応じて除去されているが、そのことを保証するための試験が通常設定される。タンパク質成分には、目的酵素タンパク質とそれ以外の夾雑タンパク質がある。目的酵素タンパク質には薬効に関係する活性型と変性・失活した不活性型とがある。この不活性型酵素タンパク質と夾雑タンパク質を合わせて純粋な活性型酵素タンパク質に対して不純タンパク質と位置付ける。酵素剤の純度においてはこの純酵素タンパク質と不純タンパク質の両面からの見方がある。純酵素タンパク質の面からは比活性でその純度の側面が規定できる。不純タンパク質はその種類と混在量の両面から捕らえることが有効性と安全性を保証するうえで大切になってくる。不純タンパク質の試験方法にはゲル電気泳動法や HPLC 法などの分析手段を積極的に取り入れていくべきである。また、有効性、安全性、品質維持又は品質試験などに影響するプロテアーゼ類のような生化学的因子の混在が予想される場合は、生化学的方法でその因子の混在量を規定する。

### 4. 薬理作用の生化学的裏付け

確認試験や定量試験が当該酵素の薬理作用に関連する酵素作用に基づいた試験法である場合は特に問題にならないが、そうでない場合には薬理作用も裏付けることのできる生化学的試験を別に規定することが有効性を規格の面からも保証することになる。

### 5. 安全性

酵素剤の本質は生体から抽出したタンパク質であるので、夾雑物を含む総体としての安全性を免疫化学的な面から考慮すべきであり、さらに必要に応じてウイルス汚染などに対する保証にも配慮する必要がある。

### 6. 含有量

含有量の保証は有効性を保証する上で重要であり、12局追補で日局取載の酵素剤すべてに定量的概念を導入した。高純度な酵素剤であっても、その重量は酵素タンパク質量であって薬理作用を有する酵素の量ではない。酵素量は力価あるいは単位で表される酵素活性量として測定されるものであり、質量として測定できるものではない。

酵素の活性測定には、大別して生理的基質である天然基質を用いる方法と合成基質を用いる方法とがある。前者は基質の品質にばらつきがあり、試験操作が一般に煩雑であり、分析精度や経済性もあまり良くないが、薬理作用を反映するという点で特異性は高い。一方、後者は天然基質の持つ欠点は比較的少ないが、特異性という点については前者に劣る。このように両法には一長一短があるが、酵素の定量という意味での活性測定は必ずしも特異的である必要はなく、むしろ簡便で精度の高い方法を採用するほうがよい。

酵素活性の測定は種々の環境因子によって大きく影響されるので、絶対定量法では厳密な条件設定とその遵守が大切になってくる。標準品を設定すれば相対定量法が可能になり、測定の操作性と誤差は大きく改善されるので、酵素剤の開発においては標準品の設定を念頭におくことが望ましい。

### おわりに

医薬品の品質を確保する、あるいは保証すると言うことは、その有効性と安全性を確保し保証するということである。そして、これらの具体的な保証の仕方として「規格とその試験方法」が設定される。この「規格および試験方法」は医薬品の、特に市販後の有効性と安全性を確保し、保証していく上で唯

一の拠り所となるものである。このことは酵素剤といえども例外ではなく、酵素の特性を反映した、す

なわち上述したいくつかの基本的な要件を満たすような規格の設定を考えていくことが肝要である。

**会議名：**IPCS 国際化学物質安全性カード (ICSC)

最終原案検討会議

**出席者：**化学物質情報部 山本 都

**開催場所，時期：**ブリュッセル (ベルギー)，1994年  
4月16日～25日

**参加者内訳，人数：**EU 各国，米国，カナダ，日本，  
ロシア，IPCS，IARC の担当  
者，EU 委員会，ILO，CEFIC  
等約 20 名

**会議内容：**IPCS の国際化学物質安全性カード (ICSC) は，各国の担当者が毎年分担してカードの原案を作成している。本検討会議では，各国の担当者が集まって原案を詳細に検討し最終案とする。毒性データ検討グループ 2 班，化学データ検討グループ 2 班の計 4 グループに分かれて，今回は約 100 物質のカード原案を検討した。

**会議名：**化学物質の安全性に関する国際会議 (ICCS)

**出席者：**化学物質情報部 神沼二眞

**開催場所，時期：**ストックホルム，1994年4月25  
日～29日

**参加者内訳，人数：**化学物質の安全性に関する政府  
関係者，140ヶ国，340名

**会議内容：**この会議では，国際化学物質安全性フォーラムの開催と，IPCS の機能を拡大し，そこにフォーラムおよびその間に開かれるインター・セッション・グループ (ISG) や，課題別ワーキンググループの事務局を置くことが決定された。また同時に，UNCED で採択されたアジェンダ 21 の (化学物質の安全管理に関する第 19 章の行動目標を具体化するための 6 分野の行動計画の優先度 (Priorities for Action) が合意された。

これに伴い，わが国としては，WHO に置かれている IPCS の機能の強化をするため，できれば WHO の IPCS 事業を支援する搬出金を増大し，人の派遣などによる IPCS の事務局機能の強化すること，および，優先度の高い 6 分野の行動計画のうちでもとくに，化学物質のリスク・アセスメント事業 (プログラム・エリア A) を強化，継続とともに，化学物質の安全性に関する国際的な情報交換機構の構築に協力することとなった。

**会議名：**医薬品国際一般名称委員会

**出席者：**薬理部 大野泰雄

**開催場所，時期：**ジュネーブ (スイス)，1994年4  
月27日～29日

**参加者内容，人数：**16人，内 WHO 臨時委員 8人，  
WHO 事務局 4人。なお，その  
他 4人が一部の問題に関する協  
議に参加した。

**会議内容：**1) 新規申請 100 品目について国際一般  
的名称 (INN) 策定作業を行い，96 品目について  
仮の名称が選択された。わが国からの申請品目数は  
6 品目で，その内 4 品目が一部修正を受けた。2)  
List 68，69 掲載の p-INN への反対意見を審議し，  
4 品目については p-INN を支持するが，他の品目  
に関しては企業にそれを通知することとされた。3)  
事務局が INN 申請者に対して化学名に由来する名  
称を付けないよう通知するガイドラインを作成する  
こととされた。4) INN のステムおよびラジカルや  
基に対する名称をまとめた文書，および化学構造表  
記についての文書が配付された。5) サイトカイン  
に対する命名法について審議され，インターロイキ  
ンに対するステムの定義が合意された。6) 糖蛋白  
医薬品を糖の相違により区別するために名称に  $\alpha$ ，  
 $\beta$  等を付記することとされた。7) 血液凝固因子の  
ステムが定められた。なお，血清から抽出したものは  
従来どおり「血液凝固因子～」と命名される。

**会議名：**化学物質安全性に関する地球情報ネットワ  
ーク (仮称) 構築に関する非公式の会合

**出席者：**化学物質情報部 神沼二眞

**開催場所，時期：**1994年5月2日 WHO/IPCS，5月  
3日 ILO

**参加者内訳，人数：**G. Gilbert (IPCS)，J. Takala  
(ILO)，P. Peterson，B. Wag-  
ner，F. Ouane (以上 UNEP/  
IRPTC)，廣田 (生活安全対策  
室)

**会議内容：**報告者 (神沼) が発案，作成し，Gilbert  
氏が修正を加えた，標記のネットワークの原案が説  
明され，内容についての討議が行われたが，その重  
要性が認識され実現に努力すべきであるという合意  
に達した。具体的な行動としては，(1)先に設立され  
た国際化学物質安全性フォーラムの事務局としての  
拡大 IPCS の事業の一環として推進委員会 (Steer-

ing Committee) を設立して、本構想を推進する、  
 (2)この推進委員会の最初の会議を 94 年 12 月に、衛  
 試 (の情報部) がホストとなって東京で開催する、  
 (3)上記の行動計画案に基づき、WHO/IPCS、ILO  
 の情報担当者、UNEP/IRPTC が必要な資料を作  
 成して、7 月の拡大 IPCS の会議で承認してもら  
 うよう働きかける、などが確認された。

会議名：ISO/TC194「医療用具の生物学的評価」

出席者：療品部 中村晃忠

開催場所、時期：オタワ (カナダ)、1995 年 5 月 10  
 日～12 日

参加者内容、人数：17 ヶ国、約 70 名

会議内容：材料の生体内分解に関する WG2 を 2 分  
 割して、一方を材料の分解性試験関係を担当するも  
 のとし、他方をトキシコキネティクス関係を担当す  
 るもの (WG13) とした。臨床治験に関する国際基  
 準案 (DIS) は投票の結果、承認され印刷に回され  
 ることになった。細胞毒性試験法の修正提案があり、  
 定性的な方法と定量的な方法を明示すること、一部  
 については試験法の限界について記述することで合  
 意した。また、標準材料の国際的なバリデーション  
 を計画することで合意した。溶血性試験は informa  
 tive annex として出版されることになった。医  
 療用具中に残留する化学物質の限度値をきめる一  
 般的アプローチの審議が始まり、第 2 回を 10 月に米  
 国で開催することを決定した。試料の前処理法に  
 関する基準案は、投票とコメントに基づく修正を終  
 えて、国際基準として印刷に回ることになった。次  
 回は 1996 年 4 月にスウェーデンで開催される。

会議名：(1)クリティカルレビュー協議会議および、  
 (2)臭素化難燃剤の環境保健クライテリア検  
 討タスクグループ

出席者：化学物質情報部 関沢 純

開催場所、時期：Geneva (スイス) と、London (英  
 国)、1994 年 5 月 28 日～6 月 13 日

参加者内訳、人数：(1)IPCS、IRPTC などの 5 名、  
 (2)IPCS および 8 国から 12 名  
 (臭素化難燃剤メーカーからの  
 オブザーバーを含む)

会議内容：(1) これまで、どの国で、どの物質につ  
 いて、どのような安全性評価がなされ、どのよう  
 なかたちで公表されているかを知る手段がなかった。  
 IPCS、IRPTC を中心に、これらの資料 (クリティ

カルレビュー) を登録し、各国などで利用できるデ  
 ータベースを開発することにした。

(2) 臭素化難燃剤は電気製品、建材や車などに広  
 く使われ、火災時や焼却処理時にポリ臭化ジベン  
 ゴ-*p*-ダイオキシンなどが生成する可能性が考えら  
 れた。安全性を評価した結果、リスクは小さいが燃  
 焼条件に留意すべきであるとされた。

会議名：第 3 回 FAO/IAEA 照射食品の検知法に  
 関する共同研究会議

出席者：食品添加物部 河村葉子

開催場所、時期：ベルファスト (英国)、1994 年 6  
 月 20 日～24 日

参加者内訳、人数：英国、ドイツ、フランス、米国、  
 オーストラリア、ニュージー  
 ランド、中国、FAO/IAEA 等、  
 約 20 名

会議内容：本会議は、FAO/IAEA が 1990 年から 5  
 年計画で推進してきた”照射食品の検知法に関する  
 共同研究計画”の最終会議であった。会議前半の研  
 究発表部分は “International Meeting on ADMIT”  
 として公開され、照射検知法に関する最新の研究成  
 果の発表と参加者による熱心な討議が行われた。後  
 半は共同研究計画のメンバーによる非公開の会議と  
 なった。まず今回のプロジェクトの総括が行われ、  
 この計画が進められた 5 年間に照射検知法に関する  
 研究はめざましい進歩をとげたことが報告された。  
 次に ESR 法・熱発光法・シクロプタノン法等各方法  
 毎に研究の現状をまとめ、判別性、特異性、感受性、  
 簡便性等について評価を行い、また食品毎に適用可  
 能な検知法の一覧表を作成した。更に熱発光法によ  
 る照射香辛料の検知法については、CEN が準備中  
 の標準分析法を支持することを決定した。最後に共  
 同研究計画の最終報告書の原案と照射検知法開発の  
 今後についての勧告を作成し終了した。

会議名：OECD 第 2 回高生産量化学物質安全性点  
 検初期評価会議 (2nd SIAM)

出席者：総合評価研究室 中館正弘

開催場所、時期：Chateau de la Muette, OECD,  
 Paris (フランス)、1994 年 7 月 4  
 日～6 日

参加者内訳、人数：加盟 14 カ国、IPCS、IRPTC、  
 CEC、BIAC、OECD 事務局等  
 51 名

**会議内容:**パリのOECD本部で開催された第2回OECD高生産量既存化学物質安全性点検初期評価会議に出席し、以下の項目についての討議を行った。

Phase-2 評価対象物質 30 品目に関する初期評価レポートをもとに、評価作業を行った。今回の初期評価会議では、評価結果を次の4種類に分類した。

カテゴリー1: Further work のための優先度が低く、これ以上のアクションは必要なく、評価文書を IRPTC に送付する物質。

カテゴリー2: Further work のための優先度は低い、特定の性質または影響があり、注意が必要な物質

カテゴリー3: ポスト SIDS Work (暴露情報の収集や Further Testing) が必要な物質

カテゴリー4: さらに詳細なアセスメントが必要で、その結果として場合によってはリスククラクション活動が必要な物質

全体としては、14 物質がカテゴリー1に、3 物質がカテゴリー2および3に、2 物質がカテゴリー2, 3, 4に、1 物質がカテゴリー3に、1 物質がカテゴリー4に分類され、9 物質が次回評価会議で再検討されることとなった。

わが国からは、全体の37%弱にあたる11物質について報告し、討議の結果、6物質がカテゴリー1、1物質がカテゴリー2および3、1物質がカテゴリー3、3物質が次回再検討に分類された。

**会議名:** 医薬品開発における立体化学的諸問題に関する会議

**出席者:** 薬理部 大野泰雄  
有機化学部 宮田直樹

**開催場所, 時期:** ロックビル (米国), 1994年7月6日~10日

**参加者内容, 人数:** 日, 米, 欧の医薬品規制担当の行政官, 大学および政府研究機関の研究者, 製薬団体の代表, 医薬品製造会社の開発担当者等, 約200人

**会議内容:** 本会議は, DIA (Drug Information Association) が主催し, カナダのアルバータ大学の Dr. F. Jamali, 米国 FDA の Dr. R. Williams, カナダ HPB の Dr. I. McGilveray がプログラム委員となって開催された。薬物の薬理作用は光学異性体によ

って異なり, また, 代謝や毒性も異なる。立体化学的構造異性体が存在する化合物を医薬品として開発する際には, 有効性・安全性, 更には品質確保の立場から, 立体構造に起因する諸問題に対する適切な対応が必要である。本会議では, このような諸問題について, 光学活性医薬品 (キラル医薬品) を開発することの意義, キラル医薬品に固有の課題, 光学異性体の分析法, キラル医薬品の評価方法, 行政上の諸問題等について, 製造, 分析, 前臨床, 臨床等について, 討議および意見交換を行った。また, 会議の後, FDA の主催で光学活性医薬品に関する専門家会議が開かれ, 光学活性医薬品の開発に関する国際ハーモニゼーションの必要性について意見交換を行った。

**会議名:** 国際協力事業団 (JICA) の天津市薬品検査技術プロジェクトにかかわる調査

**出席者:** 所長 内山 充  
生薬部 尾崎幸紘  
大阪支所生物試験部 小川義之

**開催場所, 時期:** 天津市薬品検査所 (中国), 1996年8月23日~30日

**参加者内訳, 人数:** 天津市科学技術委員会, 天津市衛生局, 天津市薬品検査所, 中国日本大使館, JICA 中国事務所関係者および JICA 専門家

**会議内容:** 中国国内の薬品検査所における医薬品の品質管理技術の向上を通して中国で流通する医薬品の品質, 有効性および安全性を確保することに寄与することを目的として, 平成5年11月6日に本プロジェクトの技術協力に関する協議議事録の署名, 交換が天津市薬品検査所との間で実施され, 5年間の協力が開始された。

この協議に基づき, 本プロジェクト計画打合せ調査団が内山所長を団長として派遣され, プロジェクトが開始されてから後の活動進捗状況, 本期間中に生じた諸問題について意見交換し, 相互理解に基づき協定実施時に策定した暫定実施計画の見直し, 今後の実施計画の調整を行い, 最終的に同意した事項について議事録を作成し署名した。

今回の派遣において特に検討した項目は, 分析機器の管理体制および実験器具, 試薬の確保, 医薬品の品質管理, 審査, 検査の合理的管理システムの段階的な確立, また, 抗生物質の品質管理および生物学的効力評価, 生薬および生薬製剤の品質管理および

薬効評価、薬理試験および活性評価（発熱試験、インスリン検定、毒性試験）についてであり、これらに必要な分析機器、実験設備等についての計画を立てた。

**会議名：**ジェネリック医薬品の販売承認基準に関する会議

**出席者：**薬品部 青柳伸男

**開催場所：**ジュネーブ（スイス）、1994年8月23～26日

**参加者内訳、人数：**合計27名（日米欧より各1名、発展途上国より4名、国際医薬品協会、国際薬剤師連盟、WHO職員等、20名）。

**会議内容：**ジェネリック医薬品の同等性評価の国際的基準を作成する第2回目の会議で、発展途上国に輸出されるジェネリック医薬品の品質確保を図ること、および先進国間の同等性評価法の国際調和を図ることに目的がある。昨年、まとめられた基準原案に対する各国政府、医薬品協会からのコメントを中心に、主として、生物学的同等性試験における溶出試験の役割、被験者の選択基準、生物学的同等性試験を免除できる医薬品の基準、測定対象成分等について討議が行われた。最も論議を呼んだのは溶出試験の役割であったが、日本から提出された「薬局方における溶出試験の役割と適用規則」の考え方が、参加者に受け入れられ論議は収束した。最終日に総合討論を行い、完成案に近いジェネリック医薬品の販売承認基準（案）が作成された。

**会議名：**ソマトロピン（成長ホルモン）の規格および試験方法、標準品、力価表示に関する国際会議

**出席者：**生物薬品部 早川堯夫

**開催場所、時期：**ストラスブルグ（フランス）、1994年9月7～8日

**参加者内訳、人数：**欧、米、日の産、官、学、薬局方関係者、WHO関係者ら約40名

**会議内容：**組換えソマトロピン（組換えヒト成長ホルモン：rhGH）の品質管理（QC）に関して、国際的に相互認識を深め、今後の課題や方向づけについて討議することを目的とする会議であった。議論の中心となったのは、次の4つの話題であった。そのうち、1) rhGH国際標準試薬（88/624）を国際

標準品とするようWHOに申し入れする件に関しては、全員が合意した。しかし、含量表示について、わが国が同ロットに対し、3年余をかけた国際共同検定結果を尊重すべきと主張したのに対し、特に米国は、国内で慣行的に用いていた数値とするよう主張し、WHOの判断待ちとなった。2) rhGHのQCになんらかのバイオアッセイが必要か否かについても、欧は理論面から、わが国は独自の研究結果に基づき不要であるとしたが、米国は慣行および法律を根拠に必要とする方向を堅持するとした。3) rhGH製剤の表示を現行の国際単位からmg表示とすることについては、臨床治療の継続性と一定性に留意することが肝要であり、各国での規制や臨床現場、患者に最適な選択をすべきとの見解が日/欧の官側から述べられた。4) rhGH製剤試験法の局方での調和に関連してHI-HPLC、IE-HPLC、CE法などの新規導入や現行法改良について検討したが、継続討議となった。

**会議名：**ICH バイテク医薬品の品質に関する EC 専門家との打ち合せ会議

**出席者：**生物薬品部 早川堯夫

**開催場所、時期：**ランゲン（ドイツ）、パリ（フランス）、1994年9月9～15日

**参加者内訳、人数：**欧州のバイテク医薬品の品質に関する規制当局の専門家10数名

**会議内容：**ICH-3で取り上げられる予定のバイテク医薬品の品質のトピックスに関する相互理解と調和ガイドライン完成へ向けての一層の推進を図るため、各EC専門家を訪問し、討議を行った。ECが主担当のQ5C: Stability of Biotechnological/Biological Products（バイテク医薬品および高純度の生物学的製剤に関する安定性試験のあり方）については、ドラフト作成担当者に第6次ドラフトに関するわが国の見解とその背景を詳細に説明し、討議を深めた。この際のわが国の意見は、以降、全面的に尊重された形のままでステップ2に至ることとなった。わが国が主担当のQ5A: Viral Safety（ヒトや動物細胞培養技術を応用して生産されるバイテク医薬品のウイルス面からみた安全性確保のための細胞基材、製造過程および生産物に対する試験、評価のあり方）については、7月に配布した第2次ドラフトをもとに意見交換をした。本課題については、EC内で独自の見解を持つとされるドイツの専門家



および EC ラポータであるフランスの専門家と個別に会談して詳細な討議を行い、EC の多様な意見の背景に関する理解を深めた。さらに、次の課題と目されていた Cell Substrate 問題や、その他動物代替法問題に関する各 EC 専門家との意見交換を行った。

**会議名:** OECD 遺伝毒性試験臨時専門家会議

**出席者:** 変異遺伝部 祖父尼俊雄

**開催場所, 時期:** ローマ (イタリア), 平成 6 年 9 月 17 日~25 日

**参加者内訳, 人数:** 12 カ国および, EC, BIAC の代表および OECD 事務局を含め合計 34 名

**会議内容:** 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、その最終案を作製するための会議である。

既存ガイドラインとしては、サルモネラ菌と大腸菌を用いる試験を 1 つにまとめた細菌を用いる復帰変異試験、哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験、哺乳類を用いる *in vivo* 小核試験、哺乳類骨髄細胞を用いる染色体異常試験、哺乳類培養細胞を用いる遺伝子突然変異試験、哺乳類精原細胞を用いる染色体異常試験の 6 試験について論議した。さらに、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・組換え試験について検討を加えた。

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。なお、ショウジョウバエを用いる試験については、各国行政サイドがその結果について評価し、行政に反映できる段階に至っていないとの意見が大勢を占め、結局 OECD ガイドラインとしては本委員会では取りあげないこととした。これらの意見をとりまとめた最終案は 1995 年の前半に作製され、各国 OECD 代表者に送付される予定となっている。

**会議名:** FAO/WHO 残留農薬に関する合同会議出席

**出席者:** 薬理部 藤森観之助

**開催場所, 時期:** ローマ (イタリア), FAO 本部, 1994 年 9 月 19~28 日

**参加者内訳, 人数:** 合同会議計 32 名; 事務局 9 名, WHO 専門委員 6 名, WHO 臨時顧問 9 名, FAO 専門委員 8

名

**会議内容:** 合同会議の WHO 残留農薬専門家グループ会議に出席した。今回の会議では 13 品目の農薬が取り上げられ、該当農薬およびその代謝物の生化学および毒性データからなる WHO 臨時顧問の作成した作業資料を基に、データ分析と毒性学的評価を行い、無有害作用量 (NOAEL) 若しくは無作用量 (NOEL) を決め、ヒトにおける許容一日摂取量を設定した。同時に評価過程に生じる問題の討議を行った。評価された設定 ADI (単位 mg/kg 体重/日) はアバメクチン (0~0.0002), アゾサイクロチン (0~0.007), クロルフェンピホス (0~0.0005), クロルメコート (不設定), クレトジム (0~0.01), サイヘキサチン (0~0.007), フェンプロピモルフ (0~0.003), フォレート (0~0.0005), フォスメット (0~0.01), テブコナゾール (0~0.03), テクナゼン (0~0.02), テフルペンズロン (0~0.01), トルクロールホスメチル (0~0.07) である。なお今回の主な一般議題として、摂取による急性リスクの評価についておよび不可避性汚染物質 (農薬) に体する毒性エンドポイントの問題が討議された。

**会議名:** 医療用具の滅菌法の国際調和のための会議 (ISO-TC198) 出席

**出席者:** 衛生微生物部 三瀬勝利

**開催場所, 時期:** ミネアポリス (米国), 1994 年 10 月 1 日~7 日

**参加者内訳, 人数:** 米国, 英国, オランダ, カナダ および日本 (三瀬) 合計 9 人

**会議内容:** グルタルアルデヒドなど化学液剤による滅菌法の International standard 作りの予備会議を行い、各国の意見調整を行った。

**会議名:** ISO/TC 150 「外科用インプラント」

**出席者:** 療品部 中村晃忠

**開催場所, 時期:** ローマ (イタリア), 1994 年 10 月 3 日~7 日

**参加者内容, 人数:** 14 ケ国, 68 名

**会議内容:** 主に体内に埋植するような医療用具の諸基準を審議する場である。WG7: Fundamental principles, WG8: Breast implant に参加した。WG7 は、EC 指令の基本要件を国際基準として一般化しようとする試みであり、欧米の医療用具関係コングロマリットが積極的に推進しようとしている。事前のリスク評価が必ずしも常に全面的に可能とはいえない

ため、承認後のフォローアップ体制と見直しを前提として「許容できるレベルの不確かさ」を認める必要がある旨を主張し、賛同を得た。その結果、前文にその趣旨の文章が追加され、基準として出版されることとなった。WG8は、人工乳房の国際規格を作ろうとするもので、その第1回の会議であった。シリコンジェルの自己免疫疾患に対する見解、バッグ材料の破裂強度問題、バッグ材料の長期組織反応などに関して意見が一致しなかった。

**会議名：**IPCS 国際化学物質安全性カード (ICSC)  
最終原案検討会議

**出席者：**化学物質情報部 山本 都

**開催場所、時期：**アレキサンドリア (エジプト)、  
1994年10月21日～31日

**参加者内訳、人数：**EU各国、米国、カナダ、ロシア、エジプト、日本、IPCS、IARCの担当者、EC委員会、ILO、CEFIC等約25名

**会議内容：**IPCSの国際化学物質安全性カード(ICSC)の原案の検討を行った。わが国はホウ酸、臭素酸カリウムなど6物質について新規カードの原案作成を行い、また無水フタル酸、ギ酸イソプロピルなど4物質のカードの更新を行った。初日はエジプトの専門家を対象としたワークショップが開催され、カードの日本語翻訳についてプレゼンテーションした。

**会議名：**ICH 専門家準備会議 (品質分野 I)

**出席者：**薬品部 小嶋茂雄  
大阪支所 武田 寧

**開催場所、時期：**ブリュッセル (ベルギー)、1994年  
10月24日～27日

**参加者内訳、人数：**日米欧三極の品質分野の薬事規制当局および製薬団体関係者  
20～30名

**会議内容：**1995年11月に横浜で開催されるICH-3に向けて品質分野のガイドライン案について協議した。安定性試験に関しては、新剤形医薬品および承認事項一部変更に関する安定性試験ガイドライン案について審議するとともに、既に三極合意により成案を得ている新医薬品の安定性試験法ガイドラインの施行に関する諸問題について協議した。光安定性試験法ガイドライン案については、第4次案(1994年9月)のコメント期間中であるため実質的な審議

は行われなかった。新剤形医薬品および承認事項一部変更に関する安定性試験ガイドライン案(第1次案、1994年5月)については、承認事項一部変更の種類や程度に応じた試験ロット数あるいは試験期間の削減度等について合意に至らず、第2次案を作成し、継続審議することとなった。新医薬品の安定性試験法ガイドラインについては、3極の行政当局の施行上の見解を確認した。

**会議名：**ICH 専門家準備会議 (品質分野 II)

**出席者：**大阪支所長 武田 寧  
薬品部 小嶋茂雄

**開催場所、時期：**ブラッセル (ベルギー)、1994年  
10月24日～27日

**参加者内訳、人数：**日米欧三極の薬事規制当局および製薬団体関係者、約30名

**会議の内容：**品質分野の5つのトピックスのうち、分析法バリデーションならびに不純物規格の調和に関する会議での検討の内容について報告する。

分析法バリデーションの用語とその定義に関するテキストについては、各極で基本的合意案を内示して意見を求めた結果を踏まえて議論が行われ、三極間で最終的な合意に達することができた。また、このテキストの規定を具体的に適用する際に必要とされる各バリデーション・パラメータの評価方法についての議論が開始された。

製剤の不純物規格のガイドラインについては、原薬に含まれる不純物は、製剤中において増加することがない限り、このガイドラインの対象とせず、対象を「製剤中での分解生成物および主薬と他の成分との相互作用による生成物」に絞ることが合意された。議論のポイントとなったのは、安全性の確認が必要ないき値をどのレベルに設定するかという点であった。残留溶媒のガイドラインについては、ラボターが決っていなかったこともあって、ガイドラインを設定する上での考え方や今後の検討の進め方について議論が行われたのに止まった。

**会議名：**ICH 専門家準備会議 (品質分野 III)

**出席者：**生物薬品部 早川堯夫

**開催場所、時期：**ブリュッセル (ベルギー)、1994年  
10月24～27日

**参加者内訳、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20名

**会議内容:** ICH-3でのバイオ医薬品の品質に関する討議(Q5)に向けての2回目の専門家会議であった。Q5A: Viral Safetyに関しては、第2次案を更に改訂した第3次プレドラフトのテキスト本体部分全体にわたって一通り検討した。主な改訂点は、*in vivo*細胞培養由来の産物をテキスト本体の対象外とし、appendixに必要事項を改めて記入することであった。Q5B: Genetic Stability(組換え医薬品生産に際して、目的産物の品質の恒常性を確保する方策の一環としての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連する技術的要求のあり方)に関しては第8次ドラフトについて検討し、第9次案が作成された。第9次案についてのEC以外の関係者の感想は、Glossaryでの詳細な詰めは除いて、合意、署名可能なものであるというものであったが、EC域内での検討および各極での正式コメントを待つこととなった。Q5C: Product Stabilityに関しては第7次ドラフトについて検討した。保存温度の一般的呼称問題、ワクチン補遺の記述内容等で論点が残された。新たな課題Q5DとしてCell Substrate(細胞基材)が取り上げられることとなり、包含すべき項目についての予備的議論が行われた。

**会議名:** ICH 専門家準備会議(安全性分野)

**出席者:** 安全性生物試験研究センター 林 裕造  
 毒性部 黒川雄二  
 薬理部 大野泰雄  
 病理部 高橋道人  
 変異遺伝部 祖父尼俊雄

**開催場所, 時期:** ブルッセル(ベルギー), 1994年10月24日~27日

**参加者内訳, 人数:** 日米欧3極の行政および企業の研究者など, 約50名

**会議内容:** 9つの分科会においてガイドライン作成に参加し、以下の結果を得た。S1A(発がん性試験をどのような場合に実施すべきか), Step 1 draftを作成。S1B(発がん性試験に2種のげっし類を用いる事), Prestep 1 draftを作成。S1C(発がん性試験における用量設定の方法), Step 4に到達。S2A(遺伝毒性試験の特定項目に関するガイダンス作成), Step 3段階での討論。S2B(遺伝毒性試験における最小限必要な試験の組み合わせの検討), Step 1 draftの作成。S3A(反復投与組織分布試験

ガイダンス作成), Step 4に到達。S3B(反復投与薬物動態試験ガイダンス作成), Step 4に到達。S5B(雄授精能評価法), 日本における共同研究進捗状況の報告とS5A(生殖発生毒性ガイドライン)にAddendumとする事を決定。S6(バイオ医薬品の安全性評価), Concept paperを作成し最終的にはガイドラインの形を取らないことに決定。なお、S4(反復投与毒性試験)では、依然イヌを用いる場合の投与期間を6カ月か12カ月かにすべきかの問題が残り、draft作成にも至っていない。

**会議名:** IPCS 農薬合同会議(JMP)のコアアセスメントグループ会議

**出席者:** 化学物質情報部 関沢 純

**開催場所, 時期:** Geneva(スイス), 1994年10月25日~11月3日

**参加者内訳, 人数:** 12国より専門委員20名, 国際機関より事務局13名, 国際農薬工業会からオブザーバー10名(自社データの説明時のみ)の計43名

**会議内容:** IPCSにおける農薬の安全性評価作業の重複を省き、成果の有効利用を図る目的で農薬合同会議(Joint Meeting on Pesticides: JMP)が発足した。今回は第一回の試みであり、5つの農薬(Chlorothalonil, Diflufenuron, EDC, Methomyl, EDB:日本が作成を担当)の環境保健クライテリア(EHC)原案を検討した。EHCの最終検討と、農薬としての安全性評価をあわせて行い、健康と環境への影響につき、曝露経路毎に最もクリティカルな影響の種類と、その影響の見られる濃度を同定し、Tolerable Daily Intake(TDI)などを評価した。

**会議名:** 天然資源開発利用に関する日米会議, 第29回日米合同会議および第8回有毒微生物国際シンポジウム

**出席者:** 衛生微生物部 三瀬勝利  
 高島浩介

**開催場所, 時期:** ペオリア(米国), 1994年11月12日~21日

**参加者内訳, 人数:** 米国, 英国, 仏国, 独国, 日本など200人

**会議内容:** 合同会議では文献の交換, 標準品や菌株の分与や譲渡がなされるとともに、過去1年間の食品微生物分野における日米両国の話題と意見交換

がなされた。シンポジウムの主題は“Molecular approaches to food safety issues involving toxic microorganisms”であった。組み換えDNA技術を含む最新の分子生物学的手法を利用して微生物汚染対策を考えていこうとするのが本シンポジウムの目的である。3日間のシンポジウムで合計36の論文が発表された。日本人の演題は12であった。最新の成果が発表され、重要な情報を得る事が出来た。

**会議名：**15th Asian Congress of Pharmaceutical Sciences (Federation of Asian Pharmaceutical Associations)

**出席者：**薬品部 石橋無味雄

**開催場所，時期：**バンコック(タイ)，1994年11月15日～19日

**参加者内訳，人数：**正式メンバー国12カ国と特別参加国6カ国が参加。約1000名

**会議内容：**バンコック郊外のセントラルプラザホテル・コンベンションホールを会場として、15日に参加登録、16日の朝からタイ国首相の臨席のもとに開会式が行われた。開会式では、会長挨拶の後、石館守三元日薬会長に特別賞が贈られた。その後、北卡罗ライナ大学ハーツェマ教授他2題の基調講演、シンポジウム5題が行われた。17日からのセッションミーティングは、科学部会、生産薬学部会、病院薬学部会、開局部会、薬品市場部会、薬学教育部会、公衆衛生部会、薬局方および薬用植物部会、薬事制度部会、軍・緊急薬学部会の10の部会で96題が行われた。またポスタープレゼンテーションで31題の発表が行われた。日本からの参加者は、それぞれ日薬から指定された部会に分かれて参加し、講演と討論に参加した。厚生省からは薬局方および薬用植物部会(石橋)と薬事制度部会(薬務局麻薬課伊藤補佐)に参加した。薬局方に関しては、ホスト国タイと日本が、その方針や内容についてカントリーレポートを行い、その内容について質疑と討論が行われた。会議は、19日に無事終了した。オープニングとクロージングパーティは、タイ側の招待で民族衣装で華やかに行われ、会議運営等に関しても急速な発展途上にあるタイの情熱と意気込みが強くまた強烈に感じられた会議であった。

**会議名：**FAO/WHOの第43回合同食品添加物専門家会議(JECFA)

**出席者：**病理部 三森国敏

**開催場所，時期：**ジュネーブ(スイス)，平成6年11月15日～24日

**参加者内訳，人数：**JECFA正委員，FAO/WHO事務局，FAO顧問，WHO臨時顧問，計30名

**会議内容：**以下の残留動物用医薬品については、今回の会議で議題に変更が加えられた。アプラマイシン、イミドカルブとラクトバミンは評価のための資料が提出されなかったため、議題から除外した。アザペロンとエンロフロキサシンは毒性と残留評価のために、また、デキサメタゾンも残留評価のために今回の議題に追加された。したがって、今回の会議では、ディハイドロストレプトマイシン、アザペロン、カラゾロール、エンロフロキサシン、ゲンタマイシン、ネオマイシン、オキシソリン酸、スピラマイシンおよびデキサメタゾンの毒性と残留データに関する評価に基づく一日許容摂取量(ADI)の設定と最大残留基準値(MRL)の勧告がなされた。その他、古くから使用されている動物用医薬品についてのADIやMRL設定については、現状の科学進歩に対応した資料がないため評価困難なものが多いことから、販売メーカーのみならず、市販権を持たない製造メーカーやその団体、および政府等が協力して評価用の資料を提出することが必要であることが強調された。また、養殖水産物に残留する動物用医薬品の安全性評価のためのガイドライン作成の必要性がこの会議で強調された。

**会議名：**第22回OECD環境委員会および化学品グループの合同会議、運営委員会、及び有害性評価諮問委員会

**出席者：**総合評価研究室 中館正弘

**開催場所，時期：**Chateau de la Muette, OECD, Paris(フランス)，1994年11月16日～18日

**参加者内訳，人数：**加盟20カ国，IPCS，IRPTC，CEC，125名

**会議内容：**パリのOECD本部で開催された第22回OECD環境委員会および化学品グループの合同会議に出席し、以下の項目についての討議を行った。

1. 農薬フォーラムにおいては、農薬に関する国際機関間の登録、試験法等の調和等1995～96年の活動計画について討議した

2. OECD試験法ガイドラインの改訂/作成計画

が討議され、10種の試験法の改訂と1種の新しい試験法が承認された。

3. GLPの原則に関する改訂案が討議され、原則的に各国より支持されたが、適用範囲については次回に持ち越された。

4. 有害性評価については、HAAB (ハザードアセスメント諮問委員会) の内規改訂が承認された。

5. 化合物分類について討議されたが、時期尚早との理由で次回に持ち越された。

6. 前回に引続きリスクリダクション計画についての討議が行われ、鉛に関するリスクリダクション計画の策定について詳細に議論がなされた。また、水銀、カドミウム、臭素系難燃剤に関するリスクリダクション文書案の改訂、およびメチレンクロライドに関する文書案の作成計画が検討された。

5. その他の活動として、既存化学物質プログラム、バイオテクノロジー、化学物質事故対策についての進捗況が報告され、討議された。

**会議名：**OECD コンピュータシステムのGLP 査察に関する作業部会

**出席者：**変異遺伝部 林 真

**開催場所、時期：**パリ (フランス)、平成6年12月14日～16日

**参加者内訳、人数：**カナダ、デンマーク、フランス、ドイツ、日本、オランダ、スウェーデン、英国、米国からの政府およびOECD事務局による合計17名

**会議内容：**「コンピュータシステムへのGLP原則の適用」のドラフト作成を目的として開催された。当初予定されていたコンピュータ査察チェックリストのドラフトについては、原案作成が間に合わず、議題とならなかった。ドラフトは、1992年10月インターラーケンでのコンセンサスワークショップにおいて概ね合意されたコンセプトに沿って原案が作成されており、それに基づいて議論がなされた。ライフサイクルバリデーションの考えに乗っ取り、システムの開発段階を適用範囲に含めること、システム運用管理職員の責務、重要性を明確にすること、生データの定義、アプリケーションのソースコードの入手、使用したOSの保存等に関して議論がなされた。米国より提案されたソースコードおよびOSに関しては参加者の合意が得られず、次回OECDのGLPパネルで更に論議することとなった。

**会議名：**IPCS/OECD 優先物質諮問会議

**出席者：**総合評価研究室 中舘正弘

化学物質情報部 関沢 純

**開催場所、時期：**Research Triangle Park (米国)、1995年1月30日～2月3日

**参加者内訳、人数：**通産省化学品安全課、化学品検査協会、日本化学工業協会の3名および、IPCS、OECD加盟国と途上国の計16国、関連国際機関、米国化学品製造者協会の計66名。

**会議内容：**国連環境開発会議 (UNCED) の有害物質対策に関する決議に基づき、国際協力による化学物質の安全性評価を促進するため、優先物質の選択と、評価内容について協議した。要求されている目標 (1997年までに200物質、2000年までに500物質の評価を行う) を達成するために、既存の各国や国際機関が作成している安全性評価資料を基に Short document を作成する。また Short document の内容、体裁、作成対象物質については、Steering Committee を設け、検討するという事になった。

**会議名：**ISO/TC150/WG8 「人工乳房」

**出席者：**療品部 中村晃忠

土屋利江

**開催場所、時期：**メルボルン (オーストラリア)、1995年2月2日

**参加者内容、人数：**4ヶ国、7名

**会議内容：**ローマ会議に続く第2回のWG会議。日本から、シリコーンジェルの弱いアジュヴァント活性を示す論文、バッグ材料の長期組織反応評価試験法原案および人体内でのバッグ強度の経時的低下に関する文献を提出した。議論の焦点は第1回と変わらず、平行線をたどった。

**会議名：**IPCSによる遺伝毒性と発癌性のリスクアセスメントのハーモナイゼーション会議

**出席者：**変異遺伝部 祖父尼俊雄

**開催場所、時期：**イギリス、ロンドン、平成7年2月11日～19日

**参加者内訳、人数：**アメリカ、欧州、日本からの専門家15名、UNEP、IARC、USEPA、IPCS/WHO、CIIT、ILSI、ECETOC、AIHCの代表9名、合計24名

**会議内容：**遺伝毒性と発癌性のリスクアセスメントの国際的なハーモナイゼーションのために必要なアクションプランを作製することを目的としている。最初に本会議を開催に至った経緯、会議の目的、会議の進め方、最終的な作製すべき内容など全体的な方針について報告、論議が行われた。本会議のためにEPAでまとめられた遺伝毒性と発癌性に関する2つの草案について報告があり、これを中心に論議が進められた。更に、カナダ、USEPA、EUの代表から遺伝毒性と発癌性に関するリスクアセスメントにいかに対応しているかについて報告があり、これらの論議を踏まえて、遺伝毒性と発癌性について取りあげるべき項目が検討された。

その後、遺伝毒性と発癌性の2つのサブグループに分かれて、それぞれ個別の項目毎に論議が行われ、2つのサブグループから遺伝毒性と発癌性に関する最初の原案が提出された。この後全員による会議にてこれら2つの原案について再度論議が行われ、遺伝毒性および発癌性のリスクアセスメントのためのアクションプランの最終案が作製された。

**会議名：**OECD第3回高生産量化学物質安全性点検初期評価会議(3rd SIAM)および化学製品グループ運営委員会

**出席者：**総合評価研究室 中館正弘  
毒性部 長谷川隆一

**開催場所、時期：**Fort Magruder Inn & Conference Center, Williamsburg, Virginia (米国), 1995年2月15日～17日

**参加者内訳、人数：**加盟14カ国、IPCS、BIAC、OECD事務局等 合計69名

**会議内容：**米国ウィリアムズバーグで開催された第3回OECD高生産量既存化学物質安全性点検初期評価会議に出席し、以下の項目についての討議を行った。

評価に先立ち、新しいカテゴリーについての提案と討議があり、本評価会議では次のようなカテゴリーで分類することとされた。

Category 1: SIDS Dossierに記載されているeffectおよびexposureデータの初期評価により現時点では人の健康と環境に対するリスクは低いと考えられ、post-SIDS testingまたは暴露アナリシスあるいはより詳細なアセスメントを行う必要はない物質。

Category 2: SIDS Dossierに記載されているeffectおよびexposureデータの初期評価により現時点では人の健康と環境に対するリスクが考えられ、post-SIDS testingまたは暴露アナリシスあるいはより詳細なアセスメントを行う必要がある物質。

Category 3: SIDS Dossierに記載されているeffectおよびexposureデータの初期評価により現時点では人の健康と環境に対するリスクがあり、暴露量およびリスクの削減等、更にリスク管理を行う必要がある物質。

全体としては、13物質がカテゴリー1に、4物質がカテゴリー2に、12物質が次回評価会議で再検討されることとなった。

**会議名：**ICH 遺伝毒性専門家会議

**出席者：**変異遺伝部 祖父尼俊雄

**開催場所、時期：**セントルイス (米国), 平成7年3月9日～18日

**参加者内訳、人数：**米国、ECおよび日本からの政府および製薬業界代表による合計13名

**会議内容：**「医薬品のための遺伝毒性試験の特定項目に関するガイダンス」(Step-4 Document)に対し、FDAより出された新たなコメントの取り扱いについて論議した。最終的にはFDAコメントを取り入れたDraftを作製したが、FDAコメントにはこれまで十分に論議されなかった新たな提案が含まれているので、Step-3に戻して、3極の行政府からのコメントを求め、本年7月のブラッセル会議でStep-4とすることとした。

「最少必要な試験の組み合わせ」に関しては、厚生省/日本製薬協の共同で行ったマウスリンフォーマ(MLA)試験の国際共同研究の結果について報告した。本共同研究ではMLA試験が染色体異常試験をどの程度補えるかどうかを検証した。対象とした20種の染色体異常誘発物質のうち、75～90%がMLAで検出できたことから、MLA試験が大部分の染色体異常誘発物質をカバーできる可能性が示唆された。この結果に基づいて、最少必要な試験の組み合わせについて論議し、これに基づいてStep-1 Draftを作製することとした。

**会議名：**IPCS国際化学物質安全性カード(ICSC)

最終原案検討会議

**出席者：**化学物質情報部 山本 都

**開催場所, 時期:** カーシャルトン (英国), 1995年3月11日~19日

**参加者内訳, 人数:** EU各国, 米国, カナダ, ロシア, エジプト, 日本, IPCS, IARCの担当者, EC委員会, ILO, CEFIC等約20名

**会議内容:** 会議はBIBRA Internationalで行われた。全体で約90物質のカード原案が検討された。わが国は, 次亜塩素酸ナトリウム, メチルヒドラジン, ヘキサメチレンテトラミンなど8物質についての新規カードの原案作成およびニトログリセリン, ホスファミドンなど4物質のカードの更新作業を分担した。

**会議名:** 第27回食品添加物と食品汚染物の規格委員会

**出席者:** 食品添加物部 山田 隆

**開催場所, 時期:** ハーグ (オランダ), 1995年3月16日~26日

**参加者内訳, 人数:** 40ヶ国の政府機関代表, 37の食品関連の国際機関・団体などから247名

**会議内容:** 2月にローマで開催された第44回JECFA会議の要点の報告が行われた。今回のJECFAで規格を作るべき食品添加物の品目, 規格改訂を求める品目の選定が行われた。国際食品規格委員会(CAC)に対して, 推奨規格として承認を求めるべき品目の選定が行われた。リスクアナリシスのための食品摂取量調査データについて討議された。各国から寄せられた, 酸化防止剤と保存料の使用基準を整理し, 今後もこれについて検討していくこと, 次は甘味料と増粘安定剤について同様な作業を行うこととなった。食品汚染物関連では, 「食品中の汚染物および自然毒の一般規格」について, CAC総会での採択を求めることとなった。ガリ, キャッサバ, 豆中のシアン化合物のガイドライン, マイコトキシン, 鉛, カドミウム, 多環芳香属化合物, ダイオキシン, PCBの食品中のレベルについて検討された。

**会議名:** 国際化学物質安全性フォーラム (ICSF) 第1回インターセッショナルグループ会議

**出席者:** 化学物質情報部 神沼二真

**開催場所, 時期:** ブルージュ (ベルギー), 1995年3月20日~23日

**参加者内訳, 人数:** 29ヶ国の代表, WHO, UNEP, ILOなどの国連機関, およびNGO, 160名

**会議内容:** 本会議は昨年4月にストックホルムで結成された, ICSFの第1回期間会議であり, わが国からは厚生省, 環境庁, 通産省 (関係者), 労働省が参加し, 代表は環境庁が務めた。この会議ではUNCED (地球環境サミット) のアジェンダ21第19章にあげられた6項目の行動計画を推進する具体案が検討された。厚生省および国立衛生試験所の研究者との関係で言えばGINC (Global Information Network for Chemicals) の支援を表明したが, 米国やオーストラリア, アジア諸国をはじめ, 多くの賛同をえて, 報告書に盛り込まれることになった。次のインターセッショナルグループ会議は, 1996年3月初め, オーストラリアのキャンベラで開催されること, 全体会議では, 各国の代表を2名まで絞ること, GINCのデモとトレーニング・セッションを併設することが合意された。

**会議名:** IPCSの活動に関係した「化学物質の安全性のための地球情報ネットワーク (GINC)」プロジェクトのためのUNEP/IRPTC, ILO/CIS, WHO/IPCSとの技術的な会合, およびIPCS協力に関する打ち合わせ出席

**出席者:** 化学物質情報部 神沼二真  
中田琴子

**開催場所, 時期:** ジュネーブ (スイス), 1995年3月25日~4月2日

**参加者内訳, 人数:** WHO/IPCS 2人, ILO/CIS 3人, UNEP/IRPTC 5人, OECD 1人, EU 1人, 衛試 2人

**会議内容:** 昨年12月に東京で開かれた準備会議を基に「化学物質の安全性に関する地球情報ネットワーク (GINC)」をどう実現していくかについて, 特に技術面から討議した。

- ・GINCの具体的な第一歩として, 国際機関および各国のリード機関を結ぶインターネットを利用した情報交換網を構築する実験が合意された。
- ・グループ間の情報交換のためのリストサーバーの整備 (IRPTC), ニュースサーバーおよびWorld Wide Web (WWW) 上でGINCの共通ホームページを作成 (衛試), およびアジア地域の国々にGINCを導入するための調査訪問 (衛試・神沼) などの作業計画案が提示された。

- ・コンピュータネットワークを利用して個々の機関のWWW上のホームページのデモが行われた。
- ・来年3月に豪州で開かれるインターセッションルグループ会議に付随してGINCのデモとトレーニングセッションを行うことを前提とし、今年12月頃に東京でテクニカル会議とアジアおよび太平洋地域のためのデモを行うなど国際機関と日本、米国、豪州が具体的にどう協力するのかを議論した。

**会議名：**ICH 専門家準備会議（品質分野Ⅰ）

**出席者：**薬品部 小嶋茂雄  
毒性部 長谷川隆一  
大阪支所 武田 寧

**開催場所，時期：**ワシントン（米国），1995年3月25日～4月1日

**参加者内訳，人数：**日米欧三極の品質分野の薬事規制当局および製薬団体関係者20～30名

**会議内容：**1995年11月に横浜で開催されるICH-3に向けて品質分野のガイドライン案について協議した。安定性試験に関しては光安定性試験法ガイドライン案，ならびに新剤形医薬品および承認事項一部変更に関する安定性試験ガイドライン案について審議した。いずれも三極の見解に相違があり，相違点の確認に終始し，目立った進展は見られなかった。光安定性試験法ガイドライン案（第4次案，1994年9月）については，光暴露による変化をどの程度容認するか，および試験に用いる光源の選択に関し合意に至らず，第5次案を作成し，継続審議することとなった。新剤形医薬品および承認事項一部変更に関する安定性試験ガイドライン案（第2次案，1994年12月）についても，提出データの簡略化の前提となる既承認医薬品に関する安定性試験成績の充足度などについて合意にいたらず，第2次案を作成し，継続審議することとなった。

**会議名：**ICH 専門家準備会議（品質分野Ⅱ）

**出席者：**大阪支所長 武田 寧  
薬品部 小嶋茂雄  
毒性部 長谷川隆一

**開催場所，時期：**ワシントン（米国），1995年3月27日～30日

**参加者内訳，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30名

**会議の内容：**品質分野の5つのトピックスのうち，分析法バリデーションならびに不純物規格の調和に関する検討の内容について報告する。

分析法バリデーションのバリデーション・パラメータの評価方法のテキストについて議論が行われ，AccuracyやPrecisionの評価に最低限必要な試験回数，あるいは消費者危険（有るものを無いと見誤る確率 $\beta$ ）が実質的に5%以下に抑えられるようなDetection limitの設定など，主要な点についてはほぼ合意に達することができた。

原薬の不純物規格のガイドラインについては，基本的合意案を大きく修正することなく，三極間で最終的な合意に達することができた。また，製剤の不純物規格のガイドラインについては，安全性の確認が必要な分解生成物含量のいき値のレベルを除き，ほぼ合意に達することができた。残留溶媒のガイドラインについては，ラポーターに決った日本製薬協の五十嵐氏を中心に，どのような残留溶媒を対象とするか，それらの規制値をどのようにして決めるかなど，第1次案を作成するための基本的な事項について議論が行われた。

**会議名：**ICH 専門家準備会議（品質分野Ⅲ）

**出席者：**生物薬品部 早川堯夫  
山口照英

**開催場所，時期：**ワシントン（米国），1995年3月27～30日

**参加者内訳，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20名

**会議内容：**ICH-3でのバイオ医薬品の品質に関する討議（Q5）に向けての3回目の専門家会議であった。Q5A: Viral Safetyに関しては，前回案を更に改訂した第3次ドラフトのテキスト全般にわたって検討した。主な論点は，製造用細胞バンク，生産培養終了時の細胞および未精製バルクハーベストレベルでのウイルス試験の程度をいかに規定するかであった。Q5B: Genetic Stabilityに関しては第10次ドラフトについて検討し，表記上の手直しも含めて第11～12次案が作成された。主な論点は，genetic stabilityの試験目的に最もかなう生産培養終了時の細胞をいかに規定するかであった。第12案でステップ2に達した。Q5C: Product Stabilityに関しては第8～9次ドラフトについて検討した。論点で



あった保存温度の一般的呼称はとくに定めず、ワクチン補遺は削除されることになった。予定有効期限と承認申請時までには最低限必要な長期安定性試験データとの関係については、6カ月をベースとすることとなった。これは、生物薬品が一般に不安定であり、合成医薬品に比べてより短期間の有効期限が予測されるためである。第10案でステップ2に達した。Q5D: Characterization of Cell Substrateは第1次案についての一般的議論が行われた。

**会議名：**ICH 専門家準備会議 (安全性分野)

**出席者：**毒性部 黒川雄二

長谷川隆一

病理部 高橋道人

**開催場所、時期：**ワシントン (米国), 1995年3月  
27日~30日

**参加者内訳、人数：**日米欧3極の行政および企業の  
研究者など、約50名

**会議内容：**4つの分科会においてガイドライン作成に参加し、以下の結果を得た。S1A (発がん性試験をどのような場合に実施すべきか)、癌原性が懸念

される要因、臨床投与期間との関連などについて Step 2 draft を作成。S1B (発がん性試験に2種のげっ歯類を用いる必要性)、非遺伝毒性医薬品では1種(ラット)でもよいとするなど Step 1 draft を作成。S5B (雄授精能評価法)、日本における共同研究進捗状況、EUでの文献調査の報告とS5A (生殖発生毒性ガイドライン)に Addendum として付加するための討論および今後の追加実験の必要性の討議、Step 2。S6 (バイオ医薬品の安全性評価)、Prestep 1 として安全性試験の意義、各極での現状の説明と今後の方針についての討議。その他、安全性グループ以外では以下の委員会に参加した。M3 (臨床試験と非臨床試験のタイミング)、Step 1 draft に基づき臨床試験開始前に完了すべき反復投与試験の期間についての討論。Q3A (原薬不純物の安全性評価)、Step 4 draft について最終の合意に達した。Q3B (製剤中不純物の安全性評価)、Step 1 draft について安全性閾値を除いて合意に達した。Q3C (残留溶媒の安全性評価)、Prestep 1 として溶媒の選択および安全性評価法について討議。

## 平成6年度業務概要

所長 寺尾 允 男

平成6年度は21世紀の厚生科学研究のあるべき姿を念頭においた厚生省試験研究機関の組織再編案が示された年であった。

この再編案によれば、衛生試験所は、将来、「衛生科学研究所」（仮称）と名称を変更したうえ、医薬品、食品、生活環境中の化学物質、水道水、廃棄物、生活環境衛生などの研究業務を集約、充実し、品質、安全性、有効性の評価に関する調査、研究を総合的に推進することとなっている。

**試験研究業務**

衛生試験所の現在の業務目的は医薬品、食品、医療用具、生活環境中の化学物質などの品質、有効性、安全性を適切に評価するための調査、研究や行政試験を行うことにある。研究活動の成果として発表した論文等は本誌217～281ページにまとめてある。平成6年度に誌上発表した論文数は341編（英文200編、和文141編）である。また、平成6年度に行った主要研究テーマは319～326ページにまとめてある。

昨年11月Nature (Vol. 372, p. 125, 1994)に論文発表数からみた、日本の大学、研究所におけるライフサイエンスの研究活動が論評されているが、これによると衛生試験所の研究活動は活発に行われていることがわかる。

本年度は所内のコンピュータネットを整備した。これにより所内各部から直接インターネット等を通じて外部の機関と情報の交換を行うことが可能になった。今後、これまで当所が行った研究の成果を外部研究者も利用できるようにすることを検討する。

**国際共同事業**

当所は多くの国際機関と連携をとり、いろいろな国際共同研究をすすめている。以下に主なものを示した。

1. OECD（経済協力機構）化学品プログラム
2. IPCS（国際化学物質安全性計画）（WHO）
3. ICH（日米EU医薬品承認審査ハーモナイゼーション国際会議）
4. 遺伝子組換えヒト成長ホルモン（ソマトロピ

ン）関連国際協力事業（WHOほか）

5. 中国天津医薬品検査技術プログラム（JICA）  
その他7件

**国際交流**

国際交流は本年度も盛んに行われた。当所の特徴として、厚生省をはじめとする技術行政関連の国際会議への、専門家としての参加が大半しめる。

本年度の海外派遣は延べ88名あったが、

内訳は留学の8名、2国間共同研究あるいは学会への招聘または参加、延べ17名ならびにJICA等のプロジェクトによる途上国への技術援助7名のほか、延べ56名が行政に関連する国際会議への出席者であった。その中には、ICH（新薬審査資料の国際調和）18名、IPCS（WHOの化学物質安全性計画、JMPPR（残留農薬評価）、JECFA（食品添加物評価）を含む）13名、OECD8名、ISO（国際標準化機構）1名、のほかIARC（国際がん研究機構）、INN（WHO国際一般名）、UJNR（日米天然資源）等への出席が含まれている。なお、外国人研究員、留学生の受け入れは延べ17名であった。

**関連集会**

7月19日につくば国際交流センターで薬用植物栽培技術の向上と当所の薬用植物栽培試験場における研究成果を広く研究者および栽培者に還元することおよび人的交流を目的とした、第4回薬用植物栽培技術フォーラムを開催した。

全国衛生化学技術協議会は、11月24～25両日、東京都立衛生研究所の倉科 周介所長を年会長として開催された。輸入食品に関するワークショップと食品、環境、薬事および家庭用品の分科会における会員の発表のほか、それぞれの分野で自由集会がもたれ、衛生化学に関連する国公立試験研究機関における今後の行政研究の進め方と連携のあり方について討論がなされた。

**人事異動**

平成6年度における人事異動は次のとおりである。

平成7年3月31日付で内山 充所長および林裕造センター長が定年退官した。平成7年4月付けで所長に寺尾副所長が、副所長に齋藤食品部長が、センター長に黒川毒性部長が、毒性部長に井上放射線医学総合研究所生理病理研究部生理病理第二研究室長が昇任し、飯田 修北海道試験場栽培管理室長が伊豆場長に昇任した。

## 総務部

部長 福永幸雄

### 1. 定員

平成5年度末の定員は269名であったが、平成6年度は、安全性生物試験研究センター変異遺伝部第三室(細胞バンク)の定員として研究職1名(6カ月)増員、第8次定員削減計画に基づき行政職(一)1名、行政職(二)1名、ならびに研究職2名計4名の定員削減により、平成6年度末の定員は、指定職2名、行政職(一)43名、行政職(二)21名、研究職200名、計266名となった。

### 2. 予算

平成6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、3,651,467千円で前年度に比較して2.03%の増額が図られた。

増額、減額の主な項目としては、

- |  |           |
|--|-----------|
| ① 研究費の増(研究員当積算片費単価アップに伴う増)                 | 1,480千円   |
| ② 特別研究費の増(新規研究課題に伴う増)                      | 3,990千円   |
| ③ 標準品製造費の増(3品目追加に伴う増6,499千円、光熱水料統一減△127千円) | 6,372千円   |
| ④ 施設管理事務経費の増(メンテナンス単価利率アップに伴う増)            | 1,007千円   |
| ⑤ 施設整備費の増                                  | 53,204千円  |
| ⑥ 乱用薬物基礎研究費の増                              | 6,767千円   |
| ⑦ 安全性生物試験研究センター運営費の減(光熱水料統一減△1,695千円)      | △1,591千円  |
| ⑧ 薬用植物栽培試験場運営費の減(光熱水料統一減△1,376千円)          | △1,345千円  |
| ⑨ 総合化学物質安全性研究費の減                           | △10,170千円 |
| ⑩ 共同利用高額研究機器整備費の減(光熱水料統一減△46千円)            | △28,203千円 |

等が挙げられる。

#### (2) 移替予算

予算額は、158,954千円で前年度に比較して8.36%の増額となった。

新規課題としては、国立機関原子力試験研究費において3課題(変異細胞の選択技術の確立と突然変

異の塩基配列の解析に関する研究19,936千円、生薬の微生物汚染に対する放射線照射の研究12,647千円、抗体工学を用いる新しい抗体の放射性標識法の開発に関する研究14,304千円)、国立機関公害防止等試験研究費において1課題(NO遊離化合物を活用した環境汚染窒素酸化物に関する研究17,729千円)が認められた。

なお、平成6年度事項別予算額は別表のとおりである。

### 3. 施設整備状況

平成6年度の施設整備については、以下のとおり整備を行った。

#### (1) 予算関係

- |                        |                      |
|------------------------|----------------------|
| ① 筑波試験場無菌室空調改修工事       | (施設整備費17,710千円)      |
| ② 伊豆試験場培養室および標本室改築工事   | (施設整備費12,643千円)      |
| ③ 本所8号館高压蒸気滅菌室改修工事     | (施設整備費62,507千円)      |
| ④ 和歌山試験場宿舍および堆肥舎屋根葺替工事 | (各所修繕費(特別修繕)5,330千円) |

### 4. 国家検定品目等の改正

#### (1) 国家検定品目の追加

薬事法第43条第1項等の規定による検定を受けるべき医薬品に、新たに「ヒト二相性イソフェンインスリン水性懸濁注射液」(平成6年10月5日厚生省告示第333号)が追加された。

この結果、当所の試験に係る国家検定品目は、8品目から9品目となった。

#### (2) 国立衛生試験所標準品交付規程の一部改正

医薬品等試験用標準品「塩化ベルベリン標準品」他1品目(平成6年11月10日厚生省告示第362号)ならびに「ヒト成長ホルモン標準品」(平成7年3月29日厚生省告示第68号)を追加した。

これにより、当所が製造し、交付している標準品は医薬品等試験用標準品101品目、色素試験用標準品38品目、計139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(多極分散型国土形成促進法に基づく79行政機関等の移転)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、国有財産地方

| 別表             |                       | 平成6年度予算額  |           |                  |   |   |
|----------------|-----------------------|-----------|-----------|------------------|---|---|
| 事              | 項                     | 平成5年度     | 平成6年度     | 対前年度差            | 備 | 考   |
|                |                       | (A)       | (B)       | 引増△減額<br>(B)-(A) |   |   |
|                |                       | (千円)      | (千円)      | (千円)             |   |   |
| (組織)厚生本省試験研究機関 |                       | 3,578,747 | 3,651,467 | 72,720           |   |   |
| (項)厚生本省試験研究所   |                       | 3,429,983 | 3,449,093 | 19,110           |   |   |
|                | 国立衛生試験所に必要な経費         | 3,429,983 | 3,449,093 | 19,110           |   |   |
|                | 既定定員に伴う経費             | 2,213,201 | 2,249,699 | 36,498           |   |   |
|                | 人件費                   | 2,213,201 | 2,249,699 | 36,498           |   |   |
|                | 増員要求に伴う経費             | 0         | 2,704     | 2,704            |   |   |
|                | 人件費                   | 0         | 1,979     | 1,979            |   |   |
|                | 人当経費                  | 0         | 30        | 30               |   |   |
|                | 研究費                   | 0         | 695       | 695              |   |   |
|                | 経常事務費                 | 295,966   | 299,433   | 3,467            |   |   |
|                | 人当経費                  | 7,677     | 7,645     | △ 32             |   |   |
|                | 一般事務経費                | 44,746    | 46,178    | 1,432            |   |   |
|                | 研究費                   | 235,494   | 236,974   | 1,480            |   |   |
|                | 官庁会計事務データ通信システムに必要な経費 | 8,049     | 8,636     | 587              |   |   |
|                | 特別研究費                 | 12,374    | 16,364    | 3,990            |   | 1. 安全性評価のための迅速かつ鋭敏な毒性指標の確立に関する研究<br>(9,120千円)       |
|                |                       |           |           |                  |   | 2. 医薬品の適正な評価を志向した光学異性体に関する研究<br>(7,244千円)           |
|                | 標準品製造費                | 39,364    | 45,736    | 6,372            |   |   |
|                | 安全性生物試験研究センター運営費      | 206,039   | 204,448   | △ 1,591          |   |   |
|                | 薬用植物栽培試験場運営費          | 104,943   | 103,598   | △ 1,345          |   |   |
|                | 情報活動運営費               | 42,134    | 42,196    | 62               |   |   |
|                | 施設管理事務経費              | 68,957    | 69,964    | 1,007            |   |   |
|                | がん克服新10カ年戦略経費         | 58,521    | 58,544    | 23               |   |   |
|                | 受託研究費                 | 135,518   | 135,929   | 411              |   | 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<br>(8,320千円) |
|                |                       |           |           |                  |   | 2. バイオテクノロジー応用品の医薬評価技術の開発<br>(6,076千円)              |
|                |                       |           |           |                  |   | 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<br>(11,431千円)     |
|                |                       |           |           |                  |   | 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 (23,213千円)          |
|                |                       |           |           |                  |   | 5. 糖鎖含有タンパク製剤における糖鎖の機能解明と評価技術の開発(15,450千円)          |
|                |                       |           |           |                  |   | 6. 糖鎖関与疾患の発症機構の解明 (3,000千円)                         |

| 事 項                                   | 平成5年度     | 平成6年度     | 対前年度差<br>引増△減額<br>(B)-(A) | 備 考   |
|---------------------------------------|-----------|-----------|---------------------------|---|
|                                       | (A)       | (B)       | (千円)                      |   |
|                                       | (千円)      | (千円)      | (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 (26,296千円)                           |
|                                       |           |           |                           | 8. 医用材料と生体の相互作用の総合化技術の開発 (10,170千円)                               |
|                                       |           |           |                           | 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 (12,133千円)   |
|                                       |           |           |                           | 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 (7,366千円)                                     |
|                                       |           |           |                           | 13. 糖鎖利用による診断技術の開発 (3,000千円)                                      |
|                                       |           |           |                           | 14. 人工臓器に関する新滅菌法の研究 (1,224千円)                                     |
| 乱用薬物基礎研究費                             | 12,256    | 19,023    | 6,767                     | 薬物乱用、特に市販配合剤乱用時の依存性形成能とその薬物動態ならびに生体に及ぼす影響に関する研究                   |
| 総合化学物質安全性研究費                          | 109,447   | 99,277    | △ 10,170                  | 1. 安全性点検体制支援システム経費 (70,569千円)<br>2. 安全性試験法開発等研究費 (28,708千円)       |
| 移 転 調 査 検 討 費                         | 3,555     | 2,673     | △ 882                     |   |
| 共 同 利 用 型 高 額 研 究 機 器 整 備 費           | 127,708   | 99,505    | △ 28,203                  |   |
| (項)血清等製造及び検定費                         | 109,716   | 109,514   | △ 202                     |   |
| 医 薬 品 の 国 家 検 定 及 び 検 査 等 に 必 要 な 経 費 | 109,716   | 109,514   | △ 202                     |   |
| 一 般 事 務 経 費                           | 12,876    | 12,896    | 20                        |   |
| 事 業 費                                 | 96,840    | 96,618    | △ 222                     |   |
| (項)厚生本省試験研究所施設費                       | 39,048    | 92,860    | 53,812                    | 1. 筑波試験場無菌室空調改修工事 (17,710千円)                                      |
| 国立衛生試験所施設整備経費                         | 39,048    | 92,860    | 53,812                    | 2. 伊豆試験場培養室及び標本室改築工事 (12,643千円)<br>3. 本所8号館高压蒸気滅菌室改修工事 (62,507千円) |
| (移替予算)                                |           |           |                           |   |
| (組織)厚生本省試験研究機関                        | 146,685   | 158,823   | 12,138                    |   |
| (項)国立機関原子力試験研究費                       | 68,806    | 93,350    | 24,544                    |   |
| (項)国立機関公害防止等試験研究費                     | 77,879    | 65,473    | △ 12,406                  |   |
| 計                                     | 3,725,432 | 3,810,290 | 84,858                    |   |

\* 予算額については兩年度とも当初予算額

審議会での留保地解除のための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」からの答申が出され、市民斎場問題が決着を見たことにより、平成9年度の特定期国有財産整備特別会計要求に向けて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）に着手している。

## (2) 支所（大阪）

平成2年8月の近畿財務局による「行政財産等の使用状況」の実態調査の結果、国有地の非効率利用との指摘があり、集約整備について、別地移転を含め検討が必要とされており、

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、騒音および大気汚染等のため、研究業務を行う上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【国立厚生科学基盤技術開発研究所（仮称）】に拡充改組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」を候補地の1つとして、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

### 概 要

平成6年度には、昨年度に引き続いて、医薬品の品質規格に関する研究、製剤評価に関する研究、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。医薬品の品質規格に関する研究では、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する研究を行った。製剤評価に関する研究では、経口徐放製剤や非経口製剤のバイオアベイラビリティに影響を与える因子を明らかにして、*in vivo*の結果とよく相関する*in vitro*の試験系や動物を用いた試験系を設定するための研究、製剤中における医薬品の安定性を支配する因子を明らかにすることにより、その安定性

を正しく予測しうる試験法を確立するための研究、ならびに添加剤による医薬品の安定化効果に関する研究などを行った。麻薬および依存性薬物に関する研究では、尿、血液、毛髪などの生体試料中の乱用薬物の分析法に関する研究、毛髪分析や尿分析による薬物使用の鑑定法を確立するための研究、ならびに毛髪への薬物の移行に関与する因子を明らかにするための研究などを行った。

小嶋部長は、ブラッセルでのICH3準備委員会に出席し、併せてEUにおけるジェネリック医薬品の同等性審査に関して調査するため、ベルギーおよびフランスに出張した（平成6年10月22～30日）。また、ワシントンでのICH3準備委員会に出席するため、米国に出張した（平成7年3月25～4月2日）。

青柳室長は、Bio-International 1994において研究発表を行うため、ドイツへ出張した（平成6年6月10～21日）。また、ジェネリック医薬品の販売承認基準に関する会議（平成6年8月23～26日）に出席のため、スイスに出張した。

吉岡室長は、HS国際共同研究の加速試験不適合製剤のShelf Lifeの予測法の開発に関する研究の打ち合わせのため、英国に出張した（平成6年11月1～6日）。また、伊豆津技官は、タンパク質の安定性に関する研究会（平成6年7月16～20日）において研究発表を行うため、米国に出張した。

石橋室長は、第15回アジア薬剤師会連合(FAPA)学術大会（平成6年11月15～19日）においてカントリーレポートを行うため、タイに出張した。

中原室長は、第2回臨床化学および法中毒学における毛髪分析に関する国際会議（平成6年6月6～8日）において招待講演を行うため、イタリアに出張した。また、毛髪中薬物分析に関する国際会議（平成6年10月29～30日）における招待講演ならびに国際法中毒学会（平成6年10月31日～11月4日）における研究発表のため、米国に出張した。木倉技官は、国際法中毒学会（平成6年10月31日～11月4日）において研究発表を行うため、米国に出張した。

### 業務成績

#### 1. 特別審査試験

新薬132件、かぜ薬等65件の合わせて197件について試験した。

#### 2. 一斉取締試験

テオフィリン徐放錠および徐放カプセル9件、リ

ノール酸・レシチン主薬製剤であって酢酸トコフェロールを含有する製剤3件、ならびにアンモニア水21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について試験を行った(国産あへん27件, 輸入あへん97件, 合計124件)。

### 4. 標準品の製造

GC-MS分析用として、次の7種の重水素化体の標準品を製造した:

アンフェタミン-d4 (5g), メタンフェタミン-d4 (5g), コカイン-d3 (5g), ベンゾイルエクゴニン-d3 (5g), エクゴニンメチルエステル-d3 (5g), モルヒネ-d3 (5g), 6-アセチルモルヒネ-d3 (5g)。

### 5. 国際協力

国際厚生事業団の第5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。

国際協力事業団の天津市薬品検査技術協力プロジェクトの初年度(平成5年度)の研修員として平成6年3月29日に来日した天津市薬品検査所の林珊薬師は、国立衛生試験所(薬品部および食品部)ならびに三共(株)における6ヵ月間のGC-MS研修を終えて、9月22日帰国した。また、同プロジェクトの第二年度(平成6年度)の研修員として平成6年6月1日に来日した同薬品検査所の馬文詩薬師は、国立衛生試験所(薬品部)における8ヵ月間のバイオアベイラビリティ研修を終えて、平成7年1月27日帰国した。

### 6. その他

日本薬局方の改正作業(薬務局研究開発振興課)、日本薬局方外医薬品規格および医薬品添加物規格の改正作業(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)、麻薬および乱用薬物に関する情報収集(薬務局麻薬課)ならびにJISの改正作業(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

消炎鎮痛薬の迅速分析法を作成した(薬務局監視指導課委託研究費)。

昨年度に引き続き、シクロデキストリン類を添加試薬に用いて、キャピラリー電気泳動によりラセミ体の消炎鎮痛薬を光学分割する方法について検討を行った。

熱帯病治療薬の開発のため、抗マラリア薬および駆虫薬の規格作成ならびに作成した試験方法を用い

た製剤の品質確認を行った(厚生科学研究費補助金)。

厚生省指定検査機関の分析精度の向上を目的として、標準試料を用いた分析を実施し、施設間での分析精度について統計的な検討を行った(薬務局監視指導課委託研究費)。

### 2. 日本薬局方の規格および試験方法に関する研究

一般試験法に関連して、「液体クロマトグラフ法」および「ガスクロマトグラフ法」の改正案を作成した。また、「ケトン・イソプロパノール・第三ブタノール試験法」を水銀を用いない方法に改正するため、ガスクロマトグラフ法に基づく「エタノール中の揮発性混在物試験法」を作成した。さらに、製剤の薬効を保証することを目的とし、統計学的な考え方を導入した「含量均一性試験法」および「重量偏差試験法」の改正案を作成した。

第十二改正日本薬局方第二追補に新たに収載された25品目の赤外吸収スペクトルを測定し、それらの品目の確認試験に必要な参照スペクトルを作成した。

昨年に引き続き、日本薬局方において有害試薬を用いている一般試験法および医薬品各条を調査し、有害試薬を用いないようにするための方策について検討を行った(厚生科学研究費補助金)。

また、「残留溶媒試験法」の国際調和に向けて、試験方法の開発を行った(厚生科学研究費補助金)。

### 3. 医薬品の有効性、安全性に関する薬剤学的研究

侵食型、非侵食型のアセトアミノフェン徐放錠を用いて、*in vitro*および*in vivo*での薬物放出性について検討を行った結果、消化管内の機械的破壊力にはかなり個人差が認められること、破壊力の強い人の*in vivo*での薬物の放出は、回転バスケット法の150rpmにおける*in vitro*での溶出と相関すること、徐放錠からの薬物の放出は結腸で著しく低下するが、その原因は結腸の運動性が低く、水分が乏しいためと考えられることなどを明らかにした(HS財団受託研究費)。

アセトアミノフェン坐剤およびインドメタシン坐剤を用いて検討した結果、坐剤によって引き起こされる結腸粘膜の損傷はバイオアベイラビリティに影響を与えないこと、ならびにバイオアベイラビリティは、融点とは必ずしも相関しないことなどを明らかにした(創薬科学総合研究費)。

市販のメチルドーパ糖衣錠3種の生物学的同等性について、高血圧症の患者を対象として解析を行い、製剤間でバイオアベイラビリティの平均値には差はなかったが、変動の大きさには差が認められたこと、ならびに解析にポピュレーションファーマコキネティクスが有用であることなどを明らかにした(薬剤疫学的手法検討事業研究費)。

#### 4. 医薬品の物理・化学的安定性に関する研究

医薬品の安定性加速試験において、誤差が正規分布を示さない製剤について有効期間を予測する場合には、ベイズ法の方が最小二乗法よりも信頼限界の狭い推定値を与え、より有用であることを明らかにした(HS財団国際共同研究費)。

固体分散体中のニフェジピンの結晶化速度やセファロチンの分解速度が、スピン-格子緩和時間 $T_1$ によって表される水分子の運動性とよく相関することを明らかにした。また、誘電緩和スペクトル法により、ゼラチンなどの高分子系における水分子の運動性を解析した(創薬科学総合研究費)。

タンパク質凍結乾燥製剤の安定性は、両親媒性物質の共存によって大きく影響され、タンパク質と相互作用して、これを分散させる力の大きな物質ほど高い安定化効果をもつことが分かった。

非晶質ニフェジピンの結晶化速度に及ぼす温度および湿度の影響は、Williams-Landel-Ferry式によって表せること、また、結晶化速度に及ぼす添加剤の影響は、ガラス転移温度を指標として解析できることを明らかにした(HS財団受託研究費)。

ポリ乳酸マイクロスフェアの薬物放出パターンと $\gamma$ 線の線量との関係について検討し、薬物放出過程においてガラス転移温度が著しく変化しないようなポリ乳酸マイクロスフェアであれば、25 kGy程度の $\gamma$ 線滅菌が可能であることを明らかにした(国立機関原子力試験研究費)。

#### 5. 麻薬および依存性薬物に関する研究

毛髪中の薬物のスクリーニング法について検討した結果、毛髪中のモルヒネ系、コカイン系ならびに覚せい剤系の薬物を同時に抽出・分析する方法を確立した(厚生科学研究費補助金)。

20種の乱用薬物のメラニン色素への親和性を測定し、毛髪への薬物の取込率との関係について検討した結果、両者の相関係数は0.947で、毛髪への薬物の移行にはメラニンへの親和性が大きく関与していることが示唆された。

フェンシクリジン投与のラットの脳から、ナノグ

ラムレベルのフェンシクリジンを検出した。しかしながら、水酸化代謝物は検出せず、極性物質の脳への移行性は低いことが明らかとなった。

中枢神経興奮薬4種およびバルビツール酸系催眠鎮静薬4種について、呈色反応ならびにTLC, GC, HPLCおよびGC-MSを用いた分析マニュアルを作成した(業務局麻薬課委託研究費)。

8種の主要な法規制薬物の尿中薬物標準試験法を作成した。また、検査室の精度管理についても素案を作成した(厚生科学研究費補助金)。

薬物中毒で精神病院に入院した20名余りの患者の毛髪を分析し、過去数年にわたる薬物使用歴を調べることにより、多剤乱用の実態を明らかにした(乱用薬物基礎研究費)。

## 生物薬品部

部長 早川 堯 夫

### 概要

業務の基本的課題は、生物薬品の特性・品質評価技術に関し、今日的あるいは近未来的なニーズに合致し、国内外で活用されるようなデータやコンセプトを創出することであり、さらに将来を展望した先導的な研究課題の選択や基盤づくりを推進することである。国際面での役割もますます増えてきている。わが国の生物薬品評価の中核的な立場として、期待に応え、相応の貢献を果たすためには、一層の努力と飛躍が必要であると思われる。

平成6年度の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と標準物質の品質に関する研究、糖タンパク製剤の特性・品質評価技術の開発、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に関する生物化学的研究、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などを行った。

人事面では、平成7年3月1日付けで谷本 剛第二室長が大阪支所薬品試験部第二室長へ配置替えとなり、後任には平成7年4月1日付けで川西 徹病理部第二室長が配置替えとなった。Abdel-Alim Foad Abdel-Alim氏および小木美恵子氏が平成6年11月1日付けでHS財団流動研究員として派遣



された。

短期海外出張は以下の通りであった。早川部長：ソマトロピン（成長ホルモン）に関する国際会議出席および、ICH バイテク医薬品の品質に関する EC 専門家との打ち合わせ会議（フランス、ドイツ、平成6年9月5日～9月17日）、医薬品ハーモナイゼーションに係わるガイドラインの検討会議出席（ベルギー、平成6年10月22日～10月29日）、バイオテクノロジーと医薬品に関する学術研究討論会等出席（中国、平成6年12月7日～12月11日）、新医薬品の開発における第3回 ICH に向けての専門家準備会合出席（米国、平成7年3月25日～4月2日）；山口室長：新医薬品の開発における第3回 ICH に向けての専門家準備会合出席（米国、平成7年3月25日～4月2日）。

#### 業務成績

##### 1. 特別審査試験

新薬12件について試験した。

##### 2. その他

第13日本薬局方改正に伴う業務（薬務局研究開発振興課）、中央薬事審議会各種調査会・部会（薬務局審査課、研究開発振興課）、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）、生物製剤と生物薬品 GMP 検討会（薬務局監視指導課）、食品添加物公定書第七版作成検討会（生活衛生局食品化学課）、平成6年度特別課程薬事衛生管理コース（国立公衆衛生院）、生物薬品の品質の評価等に関する啓蒙活動（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. 生物医薬品の特性と品質評価技術に関する研究

i) 合成基質を用いるトロンビンの簡便かつ精度の高い試験法を確立した。

ii) ウロキナーゼ製剤の迅速分析法が都道府県に通知された。

iii) 成長ホルモンによる培養肝細胞上清中のプロテアーゼインヒビターの誘導能の測定において、蛍光物質を用いた方法はサンプル中に含まれる物質により測定が妨害され、基質として L-BAPA を用いた分光学的方法が最も有効であることを明らかにした。

iv) 陰イオン交換クロマトで分画した組み換え型ヒトエリスロポエチン (r-hEPO) は、シアル酸の違いに基いて分画されており、糖鎖構造はほぼ同等

に分布していた。シアル酸含量の低い分画に、シアル酸の導入を試みたところ、生物活性はシアル酸含量の高い分画のレベルにまで上昇した (HS 財団受託研究費)。

v) r-hEPO に及ぼす活性酸素の影響を検討し、*in vivo* および *in vitro* の生物活性消失は糖鎖部分の変化によるのではなく、主として蛋白質部分の損傷によることを明らかにした (HS 財団受託研究費)。

vi) r-hEPO 製剤の糖鎖部分の評価法を確立することを目的として、高性能強アルカリ性イオン交換クロマトグラフィー (HPAEC) を用いて発現細胞の異なる2種の EPO の糖鎖部分を分析し、本法が両 EPO 間の糖鎖部分の相違を識別できることを明らかにした (HS 財団受託研究費)。

vii) ヒト白血病 HL-60 細胞に、M-CSF レセプター遺伝子 c-fms の発現プラスミド (pSMc-fms) を導入し、10種のレセプター高発現細胞株を樹立した (HS 財団受託研究費)。

viii) バイオテクノロジー応用医薬品の評価技術の開発の一環として、培養細胞を用いた成長ホルモンの *in vitro* bioassay 法を確立し、更にその改良として試験期間の短縮化が可能であることを示した (HS 財団受託研究費)。

ix) 標準品物質の品質基準に関する研究として、ヒト成長ホルモン標準品候補品について共同検定を実施し、最も適切な候補品を選定した (HS 財団受託研究費)。

##### 2. 生物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、白血球活性酸素生成酵素の活性化に対するカリクリン A の阻害作用がキナーゼ阻害剤 KT5926 により回復することを明らかにし、ミオシン軽鎖キナーゼあるいは CaM キナーゼが活性酸素生成酵素の活性化に阻害的に作用していることと示唆した。

##### 3. 生体内活性物質の作用機序と細胞機能に関する研究

i) イヌ腎臓と同様な性質を有する high-Km アルドース還元酵素がヒト腎臓にも存在することを明らかにした。

ii) ヒト赤白血病細胞 k 562 株を用いてヘモグロビン合成調節機構について検討し、トランスフェリン鉄がヘム合成を調節していること、また、EPO

はヘム合成誘導に関与していないことを明らかにした。

iii) ホルモン等による細胞増殖および分化誘導の調節機構に関する研究として、成長ホルモンによる分化誘導時にリン酸化される膜蛋白質の性状を検討した。

iv) ホルモン剤の作用発現に関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結合部位として従来から知られていた高親和性結合部位以外に低親和性結合部位が存在することを見だし、デキサメタゾンはこのうち低親和性結合部位を誘導することを明らかにした。

v) 創薬のための微量生理活性物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、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する因子である低分子G蛋白質のクローニングを行った(国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁)。

vi) 食細胞の活性酸素産生系の解明とその調節因子についての研究の一環として、HL-60細胞の好中球への分化促進作用について検討し、セラミド生成系の活性化がG-CSFにより促進されることを明らかにした(HS財団受託研究費)。

vii) EIA法を用いてラットの心臓、肝臓、腸、脳下垂体、座骨神経等中のサブスタンスPの存在を検討した。

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として、大腸菌を用いて生産された成長ホルモン受容体細胞外領域のC末ドメインの機能を検討し、成長ホルモン活性を促進する作用を有することを明らかにした。

ii) プラスミンレセプターが血小板膜上に存在することを明らかにし、血栓溶解剤による血小板活性化・血管閉塞は、本剤の作用により生成したプラスミンがプラスミンレセプターへ結合して血小板を活性化し、血小板凝集を引き起こす機構によることを示唆した(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) 精巣診断薬に関する研究として、血流鉄と赤血球との挙動を検討した。

ii) 体外診断用医薬品の臨床評価に関する研究として、腫瘍マーカー(AFP)のキット間の変動因子をAFPの糖鎖構造から検討した。

iii) 肝臓診断薬に関する研究として、HGF-mRNAの定量化に関する基礎的な研究を検討した。

## 生 薬 部

部 長 佐 竹 元 吉

### 概 要

各年度に引き続き、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。生薬の微生物汚染に対する放射線照射の研究を開始した。第13改正日本薬局方の改正に参画し、新収載8品目の条文の作成および既収載品目の定量法、純度試験の改良を行った。検定検査として、特別審査および漢方エキス剤の原料エキス末のエキス含量の一斉取締試験を行った。国際的交流としてはブラジル湿潤熱帯研究センターおよび天津市薬品検査技術プロジェクトへの技術援助を行った。

海外出張は尾崎幸紘室長が平成6年8月23日から30日まで国際協力事業団の天津市薬品検査技術プロジェクトの巡回指導のため中国へ、関田節子主任研究官が平成6年12月10日から25日までブラジル湿潤熱帯研究センターにて国際協力事業団プロジェクトの評価ミッションを行うためブラジルへ、それぞれ出張した。川原信夫研究員は平成6年10月18日から1年間、カナダのアルバータ大学に出張している。

代田修博士を科学技術庁特別研究員として平成6年9月1日より受け入れている。

バングラデッシュのC. F. Hossain博士を科学技術庁フェローおよびヒューマンサイエンス財団フェローで平成6年3月29日から流動研究員として受け入れている。

中国から天津市薬品検査技術プロジェクトで王木氏(1月から3月24日)、寿国香氏(平成7年5月15日から9か月間)、福建省中医学院の魯建氏(平成7年4月1日から1年間)、およびインドからVibha P.氏(平成7年5月15日から1年間)を研究生として受け入れた。

### 業務成績

#### 1. 特別審査

従来と同様、生薬または漢方エキス剤を含む製剤(かぜ薬19件)について審査を行った。

## 2. 一斉取締試験

医療用漢方エキス製剤（葛根湯エキス，小柴胡湯エキス，小青竜湯エキス）に関する平成6年度医薬品一斉取締試験を54件のエキス製剤について行った。

## 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  
市場の日本薬局方粉末について日本生薬連合会を中心に収集し，一部を薬局方の収載品目にするために，品質について形態的および成分的に検討を行った。

### 研究業績

#### 1. 生薬および生薬製剤の規格試験の研究

##### i) 生薬の規格・試験法の基礎研究

マオウ，センナ，オウゴンなど8種類の局方生薬の成分定量法を検討した。また，シャクヤク，ショウキョウ，インチンコウおよびサンヤクではクリーンアナリシスとしての成分同定法を設定した。いずれも13局の改訂審議のための基礎資料となった。

国立衛生試験所標準品製造で，支所薬品試験部に協力して，塩化ベルベリンおよびグリチルリチン酸の規格設定作業に加わった。

##### ii) 生薬の化学的品質評価の研究

動物生薬のゴウは贗造品が出回ることがあるので，品質確保のため，合成色素，テンブンおよびショ糖を調べる純度試験法を検討した。

ビンロウジのアルカロイド (arecoline および arecaidine) を HPLC により定量するため，イオンペア移動相を用いる方法を検討した。同時にその標準品の規格化も検討した。

##### iii) 漢方製剤の薬剤学的研究

漢方製剤の含量規格として利用されるエキス含量試験について，市販製剤の実態調査および試験を行い，適切な試験方法の設定に各種提言を行った。

#### 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

臨床で高血圧の治療に用いられている漢方処方薬の七物降下湯およびその構成生薬の鈎藤鈎の血圧に対する作用を麻酔下のラットを用いて検討した。両者は血圧に対して顕著な作用を示さなかった。

アマゾン産植物 piri-piri は，LH，FSH 等のホルモンの基礎分泌を抑制することが示唆されたことから，より詳細な作用機作の解明を試み，抑制作用が卵巣依存性であること，下垂体における LHRH 受容体やエストロゲン受容体の mRNA の発現量

を減少させることが明らかになった。さらに，piri-piri に内生する真菌がエルゴトアルカロイド等数種の化合物の生産能を有することも確認され，活性発現との関連を検討する必要がある。

昨年度までの研究により，唐当帰が非妊娠の子宮自動収縮を有意に抑制することが明らかとなった。同作用には Ferulic acid が一部関与している可能性が推察されたが，活性の強さを説明するには不十分であった。今年度は，より強度の活性を示す成分の検索を続行し，主成分であるフトライドモノマーと同時に，新規な構造を含む6種のフトライドダイマーを見出した。

抗 HIV 活性を持つ薬用植物成分ならびに真菌代謝産物およびそれぞれの誘導体について，HIV プロテアーゼ活性を試験し，真菌 PF 1073 株に活性を認め，含有成分検索のための大量培養を行った (科技厅エイズ研究)。

自然発症高血圧ラットに七物降下湯を投与したところ，血圧は低下しないが延命効果が認められ，SOD 活性との相関が示唆された (厚生科学研究・長寿)。

##### ii) 繁用生薬の成分検索とその生物活性の研究

5 $\alpha$ -リダクターゼ，ジヒドロテストステロン受容体結合阻害活性を指標に検索を行ったところ，*Pterocarpus soyauxii*，*Lespedeza bicorl*，*Zingiber officinale* に活性が認められ，活性本体として13種の化合物を単離，化学構造を明らかにした。*Pterocarpus soyauxii* からは $\beta$ -ジケトン構造を有するカルコン誘導体，スチルベン誘導体，色素化合物に強い活性を見出した。色素部分には未分離の活性の強い成分の存在が推定される。*Lespedeza bicorl* からもフェニルプロパノイド類を分離したが，エキスの活性を十分に説明しきらず，他の活性物質の存在が推定される。*Zingiber officinale* の活性物質として gingerol 類，shogaol 類が得られた。これらの化合物の側鎖，脂溶性が活性発現に大きく影響していることが明らかになった (HS 財団受託研究)。

黒三稜 *Sparganium Stoloniterum* から，新規化合物3種を含むフェラルプロパノイド6種を分離し構造決定を行った。

牡丹の茎頂培養からの発根条件を検討し，培地の固化剤 agar の濃度を1.2%とし，ホルモン (IBA，NAA) を  $10^{-6}$ ~ $2 \times 10^{-6}$  M とした時，正常形態の根が誘導されることを明らかにした (生活・地域流動研究費，科学技術庁)。

iii) 菌類生薬の活性成分検索と化学的分類に関する研究

天然由来の分化誘導活性物質を検索し、*Chromocleista Malachitoides* から得られた化合物 I, II に強い活性を認め、化合物 I がポリケチド由来芳香族化合物であることを明らかにした (HS 財団受託研究)。

iv) 生薬資源の薬理学および電気生理学的研究

エンドセリンの心筋細胞膜イオン電流に対する作用を単離心筋細胞を用いたパッチクランプ法により電気生理学的に解析し、エンドセリンの新しい心臓抑制作用を発見し、その受容体機序および細胞内機序を明らかにした。また、抗不整脈薬のナトリウム電流抑制機序について基礎的研究を行った。さらに、交感神経  $\alpha_1$  受容体サブタイプによる心筋一過性外向き電流の調節機構に関する電気生理学的解析を行った (HS 財団創薬研究費)。

心筋症に伴う心筋細胞膜の糖鎖含有蛋白質の欠損とそれに付随する電気生理学的性質の変化を、心筋症ハムスターを用いて検討し、いくつかの重要な電気生理学的パラメータの変化を明らかにした (HS 財団受託研究費)。

v) 漢方製剤の薬学的研究

臨床で炎症の治療に用いられている漢方処方抗炎症作用をマウスでの酢酸誘発色素透過性亢進に対する作用、ラットでのカラゲニン誘発浮腫および綿球誘発肉芽組織形成に対する作用に基づき検討した結果、桔梗湯、排膿湯、排膿散に比較的強い抑制作用が認められた。この抗炎症作用は、炎症過程の早い相および比較的遅い相で発現しており、さらに、これら処方の構成生薬として桔梗が共通に配合されていることから、桔梗がかなりの割合で抗炎症作用に関与していることが考えられた。

vi) 生薬の薬物動態学的研究

マウス含有アルカロイドの一つである (-)-ノルエフェドリンおよびその光学異性体の肝ミクロソーム分画を用いて代謝の差異を検討した。(-)-体と (+)-体とでは代謝に差がみられ、特に酵素への親和性において (-)-体の方が (+)-体よりも高い値を示した。

vii) 生薬資源の保存と保護に関する研究

エビスグサ、カギガズラ、ケイガイ、シソ、シャクヤクの 5 品目を収載した薬用植物栽培・品質評価指針 Part 2 を作成、出版した (厚生科学研究・品質評価)。

国内外に自生する局外生薬規格収載生薬の基原植物の分布図作成を目的として、大学、博物館、植物園所有の標本を検索しデータの作成を行った (厚生科学研究・保存と保護)。

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検討

生薬の微生物汚染の現状調査と滅菌法および生薬成分への影響を検討した (科学技術庁、原子力)。

## 療 品 部

部 長 中 村 晃 忠

### 概 要

1994 年 8 月 1 日から 1 年間の予定で、Russell B. Poe 博士 (米国) が科学技術庁フェローとして当部で勤務している。また、同年 4 月 1 日から、中岡竜介氏が HS 財団流動研究員として勤務している。

### 業務成績

#### 1. 家庭用品関係

試験計画にしたがって、次の試験を実施した。なお、毒性部で実施する動物試験での試験物質の純度検定と安定性試験を当部が行っている。

分析法作成: methyl-N-(2-benzimidazolyl)carbamate; 2-mercaptobenzimidazole; N-1,3-dimethylbutyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine; 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone

細胞毒性試験: N, N'-di(methylphenyl)-p-phenylenediamine; 2,5-di-tert-butylhydroquinone; 2,3,3,3,2',3',3',3'-octachlorodipropylether; p-tert-butylphenylsalicylate

#### 2. 標準化と国際調和

(i) 医療用具関係国際標準化委員会への参加: ISO/TC150「外科用インプラント用具」(Rome, 1994.10, 中村); ISO/TC198「ヘルスケア製品の滅菌」(Berlin, 1994.12, 新谷); ISO/TC150/WG8「人工乳房」(Melbourne, 1995.1, 中村, 土屋); ISO/TC194「医療用具の生物学的評価」(Ottawa, 1995.5, 中村)

(ii) 医療用具関係 ISO 国内委員会への参加: 次の TC 国内委員会に引き続いて参加している: TC 194「医療用具の生物学的評価」; TC198「ヘルスケア製品の滅菌」; TC150「外科用インプラント」; TC157「避妊用具」

(iii) 厚生科学研究「国際性を配慮した医療用具基準策定に関する研究」

薬事法改正, GMPのISO 9000への調和, などを踏まえた医療用具関係諸基準の見直しにとりかかっている。

(iv) その他: 日本薬局方での「プラスチック製医薬品容器」に関する規定と試験法の大改正; JIS T9010「ゴム製品の衛生試験法」の大改正に取り組んでいる。

#### 研究業績

##### 1. ポリウレタンの生体内変化に関する研究

進展がなかった(人当研究費)。

##### 2. 血液に接する医療用具に使用される放射線滅菌と揮発性物質に関する研究

ポリメチルメタクリレート膜透析器にガンマ線を照射したときに生ずる揮発性物質を同定した。ポリマー主鎖の切断によって生ずる多種類の断片を検出し, それらが照射強度に応じて増加することを確認した(国立機関原子力試験研究費)。

##### 3. 天然ゴムラテックスによるI型アレルギーに関する研究

ゴムラテックス抽出物が, リゾチーム活性だけでなく, エステラーゼ活性, グルカナーゼ活性, キチナーゼ活性を有することを証明し, 天然ゴム製品による即時型アレルギーと植物防御蛋白質との関連性を世界で最初に指摘した。これらは, 天然ゴムラテックス・アレルギーと食物アレルギーの関連性をも示唆する(厚生科学研究費補助金)。

##### 4. 歯科用レジン安全性に関する研究

義歯床PMMAレジンの安全性に関連して, 重合開始剤のbenzoyl peroxideの毒性文献などを調査し, リスクアセスメントを実施した(厚生科学研究費補助金)。

##### 5. 医用材料の細胞毒性試験に関する研究

医用金属材料の構成金属塩のリンパ球に対する細胞毒性を調べた。TiCl<sub>4</sub>およびZrCl<sub>4</sub>の無細胞毒性濃度は10<sup>-5</sup>~10<sup>-6</sup> M, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>は10<sup>-8</sup>~10<sup>-9</sup> Mであった。NiSO<sub>4</sub>は, 10<sup>-6</sup> M程度で非特異的なリンパ球増殖反応を起こした。

##### 6. 金属材料による遅延型アレルギーに関する研究

素材として使われるニッケル, クロム, チタンおよびジルコニウムの塩についてモルモットMaximization法により評価した結果, NiSO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>およびTiCl<sub>4</sub>に感作性が認められた。感作性強度

はK<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>>NiSO<sub>4</sub>>TiCl<sub>4</sub>の順であり, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>とNiSO<sub>4</sub>の間には交差反応性を認めた。また, チタンやジルコニウムの代替材料としての有用性を示唆した(厚生科学研究費補助金)。

ラット皮下にCr-Fe合金を8カ月間埋植し, クロム塩の皮膚へのパッチによる遅延型アレルギー反応, ConAおよびクロムイオン存在下でのリンパ球増殖反応を調べた。その結果, 以前実施した4カ月間での結果と同じ傾向が認められ, リンパ球増殖反応では, 明らかな機能変化を認めなかったが, 皮膚反応で一部の動物の感作が成立していた。インプラント周囲の被膜の厚さは, 100% Cr材料群が最も厚く, 以前実施した4カ月の結果と比較した結果, 炎症反応が長期間進行している可能性が明らかになった(厚生科学研究費補助金, 病理部, 東京医科歯科大学と協同)。

##### 7. 高分子材料によるMFHの素因の解析と短期検索法の開発

ポリウレタンの長期皮下埋植によるmalignant fibrous histiocytoma (MFH) 発生機序を*in vitro*手法を用いて研究してきた。Balb 3T3細胞による2段階発癌モデルを用いて検討した結果, ハードセグメントが弱いイニシエーション活性を持つことがわかった。また, 細胞間連絡阻害活性によるプロモーション活性の検索を他の材料にも適用し, *in vivo*との関連性を検討した(HS受託研究)。

##### 8. 医用材料および家庭用品の添加剤の安全性評価に関する研究

医用材料および家庭用品に近年頻繁に添加される紫外線吸収剤について, V79代謝協同阻害試験法を用いて, 細胞間連絡阻害作用を調べた。ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤7種について試験した結果, 5種の吸収剤で代謝協同阻害作用が認められた。それらの最小有効阻害濃度は10 ug/ml以下を示し, 既知発ガンプロモーターであるリトコール酸より, より低濃度で阻害活性を示すことが明らかになった。

##### 9. 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)

1) 農作業用ゴム長靴: N-isopropyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine (IPPD); N-1,3-dimethylbutyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine (DMBP-PD) および 6-ethoxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline (ETMDQ)

2) ゴムエプロン: N-isopropyl-N'-phenyl-p-

phenylenediamine (IPPD); N-1,3-dimethylbutyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine (DMBPPD) および 6-ethoxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline (ETMDQ)

3) ゴムバンド: 2-mercaptobenzothiazole (MBT) および dibenzothiazyl disulfide (MBTS)

4) 下着 (ブラジャー): アセタール樹脂 (重合触媒およびその酸化生成物)

5) 下着 (ガードル): 強刺激性の非イオン系界面活性剤

10. 接触皮膚炎の原因化学物質究明に用いる *in vivo* のアレルゲン検索のための方法論の確立: 感作性物質における構造活性相関に関する研究

アレルギー性物質であることが確認されているアルデヒド化合物について、Guinea Pig Maximization Test における感作性強度と赤外吸収スペクトル (アルデヒド部分のカルボニル基の吸収波長) の関係を検討した結果、良い相関性を有することを確認した。

11. 家庭用品に含まれる化学物質の安全性情報のデータベース化に関する研究

1) 接触アレルゲンに関するデータベース: 日本接触皮膚炎学会により配布されている接触アレルゲン解説書について日本語版の改訂を行うとともに、英文版を作成した。

2) 抗菌防臭加工剤に関するデータベース: 市販抗菌防臭加工製品についての市場調査、分析調査の結果をもとに、データの更新を行うとともに、システムプログラムの改良などを行った。

12. 医療用具の滅菌保証に関する研究

エチレンオキシド (EO) 滅菌や高圧蒸気滅菌の滅菌条件は生物指標 (BI) を用いて設定するが、その D 値決定法の差によって得られる D 値が異なる可能性があった。生残曲線法と制限スパーマン・カーバー法 (LSKP)、スタンボ・マーフィー・コ克蘭法 (SMCP) で得られた D 値を比較し、方法間の精度を比較した結果、その差は ISO 11138-1 の許容誤差範囲 (0.5 分) 以内であることが分かった (新医療技術開発研究事業・受託研究)。

13. 情報理論の分析化学への応用に関する研究

定量値の精度 (標準偏差) は定量分析の信頼性を測る普遍的な量であるにも関わらず、実際には参照されることは多くない。これは繰り返し実験で定量値の標準偏差を求めるために多くの時間と労力を必要とするからである。我々は機器分析のベースライ

ン揺らぎの数学的性質とシグナルの形から、繰り返し実験なしに定量精度を予測する理論を作り、液体クロマトグラフィ等に応用した。

## 環境衛生化学部

部長 安藤 正典

### 概 要

生活環境分野のうち室内空気については、室内空気中の化学物質の安全性に関する関心が高まりつつあることから、各種空気汚染物質の分析方法の検討、汚染物質の暴露量の推定あるいは家庭用品を発生源とする化学物質の揮散量等の研究を行った。また、飲料水の安全性に関しては、水質基準の改正や新たな農業に対する規制に対処するための試験方法の確立と水中化学物質の生物評価手法の確立などの検討を行った。

化粧品・医薬部外品およびそれらの原料について品質確保に関する試験研究、有用性および安全性に管轄する基礎的研究を行った。品質確保に関しては、「化粧品原料基準」についてヒトおよび環境に有害な試薬を用いない試験方法の検討を行った。さらにアラントインを含有する製剤の一斉取締試験を実施した。また有用性・安全性に関しては、赤血球の溶血を利用する紫外線吸収の評価などを始め、モルモットの剥離皮膚を用いる経皮吸収に関する研究も行った。

### 業務成績

#### 1. 空気関係

##### 1) 大気汚染の調査研究

前年度に引き続いて、東京都内 3 ヲ所の国設自動車排出ガス測定所において、各種自動計測器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、二酸化硫黄、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) ならびに自動車交通量の常時測定を実施した (環境庁大気保全自動車公害課)。

##### 2) 分析法の開発

壁紙等から揮散する化学物質の分析法の開発を行った (生活衛生局生活化学安全対策室)。

#### 2. 化粧品・医薬部外品関係

##### 1) 一斉取締試験

アラントインを含有する化粧品・医薬部外品 36 件について試験を実施した (薬務局監視指導課)。

## 2) 化粧品原料の規格試験および調査

タール色素について規格作成に必要な試験および諸外国の使用上の分類の調査を行った。

## 3. 水道用薬品または水道用品に関する研究

### 1) 水道用薬品または水道用品中のヒ素に関する研究

水道用薬品または水道用品中に含まれる可能性のあるヒ素について、水道中での形態、存在量、由来等を実態調査し、その安全性を検討した。さらに、混入の防止策や極微量に存在する場合についても、その除去方法を検討し、安全性向上のための基礎試料を得た（生活衛生局水道整備課）。

### 2) 水道用薬品または水道用品中のアルミニウムに関する研究

水道用薬品または水道用品中に含まれる可能性のあるアルミニウムの由来、形態、存在等を調査し、その安全性の評価、リスクを検討した（生活衛生局水道整備課）。

## 研究業績

### 1. 建築物内空気質の衛生管理基準の設定に関する研究

#### 1) 学校環境衛生に関する調査研究

最近、都市の学校建築物も一般ビルと同様に高層化、気密化するとともに、冷暖房の普及に伴い、室内空気質の清浄化の必要性が要望されている。本研究においては、都内の中学校、高等学校を中心に呼吸器疾患関連物質（二酸化窒素、ホルムアルデヒド）、環境因子および微生物（細菌、真菌）汚染等の実態調査を行い、学校環境の空気質清浄化のための基礎資料の蓄積を図った。

### 2. 喘息および発がん関連危険因子のヒト暴露量に関する調査研究

#### 1) 居住環境内における酸性物質の実態調査

東京都内の一般住宅において、冬季暖房器具使用時に発生する呼吸器疾患関連物質、すなわち、二酸化窒素、亜硝酸、二酸化硫黄、硝酸、ギ酸等の酸性ガスの実態を室内環境因子との関連性の有無を把握するために調査した。

#### 2) 揮発性有機塩素化合物の暴露量に関する調査研究

東京都内に在住する主婦を対象に、クロロホルムの個人暴露量の実態を生活行動や室内環境因子との関連性の有無を把握するために調査した。

### 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

サンプリングにデニューギー方式を用いたガス状酸性物質（二酸化窒素、亜硝酸、二酸化硫黄、硝酸、ギ酸）の捕集法とイオンクロマトグラフを用いた定量法について検討した。

#### 2) 揮発性有機塩素化合物の拡散型パッシブサンプラーの検討

空気中のクロロホルムの簡易測定を目的として、四フッ化エチレン樹脂製のチューブを拡散層、捕集剤に利用し、捕集剤にポラパックンを用いた拡散型のサンプラーを製作し、比例定数の算出、環境因子の影響等の実用化のための基礎的検討を行った。

#### 3) 拡散型検知管の開発

化学的知識を持たない一般の人々が、簡単、安全しかも安価に室内の汚染物質濃度を測定することが出来れば、室内汚染の予防対策を推進する見地からも有意義である。本研究においては、拡散を利用した視覚的簡易サンプラーの開発（NO<sub>2</sub>測定用）を行った。

#### 4) 室内空気中のトリス(2-クロロエチル)ホスフェート (TCEP) の定量法の検討

Tenax TA を充填した試料捕集管と加熱脱着装置を用いて、室内空気中の超微量（pg オーダー）の TCEP の定量法を確立した。

### 4. 化粧品原料の品質試験法に関する研究

化粧品原料の公定試験法の中で人体および環境に対して有害な試薬の使用状況を調査し、昨年度に引き続きヨウ素価、ケン化価の測定法の改良を始め、水銀化合物、シアン化合物などを使用しない試験法を検討した（厚生科学研究費補助金、東京都立衛生研究所、北里大学と共同）。

### 5. 化粧品安全性評価に関する基礎的研究

#### 1) 化粧品安全性評価に関する基礎的研究

昨年度に引き続き界面活性剤の剥離皮膚に与える影響をパラベン（メチル、エチル）およびサリチル酸を透過指標物質として検討した。アニオン、カチオン性界面活性剤では認められなかった。さらに活性剤の直鎖状炭素数や Draize score との関連についても検討した。

#### 2) 太陽紫外線の生体影響とその防御に関する研究

ヘマトポルフィリン (HP)-UVB 増感が溶血に及ぼす影響を *in vitro* で検討した結果、HP-UVA 増感と同様なメカニズムで溶血が起こることが示唆された。さらに SPF は高い相関を示し、評価の指標

となり得ることがわかった (HS 財団受託研究費)。

#### 6. 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の塩素処理による非意図的の有害物質の生成の可能性、ラジカルの関与する生成機構を検討した。テトラクロロダイオキシンの生成に対する作用を検討した結果、チトクロームP-450 1A およびその依存性代謝酵素群が強く誘導され、他のダイオキシン関連化合物と同様、強い生物活性を持つことを認められた (環境庁企画調整局)。

##### 2) 発がん性物質による環境汚染と生体影響の定量的解析

水道水に混入する可能性のある有機塩素化合物等の発がん性物質のリスク評価手法の確立のために、ラット肝薬物代謝酵素の誘導、動物の種差による誘導の特異性について検討した。トリクロロエチレンの投与によりチトクロームP-450 2B が選択的に誘導されることが認められた。また、動物の種の違いにより誘導されるチトクロームP-450 の分子種が異なることを明らかにした。このことは、動物により化学物質の代謝の機構に違いがある可能性を示唆した。

##### 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

公共水域に確認される農薬類および分解生成物の生物活性について検討した。ラットおよびマウス肝薬物代謝の第一相、第二相反応に係わる酵素に及ぼすクロロニトロフェン (CNP) とそのアミノ体の影響を検討した。さらに、初代培養肝細胞を用いてそれらの生物活性を調べた。また、CNP とそのアミノ体により誘導する酵素の分子種の違いが認められた。即ち、両物質とも生体に対してリスクが強く認められたが、物質によっては人の安全性評価のために行われる動物実験やその代替法で得られた結果の評価に関して、十分な検討を加える必要があることを示した (環境庁企画調整局)。

##### 4) ホウ素の安全性と処理方法に関する研究

水道水に存在する可能性のあるホウ素の安全性の調査を行った。水道水に起因する摂取量とその総合暴露量を調査し、今後の検討のための基礎資料とした (生活衛生局水道整備課)。

#### 7. 水質試験方法の開発に関する研究

##### 1) 揮発性有機化合物 23 種類のクライオフォーカシング装置付きヘッドスペース GC-MS による

高感度一斉分析方法の改良を行い、従来よりも良い分離能と分解能を得られる方法を示した (生活衛生局水道整備課)。

2) クロロニトロフェン (CNP) 代替農薬 8 農薬の GC-MS による一斉分析方法の開発を行った (生活衛生局水道整備課)。

## 食 品 部

部長 (副所長事務取扱) 齋藤 行 生

### 概 要

平成 6 年度の食品衛生分野において特記すべき事は、食品衛生法および地域保健法の改正であろう。

前者により食品の安全性に関する国内外の複雑多様な問題に対処するための現実的な方策がとられるようになった。また後者により、国内における食品保健対策を合理的に進めるため、国研と地研とが研究面でより積極的な協力体制をとることとなった。このような状況において、国研の重点整備、再構築策が進められており、今後の食品分野における新たな問題への合理的な取り組みが求められる。

本年度、当部においては、輸入雑豆問題、ケモメトリックス研究、有機スズによる食品汚染問題、バイオテクノロジー応用食品の安全性検証の問題、かび毒問題、食品中の有用成分検索等多岐にわたる業務に対処してきたが、衛生行政上、特に重要な課題の一つは、動物用医薬品を含む、農薬分析法の簡易化に関する研究である。また、衛生行政に関する情報をデータベース化し、いかに公開するかが今後に託された重要課題である。

人事面では、近藤一成技官が平成 6 年 7 月 1 日付で大阪大学薬学部 (大学院修士課程修了) より着任し、第二室に配属され、主として輸入食品の安全性に関する衛生化学的研究に従事することになった。豊田正武第三室長は、食品の安全性評価に関するワークショップ (OECD) に出席のためオックスフォードに出張 (平成 6 年 9 月 10 日~17 日) した。次いで、バイオテクノロジー応用植物の安全性評価への実質的同等性の原則の適用に関するワークショップ (WHO) に出席のためコペンハーゲンに出張 (平成 6 年 10 月 30 日~11 月 6 日) した。

佐々木久美子第一室長は、第 7 回残留農薬ワークショップに出席のためカリフォルニアに出張 (平成 7 年 3 月 9 日~19 日) した。



## 研究業績

1. 食品中の有害物質に関する事項
  - ① 食品中の残留農薬
    - 1) 残留農薬簡易分析法の開発に関する研究  
GC-MSによる多成分分析, および前処理に関する検討を行い, 農薬分析簡易化への道を開いた (厚生省生活衛生局食品化学課)。
    - 2) 保存検体中の残留農薬実態調査  
トータルダイエット試料中の臭素を定量し摂取量を推定した (厚生省生活衛生局食品化学課)。
    - 3) 有機リン農薬の一斉分析法  
有機リン農薬 28 種の一斉分析法を検討した (厚生省生活衛生局食品化学課)。
    - 4) エトフェンプロックスの分析法  
高速液体クロマトグラフィーによる本農薬の簡易分析法につき検討を行った (厚生省生活衛生局食品化学課)。
    - 5) アセフェートおよびメタミドフォスの簡易分析法  
極性が高く, 分析の困難な上記 2 農薬の簡易分析法を確立した (厚生省生活衛生局食品化学課)。
    - 6) 輸入牛肉中のクロルフルアズロンの分析法  
国際的には GC 法が知られているが再現性に問題があった。HPLC 法を検討し, 簡易にして安定性のある分析を確立した (厚生省生活衛生局乳肉衛生課)。
  - ② 輸入雑豆中のシアン化合物 (I および II)
    - 1) 輸入雑豆類のシアン配糖体に関する調査  
東南アジアおよび北米産雑豆中のシアン配糖体の含有量について文献的調査を行った (厚生省生活衛生局食品保健課)。
    - 2) リナマリンに関する調査報告  
経口摂取によるリナマリンの毒性に関する文献上の調査を行った (厚生省生活衛生局食品保健課)。
  - ③ 飲料水について
    - 1) ミネラルウォーター中の金属および硫化物の定量法概要および水質検査法  
新水質基準値の設定に関して, 数種類の金属および硫化物の微量分析法を提案した (厚生省生活衛生局食品保健課)。
    - ④ 輸入畜肉食品中の合成抗菌剤等について
      - 1) オキシテトラサイクリンの残留実態調査および添加回収実験報告  
オキシテトラサイクリン分析法の検討および実態調査を行った (厚生省生活衛生局乳肉衛生課)。

- ⑤ 食品中のダイオキシン類汚染実態調査研究  
沖縄産魚介, 輸入魚および国産魚中のダイオキシン関連化合物の実態調査を行った (厚生省生活衛生局乳肉衛生課)。
  - ⑥ かび毒, パツリンの分析法, 毒性, 汚染実態について  
パツリンに関する文献的調査を行った (厚生省生活衛生局食品保健課)。
  - ⑦ 必須アミノ酸等による健康影響に関する研究  
粗トリプトファン製剤中の各種成分のケモトリッククスによる検討を行った (厚生省生活衛生局食品保健課)。
  - ⑧ 発癌性カビ毒フモニシンの食品汚染と暴露に関する研究 (ガン克服戦略研究)。
2. 汚染物モニタリングと情報
    - ① 全国から集められたモニタリングデータは約 169 万件に達した。これらのデータは衛生行政上の情報として全国自治研究機関に提供した。また, 全国 11 機関のデータの一部は WHO にも送付された (厚生省生活衛生局食品保健課)。
    - ② 食品中の定沸点化合物等の濃度および摂取量調査を行った (厚生省生活衛生局生活化学安全対策室)。
  3. 食品中の有用成分
    - ① 食品中の活性成分の検索と産生  
トポイソメラーズを用いて食品中の抗がん活性成分を検索したところ, カプサイシン等が抗がん性を示すことが明らかになった (HS 財団受託研究)。
  4. 照射食品  
照射香辛料の CO アナライザーによる簡易検知法を検討した (国立機関原子力試験研究費)。

## 食品添加物部

部長 山田 隆

## 概要

当部の主要業務は化学的合成添加物, 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, 研究業務であるが, 他に, 第 7 版食品添加物公定書の作成, 食品衛生法の改正に伴う作業への協力や, ヒューマンサイエンス振興財団の受託研究として, 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行っている。

合田幸広主任研究官の大臣官房厚生科学課との併

任が平成6年9月1日に解除された。石綿肇第一室長が、「タイ国食品衛生強化プロジェクト」の食品衛生専門家として、タイ国公衆衛生省医科学局に出張した（平成6年11月16日～平成7年2月15日）。山田隆部長が、FAO/WHO 合同国際食品規格計画食品添加物汚染物質部会会議出席のため、オランダに出張した（平成7年3月16日～26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、化学的合成添加物の食品中からの分析法の検討を行った（食品添加物規格基準設定費，生活衛生局食品化学課）。

(2) 新規指定食品添加物，ポリビニルポリピロリドンの規格を作成した（食品添加物規格基準設定費，生活衛生局食品化学課）。

(3) イズミダイ切り身中的一酸化炭素の分析法（特別行政試験費，生活衛生局食品化学課）。

(4) 第七版食品添加物公定書に収載する際に必要な一般試験法について原案を作成した（食品添加物規格基準設定費，生活衛生局食品化学課）。

(5) ベニコウジ色素中不純物について，固相抽出法を用いた改良分析法を設定した（食品添加物規格基準設定費，生活衛生局食品化学課）。

(6) 医薬品添加剤規格の国際調和（薬務局研究開発振興課，審査課），日本薬局方調査会（医薬品添加剤委，名称委，薬務局研究開発振興課），環境測定分析統一精度管理調査（環境庁規格調整局環境研究技術課），水質環境基準検討調査（日本水環境学会），JISの改正等に協力した。

(7) 共同利用型NMRの実務面での管理を行った。

#### 研究業績

##### 1. 食品添加物等の規格基準設定に関する研究

(1) 食品添加物の1日摂取量に関する調査研究—B群食品添加物の摂取量（厚生科学研究費，生活衛生局食品化学課）。

(2) プロピオン酸中の易酸化物の試験法を公定法，FAO/WHO法，FCC法について比較検討した（食品添加物規格基準設定費，生活衛生局食品化学課）。

(3) 食品添加物としての高度サラシ粉と亜塩素酸ナトリウムの分別定量が，陽イオンのCaとEDTAとのキレート滴定法と，陰イオンの次亜塩素酸と亜塩素酸のヨウ素適定・還元二段階法により可能となった（食品添加物規格基準設定費，生活衛生局食品

化学課）。

(4) パプリカ色素成分のHPLCによる分析法を検討し，非エステル化カロテノイド，モノエステル化体，ジエステル化体の多数の成分を分離した（生活衛生局食品化学課）。

(5) 市販パプリカ色素を分析したところ，パプリカの原産地と色素成分の間に関連が認められ，製品は産地・成分により，2群に大別できた（厚生科学研究費，生活衛生局食品化学課）。

(6) アントシアニン色素13品目につき，HPLC法により，それぞれの色素成分を分析した。

(7) カラメル色素中の含窒素化合物の分析法について検討し，市販製品の分析を行った。

(8) カラメル色素の製造時に亜硫酸化合物を添加するカラメルIVについて，市販製品中のイオウの分布をHPLC-ICP法を用いて分析した。

(9) ステンレス製器具からの金属の溶出試験法について溶出条件の検討を行った（食品等規格基準設定費，生活衛生局食品保健課）。

##### 2. 食品添加物等の安全性に関する研究

(1) 鮮魚が一酸化炭素処理されているか否かの判定法を開発した（食品添加物規格基準設定費，生活衛生局食品化学課）。

(2) 不許可添加物であるポリソルベートのHPLC分析法の開発を行った（厚生科学研究費，生活衛生局食品保健課）。

(3) 天然着色料アカネ色素の基原植物セイヨウアカネ中のモルジンおよびそのアセチル化体の変異原性試験を行った（食品添加物安全性再評価費，生活衛生局食品化学課）。

(4) アカネ色素由来のアントラキノン色素のデオキシヌクレオシド付加体の単離，構造解析を行った（文部省科学研究費）。

(5) マルトールまたはコウジ酸の共存下におけるAlの肝毒性をマウスにおいて調べ，マルトール共存下での肝中タウリンの減少等を明らかにした。

(6) ポリスチレン製品のオリーブ油を用いた溶出試験法について，ヘッドスペース・ガスクロマトグラフィーを用いた分析法を確立し，オリーブ油溶出試験を試みた（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）。

(7) 木製器具中のホルムアルデヒドの試験法の検討，市販品の調査を行い，またその由来を明らかにした（厚生科学研究費，生活衛生局食品保健課）。

##### 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) パプリカ色素成分のモノエステル化体の構造をNMRを用いて解析した結果、カプサンチンの5員環側の水酸基が速くエステル化されることが明らかとなった(HS財団受託研究費)。

(2) トウガラシ辛味成分の生合成遺伝子解析に関連して、辛味成分をSFE/SFCを用いて分析した(HS財団受託研究費)。

(3) ムラサキイモ色素の構造を傾斜磁場型NMRを用いて明らかにした(HS財団受託研究費)。

(4) セイヨウアカネ培養根の培地中にストレスとして各種金属イオンを添加した時の、フィトケラチンの誘導とその結合金属を明らかにした(HS財団受託研究費)。

(5) 形質転換細胞中に含まれるオパインの1種ククモビンの染色体異常誘発の可能性に関連して、ミキモピンおよび $\alpha$ -ケトグルタル酸の*in vitro*染色体異常試験を、変異遺伝子と共同で実施した(HS財団受託研究費)。

## 有機化学部

部長 宮田 直樹

## 概要

平成6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。平成6年度から、環境汚染物質の影響評価に関する総合研究プロジェクト(環境庁)として「NO遊離化合物を活用した環境汚染窒素酸化物に関する研究」を代謝生化学部と共同で開始した。有機化学部は、NOの生体影響の評価に関する有機化学的研究を分担し、末吉祥子室長および丹野雅幸主任研究官らが中心となり、定量的あるいは条件選択的にNOを遊離する化合物の設計、合成、NO遊離反応の解析、および、NOやNO由来の短寿命活性物質による生体分子損傷反応の有機化学的解析を行っている。また、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」は、平成6年度から第2次に移行し、栗原正明室長を中心に光学活性化合物を高選択的に効率よく合成するための新規有用反応の開発を行っている。また、福原潔技官は、平成7年4月に「ニトロ多環

芳香族炭化水素の酸化と還元—毒性発現機構の解析—」によって、東京大学より薬学博士を授与された。

人事面では、平成6年6月1日より12月31日まで、東京工業大学工学部高橋孝志教授を併任官として第一室長に迎え、コンピュータを利用した生活関連物質の合成および反応性に関する指導と助言を得た。また、栗原正明主任研究官が、平成7年1月1日付で第一室長に就任した。中島(山越)葉子技官は、科学技術庁の国内留学生として平成6年5月1日より富山医科薬科大学薬学部薬用資源学研究室(小泉徹教授)へ「生体制御物質の立体選択的精密合成に関する研究」を行うために出張していたが、平成7年4月1日に帰任した。平成7年2月1日より、科学技術庁STAフェローとしてインドの医薬品中央研究所A.バサク博士を招聘し、第一室にて生理活性物質の立体選択的合成研究を行っている。また、平成6年12月1日より協力研究員として、日本大学農獣医学部農芸化学科講師西尾俊幸博士を迎えた。平成6年4月1日より1年間非常勤職員として採用した堀内俊博氏は、核磁気共鳴装置を用いた医薬品関連化合物の構造解析実験の技術補助作業に従事した。

海外出張は、宮田が、平成6年7月6日より10日まで薬理部大野泰雄部長とともに米国に出張し、メリーランド州ロックビルで開かれたDIA主催の「医薬品開発における立体化学的諸問題を考えるための会議」に出席し討議および発表を行った。また、福原潔技官が、米国バージニア州のバージニア大学理学部化学科S.ヘクト教授の招請により平成7年4月22日に渡米し、特別研究員として同教授のもとでDNAに作用する薬物の作用発現機構に関する研究を行っている。また、宮田が、平成7年4月18日より22日までスイスに出張し、ジュネーブのWHOで開かれた医薬品国際一般名(INN)策定委員会に出席した。

栗原正明室長と福原潔技官は、引き続き厚生省試験研究機関共同利用大型機器(傾斜磁場型600MHz核磁気共鳴装置)の管理運用を行った。なお、共同利用管理業務は、佐藤由紀子非常勤職員が行った。

平成6年度有機化学部特別講演会として、「分子力場計算を活用した生理活性物質の分子設計と合成(東京工業大学工学部教授:高橋孝志博士)」、「ディーゼル排気粒子による活性酸素生成と肺がんの発生について(国立環境研究所総合研究官:嵯峨井勝博

士)」を開催した。

### 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：光学活性なアセタール基を導入したオレフィン類を基質とし、オキソン-ケトン系酸化反応によるエポキシ化を検討し、立体選択的エポキシ化が達成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：前年度に引き続き、モルヒネ骨格のA環およびC環の化学的修飾を行い、オピオイドレセプターと親和性を有する化合物の合成を行った（乱用薬物基礎研究費）。

3) 活性分子種を用いた高効率の合成技術の開発：酸化反応によりラジカルを生成する系を用いて、炭素炭素結合反応を検討し、至適条件を明らかにした（科学技術振興調整費）。

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：ウレイド基を有する化合物の固体状態における分解反応を利用したトリアゼン類の新規合成法を確立した（一般研究費）。

5) 酵素反応を用いた生理活性物質の光学選択的合成に関する研究：生体内脂質過酸化生成物であるトランス-4-ヒドロキシ-2-ノネナールを合成し、酵素による速度論的光学分割を検討した（一般研究費）。

6) 分子力場計算による反応メカニズムの解析に関する研究：分子力場法を用いて、スピロ型アセタール類のコンフォメーション解析を行い、熱力学的支配下におけるアセタール化の理論的生成比を求めた（一般研究費）。

7) 生理活性を有する一酸化窒素遊離化合物の合成と機能解析：一酸化窒素を遊離する基本構造としてN-ニトロソ芳香族尿素およびN-ニトロソ芳香族アミドを取り上げ、フェニル環のオルト位またはパラ位の置換体を合成し、構造と機能を解析した（文部省科学研究費）。

8) 生体制御物質の立体選択的精密合成に関する研究：2-エキソ-ヒドロキシ-10-ボルニルスルフィニルアクリル酸誘導体を用いて超高压下での不斉Diels-Alder反応を行い、天然物の立体選択的合成への応用を検討した（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) NO遊離化合物を活用した環境汚染窒素酸化物に関する研究：大気汚染物質の測定原理を応用したNO測定装置を作成し、N-ニトロソ化合物からの一酸化窒素遊離量を測定した（環境庁国立機関公害防止等試験研究費）。

2) キノン系化合物による毒性発現機構の有機化学的解析：各種ベンゾキノン誘導体を合成し、活性酸素生成能とDNA切断活性および8-OHdG生成能の相関を明らかにした（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

1) 生体制御反応の設計と機能解析への応用：化学計算手法を用いて、二重鎖DNAと相互作用する薬物分子の構造設計と相互作用様式の解析を行った。この結果に基づいて、C<sub>2v</sub>対称性を有する新規オリゴペプチドを合成し、これらがDNAと強い親和性を有することを明らかにした（科学技術振興調整費）。

2) フラーレンの生体に及ぼす影響に関する研究：ポリビニルピロリドンを用いて水溶化したC<sub>60</sub>およびC<sub>70</sub>の酸化還元特性を解析した（文部省科学研究費）。

以上の研究は、伊東幸子修士、平野恵子学士（共立薬科大学有機薬化学教室：望月正隆教授）、袴田航学士（日本大学農獣医学部農芸化学科：奥忠武教授）、内藤有紀学士（東京理科大学薬学部衛生化学教室：鈴木潤三助教授）、世良暢之博士（福岡県保健環境研究所）、常盤寛教授（九州女子大）、岩田修永博士（東京医科大学法医学教室）、小林茂樹博士（昭和薬科大学薬品分析化学教室）、大森清美学士（神奈川県衛生研究所）、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115年会（仙台）、日本環境変異原学会第23回大会（静岡）、第20回反応と合成の進歩シンポジウム（静岡）、日本薬学会北陸支部第91回例会（富山）、第7回生体フリーラジカル実験交流会（千葉）、第7回および第8回フラーレン総合シンポジウム（名古屋、京都）、第17回磁気共鳴医学会（伊勢原）、等で発表するとともに、Chem. Res. Toxicology, Biochem. Biophys. Res. Comm., Chem. Pharm. Bull., Chem. Lett., Carcinogenesis, 放射線科学, 等の学会誌や専門誌、および、環境庁総合研究プロジェクト別環境保全研究成果集「環境汚染物質の影

響評価に関する総合研究], 科学技術庁科学技術振興調整費(総合研究)成果報告書, 文部省科学研究費(重点領域, 一般C)報告書, 等に公表した。

## 機能生化学部

部長 澤田 純一

### 概要

平成6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, 生体高次機能に及ぼす薬物等の影響の分子論的解析技術の開発, モノクローナル抗体の機能変換等に関する研究, 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, 中島治技官が平成6年4月1日付で採用され, 当部第一室へ配属された。平成6年6月30日をもって HS 振興財団流動研究員の Lubna Huq 博士が研究を終え, 英国へ帰国した。また, 平成6年10月31日をもって科学技術特別研究員の和田幾江博士が退職し, 米国へ留学した。

### 研究業績

#### 1. 免疫担当細胞の機能に関する研究

(i) 免疫毒性試験法および薬物等による免疫毒性に関する文献調査を行った。

(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 (HS 振興財団創業科学研究費), 抗酸化剤等のカルシウム動態への影響の検討へと応用した。さらに, 脱顆粒現象を可視的に観察する手法を検討した。また, 生薬成分等の抗アレルギー作用の検討も行った。

#### 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可溶性の機構をモノクローナル抗体を利用して解析し, メタロプロテアーゼの役割を明らかにした (HS 振興財団創業科学研究費)。

(ii) ラットを用いて, オピオイド結合タンパクの発生時における組織分布および発現量を検討し, 胎生後期以降での中枢神経特異的な発現を明らかにした (HS 振興財団受託研究費)。

(iii) オピオイド結合タンパクの大量調製を目的に, その遺伝子をクローニングした。

3. 生体高次機能に及ぼす薬物等の影響の分子論的解析技術の開発

(i) アストロサイト(星状膠細胞)の IL-1 による活性化に対する真菌代謝産物の作用を検討した。

(ii) 昨年度に引き続き, アストロサイトにおけるメタロチオネインの重金属およびサイトカイン類による誘導を検討し, メタロチオネインの脳内の防御因子としての役割を考察した。

4. モノクローナル抗体の機能変換等に関する研究

(i) モノクローナル抗体の機能変換を行う目的で, 構築した発現用プラスミドの大腸菌での発現法を検討した (HS 振興財団受託研究費)。

(ii) 抗体フラグメントと金属キレート蛋白の融合蛋白の遺伝子を設計した (国立機関原子力試験研究費)。

#### 5. 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を検討し, 穀類の真菌汚染の評価を行った。

(ii) 抗生剤であるスペクチノマイシンのイムノアッセイ法を開発し, その血中濃度測定への応用を検討した。

(iii) 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, *Walleria 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。

(iv) オンライン前処理カラムとして抗体固定化カラムを用いるキャピラリー電気泳動を利用して, モルヒネの微量分析法の開発を試みた。

## 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, リスクアセスメント手法の改善等に関する研究, 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等を行った。本年度から国立機関公害防止等試験研究として, 白血球の走化性に関する研究を開始した。また, HS 財団受託研究の「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」は終了し, 平成7年度から, 脂質代謝に関する新規課題の研究を開始している。

人事面では、紅林主任研究官は、平成5年11月1日からNIHに出張し、Korzekwa博士の研究グループで、ヒトP450のcDNAを発現するリンパ芽球細胞および各種ヒトP450分子種を用いた化学物質の代謝的活性化に関する研究に従事し、10月末に帰国した。また、平成7年4月1日よりHS振興財団の流動研究員として、大河内江里子博士が採用され、当部に配属された。

#### 研究業績

##### 1. 化学物質の安全性に関する代謝生化学的研究

1) 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(DMPD)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)

毒性部で実施しているDMPDの慢性毒性・発がん性試験に用いている飼料中のDMPD含量, DMPD投与ラットの糞・尿, 肝臓, 腎臓, 脂肪組織, 血液中のDMPDとその代謝物をGC/MSで定量した。現在, 実験開始後, 1年6ヶ月に達している。

2) トリス(2-クロロエチル)ホスフェート(TCEP)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)

<sup>14</sup>C-TCEPを合成し, これをラットへ吸入暴露させた場合の体内動態試験を開始した。本試験は第一化学薬品との共同研究として実施している。

##### 3) 異物代謝酵素に関する研究

ジクロロベンゼンの代謝には, フェノバルビタールまたはアセトン処理で誘導されるラット肝ミクロソームのP450分子種が関与することを予測した。

##### 4) 腎細胞に対する細胞毒性の研究

前年度に引き続いて, 腎上皮細胞を用い, BHAとフタル酸エステルのトランスポートを調べた。

2. リスクアセスメント手法等の改善と確立に関する研究

1) 肝細胞を用いた化学物質の代謝プロファイルの種差の定量的予測法に関する研究(厚生科学研究費, 生活衛生局生活化学安全対策室)

ウレタンに対する発がん感受性の種差の解明に応用できる方法を確立させる目的で, マウスの肝細胞を用いた*in vitro*系におけるウレタンの肝蛋白およびDNAとの付加物生成量を測定する方法を検討した。ウレタンのDNAとの結合量は培養時間とウレタン濃度に比例して増加し, DNAとの結合量には飽和現象がみられなかったが, 蛋白との結合量は高

濃度で飽和された。

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)

ムスクキシレンはラット肝のグルタチオンS-転移酵素のGST MIを強く誘導するのに対し, マウスにおいては, GST MIIIを強く誘導し, 種差がみられ, また, マウス肝細胞初代培養系を用いた誘導実験でGST MIIIを誘導し, *in vivo*における結果を良く再現できた。

3) 化学物質の代謝的活性化の種差を簡便に予測する方法の確立(特別研究費, 厚生省)

少量の単離肝細胞からDNAを抽出する方法を検討し, 操作が簡便なA.S.A.Pキット法が最も適していることを示した。また, ジクロロベンゼンはラット肝ミクロソームの蛋白に共有結合し, その結合は還元型グルタチオン, アスコルビン酸で阻害されることが判明した。

3. 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) 白血球の機能調節に関する研究(創薬基礎研究, HS財団研究費)

好中球様分化型HL-60細胞の活性酸素産生時に脱リン酸化される分子量21Kの蛋白は, アミノ酸配列分析とウェスタンブロッティングの結果から, アクチン結合蛋白質の一種であるコフィリンであることが判明した。

2) 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)

血漿超低密度リポ蛋白(VLDL)分泌調節機構に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の合成が関与していることを, 種々の阻害剤を用いて明らかにした。

3) 白血球の走化性に関する研究(国立機関公害防止等試験研究費, 環境庁)

一酸化窒素(NO)の白血球走化性に対する影響を調べる実験系を確立した。

#### 衛生微生物部

部長 三瀬 勝利

#### 概 要

平成6年4月1日付を持って東京家政大学教授に転出された一戸正勝第三室長の後任に, 創食品薬品センター秦野研究所より高鳥浩介氏を迎えた(平成

6年7月1日)。菊池裕研究員は平成6年10月より米国ベオリア市の農業利用研究センターのJ. L. Richard博士の所に留学し、マイコトキシンの迅速検出法の開発などの研究に従事している。

#### 業務成績

##### 1. 一斉取締試験

眼科用抗生物質製剤19件、カルシウム剤および無機製剤15件について無菌試験を行ったところいずれも陰性であった。

##### 2. 特別審査

合計23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(生活衛生局食品保健課)、卵のサルモネラ汚染に関する研究(生活衛生局乳肉衛生課)等が行われた。また、エイズ医薬品候補物質スクリーニング研究や抗ウイルス剤開発のための基礎的研究(HS財団)も継続された。更に、平成6年度から、MRSA等の耐性獲得メカニズムの研究、迅速判定法およびワクチン開発可能性についての基礎研究(厚生科学研究;千葉大学、北里大学との共同研究)とエイズの発症を促す抗菌感染防止のための基礎研究(HS財団;長崎大学との共同研究)が開始された。

#### 研究業績

##### 1. エンドトキシンに関する研究

脂肪酸のアクセプターである内毒素活性中心リピドAの前駆体構造中の遊離水酸基にサクシニル基もしくはアセチル基を導入する事により内毒素活性が完全に喪失するとともに強力なアントゴニストに変換する事を見いだした。一方、完全構造のリピドAを同処理してもまったく活性が失われないところから、リピドA構造の非還元末端グルコサミンの3-ヒドロキシ脂肪酸の水酸基の置換基が内毒素活性を完全に支配している事が示された。また、リピドAの前駆体のアセチル化により内毒素活性は完全になくなるが、リムルス活性は十分保持している事が判明した。サクシニル化ではリムルス活性もなくなるところから置換基がリムルス凝固系のファクターCとの反応系に影響を与えているものと想像される。さらに、歯周病の原因菌であるPorphyromonas gingivalisとコレラの病原体であるVibrio cholerae O1のLPS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

ヒブリオコレレ非O1のO抗原標準株118株より

14株の、腸炎ヒブリオ270株より46株の制限酵素産生菌を見いだした。EcoRIのアイソシゾマーがVibrio cholerae O2より見いだされた事は興味深い。

##### 3. 微生物学的衛生管理に関する研究

サルモネラ汚染防除対策の一環として卵処理工場の微生物汚染実態を調査し以下の結論を得た:GPセンターでは、搬入時の破卵、汚染卵の排除、洗卵水の洗浄度と温度管理、破卵、汚染卵などの排除、施設などの衛生管理、温度管理などが重要衛生管理ポイントとなる。割卵工場では正常卵と破卵などの区別・処理、卵の十分な洗浄と消毒、割卵後の不可食卵の排除、保管・流通における温度管理等が管理ポイントなる。

##### 4. 可動遺伝子に関する研究

IS1分子の転移機構研究の過程で、これまで未発見であった第三のタンパク質がIS1から生産される事が確認された。このタンパク質は転移酵素用の機能を持ち転移の調節にも関与している。IS1で発見されたこうした転移調節機構が他の可動遺伝子に広く存在しているかも知れない。

##### 5. イニシエーター・プロモーターに関する研究

培養細胞2段階トランスフォーメーション試験により、pQ、PhQ、DBQ等のキノンは、弱いながらも統計学的に有為なトランスフォーメーションを誘発することが観測された。

##### 6. 真菌に関する研究

Aspergillus nigerにおいて、amphotericin B、miconazole、ketoconazole等に対するアダプテーションが確認された。ポリエン系薬剤やイミダゾール系薬剤にも観察されたところから、ある薬剤に起こる現象ではなく、一般的現象と考えられる。ポリエン系やイミダゾール系に対するアダプテーションは膜のエルゴステロール生合成過程での変化によるものと考えられる。また、アレルゲンのひとつとしての真菌に関する研究も行われた。

#### 化学物質情報部

部長 神 沼 二 真

#### 概 要

当部は平成1年より業務の積極的な見直しを行い、1) 図書・情報サービス、2) 化学物質の安全性に関する国際協力、3) 全所的な研究情報計算基盤の整

備、4) それらを通じて開発、蓄積されたりソースを用いた基礎研究、を併行的に展開するという新しい体制への移行するよう努力してきたが、本年度はこの新しい路線も軌道にのり、全所的な研究情報ネットワーク基盤を整えるなどの成果をあげた。

人事面では、7月1日付けで図書係の遠山中夫氏が庶務課に転出、その後任に藤井厚美氏が転入してきた。

## 業務成績

### (支援業務)

#### 1. コンピュータ環境の整備

数年前より全所的な研究情報基盤の整備に取り組んできたが、本年度は省際ネットワーク整備プロジェクトに参加する形で、専用線でインターネットへ接続するとともに、各部の協力をえてインハウスのネットワークの構築を進め、各部からインターネットを利用できる体制をほぼ整備した。また、この情報環境を利用して、WWWサーバーを立ち上げ、英文要覧や安全性および医薬品に関係したデータベースなどを外部より参照できる案内システムを開発している。

#### 2. 化学物質の安全性に関する国際協力

(1) 国際有害化学物質登録制度 (IRPTC) 事業への協力

各国・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した IRPTC 法規制データベース用に、今年度も日本の法規制 (化審法、食品衛生法の残留農薬、環境法令等) データの更新を行った。

#### (2) 国際化学物質安全性計画 (IPCS) への協力

##### 1) 環境保健クライテリアの作成

昨年度にそれまで懸案となっていたいくつかの環境保健クライテリアの刊行のメドが立ったため、本年度は新たに物質「ニトロアレン類」と「半導体産業で使用される化学物質」についてのドラフトを作成した。また「エチレンジプロマイド」の環境保健クライテリアについては農薬合同会議 (関沢室長出席) において最終検討と安全性評価が行われた。

なお、環境保健クライテリアの第一次ドラフトについてのコメントの収集にも協力している。

##### 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10物質の安全性カード原案を作成し、1994年4月(ブリュッセル)、10月(アレキサンドリア)の検討会議に山本主任研究官が出席した。また、安全性カードの作成のためのコンパイラズガイドを邦訳

し、1994年12月に日本語版第2集として出版した。

#### 3) GINC プロジェクトの提唱

1994年5月にジュネーブで神沼がIPCSやそれに関連した化学物質の安全性の情報交換にインターネットを使うためのIPCS関係者との予備会合をもったが、その後このプロジェクトはGINC (Global Information Network for Chemicals) というコードネームがつけられ、IPCSのプロジェクトとして推進されることになった。12月には東京で最初のインフォーマルな準備会合が開かれた。また95年3月のブルージュの政府間フォーラムの中間会合で正式に認知され、同じ3月神沼、中田室長らが参加したジュネーブでのテクニカルな会合で具体化が話し合われた。

#### 4) その他の活動

1995年3月(ブリュージュ)の国際化学物質安全性会議(フォーラム)の中間会議に神沼が出席した。

## 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発癌物質のデータベースおよび医薬品の3次元構造を含むデータベースの開発を継続している。本年は受容体を含む生体高分子のデータベースを開発、整備するなど、安全性と創薬研究を支援する共通基盤をさらに充実した。

### 2. 生体分子の構造と機能に関する研究

昨年、多細胞生物の生体反応で重要な役割を果たしている細胞内信号伝達に関する知識ベースの概念設計を行ったが、本年はオブジェクト指向型のデータベースであるACEDBの管理機能を用いて、プロトタイプを試作した。また、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次元構造解析も実験とコンピュータによる解析の双方から進めている。

### 3. 線虫とコンピュータを用いたスクリーニングシステムの開発

昨年に続き、線虫の胚発生過程の実時間追尾、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。

### 4. その他の研究

厚生科学研究費により、化学物質の安全性に関する情報の提供をテーマに、特にMSDSの作成に関連する用語集を作成した。

また、「残留農薬安全対策総合調査研究」を分担



し、合成ピレスロイド系農薬の環境中における分解、代謝経路とその生成物の安全性について調査するとともに、各農薬の物性データをデータベースに入力した。また「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、経口急性毒性データを調査し実験結果と比較検討した。

また、既存化学物質等試験検査費で指定化学物質である1,2-ジクロロエタンおよびクロロホルムに関する情報を収集・解析し、毒性、環境データ、人についての暴露予測等をまとめた。

さらに、家庭用品等試験検査費により、海外の家庭用品に関わる表示制度について調査した。

## 5. 図書・情報サービス

### (1) 図書室の運営

本年度は雑誌10タイトルを中止、11タイトルを新規に購入し、単行本233冊を購入した。この結果、購入中の雑誌は328タイトル、管理している単行本は9,617冊となった。文献の相互貸借については、外部から1,010件の依頼があり、外部へは1,376件を依頼している。

### (2) 情報検索サービス

Netwareを用いた所内LANでCD-ROMベースのMEDLINEやChemical Abstracts: Collective Indexのサービスとサーバー上のCurrentContents (Life Sciences)の利用を本格化した。外部の商用データベースのオンライン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112号を作成し、所員ならびに所外に配布した。

## 安全性生物試験研究センター

センター長 黒川 雄二  
前センター長 林 裕造

平成7年3月31日付けで、平成3年より4年間その任にあられた林裕造センター長が定年退官され、4月1日付けで黒川雄二毒性部長がその後任に任ぜられた。なお、林前センター長は、今後総合評価研究室の客員研究員として在籍される。毒性部長には放射線医学総合研究所の井上達室長が採用された。かねてから当所将来構想の一環として生殖発生毒性を毒性部で、トキシコキネティクスを薬理部で実施することが認められていたが、4月1日付けの川

島邦夫薬理部室長の毒性部へおよび津田充有毒性部室長の薬理部への異動により実現された。その他、川西徹病理部室長の生物薬品部への異動に伴い、高田幸一毒性部主任研究員がその後任となった。変異遺伝部に増井徹主任研究員が、薬理部に小泉修一研究員が採用された。併任官として、児玉幸夫毒性部主任研究員が生活衛生局生活化学安全対策室へ、高木篤也毒性部主任研究員が大官官房厚生科学課へ勤務している。

現在当センターは、4部1省令室16室よりなり、構成人員はセンター長1、部長4、省令室長1、室長16、主任研究員24、研究員13、動物飼育長1で総計60名であり、それに技術・事務補助員14名、客員・協力・流動研究員8名がいる。一方、「国立試験研究機関の重点整備・再構築(案)」(平成7年4月)によれば、将来的(平成10年度を予定)に病理組織検査業務の病理部における一本化および細胞バンク業務の大阪への移管のため、毒性部および変異遺伝部から各1室を削減し、さらに毒性部動物管理室を独立して省令室化することとなっている。平成7年度からセンターに関わる事項の審議・報告等は、3週に1回定期的開催されるセンター運営会議(センター長、各部長、総合評価室長、動物管理室長よりなる)においてなされ部長会議に報告されることとなった。

海外出張には13名が延べ34回(センター長8回、部長11回、室長12回、主任研究員3回)派遣され、その内訳は行政関連会議(ICH, OECD, JECFA, IPCS, DIA, ILSI等)が25、学会等出席が9である。その他、長期留学として、米国、ドイツに室長1名、主任研究員3名が6カ月ないし1年滞在した。

林センター長の海外出張は、FAO/WHO合同食品規格計画アジア地域調整委員会(平成6年5月22日~27日、北京)、米国毒性病理学会・ILSI保健環境科学研究所において免疫毒性およびCODEX等協議(平成6年6月4日~6月12日、米国チャールストン・アトランタ)、毒性フォーラムにパネリストとして出席(平成6年7月10日~17日、米国、アスペン)、DIAワークショップ・ICH/EWG(平成6年10月19日~29日、オランダ、ベルギー)、ILSIによるマウス肝がんに関するワークショップ(平成6年11月6日~11日、米国)、ILSI年度総会(平成7年1月21日~27日、メキシコ)、FAO/WHO食品添加物専門家会議(JECFA)(平成7年2月13日~25日、イタリア)FAO/WHO食品基準

のためのリスク評価専門家諮問委員会（平成7年3月12日～19日、スイス）であった。

ICHに関しては、厚生科学研究：医薬品規制ハモナイゼーション推進国際共同研究の安全性部門において、9名の部長・室長が発がん性・遺伝毒性・トキシコキネティクス・単回および反復投与毒性・生殖発生毒性・バイオ医薬品安全性評価さらには品質部門の原薬・製剤・残留溶媒の安全性評価、境界領域の非臨床試験と臨床試験開始のタイミングについての10項目のガイドライン作成専門家会合に頻繁に参加・討論を行っている。それらの成果を本年11月に横浜で開催されるICH3で発表するために、現在厚生省審査課 ICH 業務推進室を中心として産官学による協同作業が続けられている。OECD 高生産量化学物質の安全性点検作業に関しては、厚生省生活衛生局が外部委託機関に依頼した試験データの評価を、センター各部の専門家等からなる毒性試験実施検討会および化学物質国際安全対策委員会で評価し、その結果を OECD に報告するとともに今後の試験物質についての情報整理、試験計画作成をもセンター各部の協力の下に行っている。なおこれらの結果は、「化学物質毒性試験報告」（化学物質点検推進委員会発行）として平成5年度から年1巻ずつ発行されている。昭和56年度より開始された日米科学技術協力協定に基づく海外専門家との交流事業：非エネルギー部門（テーマ A8 毒性学、日本側コンタクトパーソン林裕造センター長）には、三森国敏病理部室長と会田喜崇総合評価室主任研究官が米国に出張し、環境化学物質の安全性およびリスクアセスメントに関する情報交換を行った。

医薬品に関する GLP 査察は、平成6年度から所轄が厚生省審査課から医薬品機構に移動し調査員としての調査に当たることになったが、化審法 GLP 査察と同様にセンター各部専門家の協力の下に順調に行われた。今後両者 GLP に関してさらに若手主任研究官の参画を増やし、かつそれらの調査に関連した問題点を検討するための会合（年1ないし2回）を関係者全員で開くことになった。

化審法に基づく新規化学物質の審査は、現在センターの室長および主任研究官で構成される「化学物質安全性評価委員会」で行われ、その後外部の専門家も加えた「化学物質専門家委員会」で審議されている。しかし最近届出資料の増大・複雑化が進み審査の効率化が求められ、かつ両委員会における評価結果が必ずしも一致しない事例もあることから、セ

ンターと生活化学安全対策室の関係者でその問題点を認識し討議するための会合を早急に持つこととなった。

当センターの目的は一言にしていえば、諸種化学物質の安全性評価であり、そのため各部において先端技術の導入による安全性評価手法の改善が常に積極的に試みられてきた。今後はそれらをセンター内の特に若手研究者の協力による COE 化対策の協議の際に推進することが望まれる。さらに以上を一層効率的に押しすすめるため、ソフト面としての組織の見直し、若手研究者の充実とその適切な配置およびハード面として府中移転を念頭においた将来的な研究・業務施設計画の立案が急務である。

## 毒 性 部

部 長 井 上 達  
前部長(センター長) 黒 川 雄 二

### 概 要

平成7年4月1日付けの人事異動は以下の如くである。黒川雄二部長は安全性生物試験研究センター長に任命され、後任には井上達放射線医学総合研究所生理病理第二研究室長が採用された。その他、津田充有第四室長は薬理部後世代影響研究室長へ、その後任には川島邦夫薬理部後世代影響研究室長が、高田幸一主任研究官は病理部第二室長へそれぞれ配置替えとなった。部内では、齊藤実主任研究官が第四室から機器試験室へ、松島裕子主任研究官が第四室から第三室へ、高木篤也主任研究官が機器試験室から第四室にそれぞれ移動した。外部からは、客員研究員として、勲佐々木研究所病理部長前川昭彦氏（平成7年4月から）、協力研究員としてタイ国コーケン大学医学助教授のソイサンワン・サタラグ氏（平成6年11月から3カ月間）、勲韓国化学研究所安全性研究センター前任研究員金亨津氏（平成7年1月から1年間）、勲実験動物中央研究所前臨床研究部精神薬理部室長若狭芳男氏（平成7年4月から）、WHO フェローとしてインドネシア薬品食品管理局毒性部のイダ・クリスチアニ氏（平成6年6月から8月）を招聘した。海外留学としては、広瀬明彦技官は、勲ヒューマンサイエンス振興財団の日本人研究者派遣事業として、米国環境保健科学研究所（NIEHS）に平成6年1月から6ヶ月間滞在し、薬物等による白血球機能の制御に関する研究を行っ

た。高木篤也主任研究官は、科学技術庁の長期在外研究員として米国健康財団に平成6年2月から1年間滞在し、活性酸素による組織障害の分子生物学的研究に従事し、帰国後平成7年4月から厚生科学課併任となった。児玉幸夫主任研究官は、平成7年5月から1年間の生活衛生局生活化学安全対策室専門官を併任している。高田幸一主任研究官は、日本大学から学位(獣医学)を取得した。現在毒性部は、6室構成で技術補助員などを含め総勢34名であるが、「国立試験研究機関の重点整備・再構築(案)」によれば、将来的には第一室は解散し(病理検索に関する業務は病理部で一括して行う)、動物管理室は省令室化されることになり、4室構成となる予定である。

研究業務関連海外出張は、ICH/EWG会議、特に精巢毒性に関して(黒川部長、平成6年10月22日~29日ブルッセル、および平成7年3月25日~4月1日ワシントン)、日韓の「毒性試験研究交流」に関して、皮膚毒性、特に皮膚感作性に関する技術指導を行った(門馬主任研究官、平成6年11月28~30日韓国化学研究所テジョン、および平成6年12月1日~2日国立保健安全研究院ソウル)。

#### 研究業績

##### 1. 厚生省厚生科学研究費補助金

1) 化学物質による健康リスク評価法に関する研究(生活衛生局生活化学安全対策室)化学物質による毒性発現と酸化ストレスに関する研究として、化学物質の投与による臓器毒性の発現と臓器中の酸化的ストレスとの関連の認められた報告について調査整理した。

2) 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第2次 validation を行った。

3) 毒・劇物指定のための急性毒性試験(厚生省薬務局安全課)。

5-フッ化リン、3-臭化ホウ素、6-フッ化タングステンの吸入急性毒性、アクリル酸およびメタクリル酸の経口・経皮急性毒性試験を行った。

4) 実験動物を用いる急性毒性試験等の簡易法に関してアンモニアおよびホルマリンについて経口、経皮、吸入急性毒性試験を行った(厚生省薬務局安全課)。

##### 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。

モルモットを用いる Maximization 法による、皮膚感作性試験を実施した。

###### c) トリ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た。

###### 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た。

###### e) オキサベンゾン

モルモットを用いる Maximization 法により、皮膚感作性試験を実施した。

###### f) N-1,3ジメチル-N'-フェニル-p-フェニレンジアミン

モルモットを用いる Maximization 法による皮膚感作性試験を実施した。

###### g) $\alpha$ -メチルベンジルフェノール

ラットにおける急性毒性試験および、90日間の亜慢性毒性試験を終了し、病理組織学的検査を実施中である。

###### h) トリアリルアミン

ラットにおける急性毒性試験および、28日間強制経口反復投与による毒性試験を終了し、病理組織学的検査を実施中である。

###### 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および、混餌投与による90日間亜慢性毒性試験を終了し、病理組織学的検査を実施中である。

###### j) 3-メチル-4-イソプロピルフェノール

ラットにおける混餌投与による90日間亜慢性毒性試験を終了し、病理組織標本を作製中である。

###### k) 2-メルカプトベンズイミダゾール

ラットにおける28日間強制経口反復投与による毒性試験を終了し、病理組織学的検査を実施中である。

###### 1) N-(フルオロジロロメチルチオ)フタルイミド

ラットにおける28日間強制経口反復投与による

毒性試験を終了し、病理組織学的検査を実施中である。

m) N-ジメチル-N'-フェニル-N'(フルオロジクロロメチルチオ)-スルファミド

ラットにおける28日間強制経口反復投与による毒性試験を終了し、病理組織学的検査を実施中である。

## 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、病理組織学的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24ヶ月の慢性吸入曝露を終了し、病理組織学的検査を継続中である。

### 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、病理組織学的検査を継続中である。

d) 2,2'-イソブチリデンビス(4,6-ジメチルフェノール)

ラットにおける慢性毒性試験を終了した。

e) N-モノ(orジ)メチルフェニル-N'-モノ(orジ)メチルフェニル-*o*-フェニレンジアミン

ラットにおける慢性・発癌性試験を開始した。

## 3. 厚生省生活衛生局水質試験検査費

鉛の疫学調査情報について、文献ならびにシンポジウムから最新情報を収集整理し報告した。

## 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発がんの一次予防に関する研究

発癌抑制の評価法に関する研究として、各種の抗酸化物質を前投与し、肝発癌物質によるDNAの酸化的損傷の抑制について解析した。

## 5. 厚生省対がん十ヶ年総合戦略研究事業

生活環境中の発がん関連物質の究極活性物質の生体内生成の究明と安全性評価法の確立に関する研究  
臓器DNAの酸化的損傷に関する研究として、肝発癌物質であるペンタクロロフェノールによる肝DNAの酸化的損傷について解析した。

## 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

亜鉛を高濃度に含有する酵母食品について慢性毒性試験を開始する準備を進めていたが、対策室で検体を入手することが不可能になったので、ギムネマに検体を変更して毒性試験を実施することになった。

## 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、オングンセトロン(5HT<sub>2</sub>受容体アンタゴニスト)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癌性短期試験法に関する研究

ヒトプロト型C-Ha-ras遺伝子導入トランスジェニックマウスの発がん性試験における有用性を、genotoxic carcinogenとして知られているcyclophosphamideおよび4NQOを用いて検討した。両化合物とも悪性度の高い腫瘍を早期に高頻度に発生し、本トランスジェニックマウスはがん原性の短期検索に有用な試験系と考える。

## 10. 特別研究「生体関連指標の有意性判定に関する研究」

霊長類の一種で、ラットとほぼ同程度の体重で、取扱いが容易であるマーモセットを用いてサイクロスボリンAの免疫毒性試験を行った。

## 11. 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。

## 12. 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。

## 13. 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、その結果をドイツ厚生省に報告した。

14. 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、妊娠前および妊娠初期のラットにトルエンを暴露し、雌雄の親動物における生殖能および胎児に対する影響と、ラットにおける90日間反復投与毒性試験を加味した試験を行った。

## 薬 理 部

部長 大野 泰 雄

### 概 要

平成7年4月1日付けで後世代影響研究室の川島邦夫室長が毒性部第4室長に、毒性部第4室の津田充宥室長が後世代影響研究室長に異動となった。これに伴い、生殖毒性は毒性部第4室で担当し、トキシコキネティクスを後世代影響研究室で担当することとなった。また、平成7年4月1日付けで小泉修一博士が採用され、第1室に配属された。また、ヒューマンサイエンス振興財団流動研究員として、張宝旭博士が継続採用され、初代培養肝細胞における gap junction を介した細胞間連絡に及ぼす化学物質の影響に関する研究に従事している。

短期海外出張は大野泰雄部長がジュネーブで開催された WHO の「国際一般名称調査会」に参画した (4月27日~4月29日)。また、ワシントンで開催された DIA の会議に出席し、米国を始めとする各国の医薬品行政担当者とキラル医薬品の取扱に関する審議を行った (7月7日~8日)。更に、ブラッセルで開催された ICH の会合 (10月24日~10月27日) のトキシコキネティクスおよびファルマコキネティクスに関する専門家会議に参画し、それぞれ ICH のステップ IV の合意に達した。井上和秀第1室長は神経伝達物質の開口放出機構に関するロンドン大学との共同研究の打合せと研究成果の発表のためにロンドンに出張した (9月5日~9月15日)。藤森観之助第2室長はローマで開催された残留農薬に関する FAO/WHO 合同会議に参画した (9月19日~9月28日)。

国外の学会出張としては、井上和秀第1室長はト

ロントで開催された第12回国際薬理学会 (7月21日~7月30日) に参加し、ATP の中枢神経系における機能について報告した。また、井上和秀第1室長および中沢憲一主任研究官はウィーンで開催されたヨーロッパ神経科学会の第17回会議 (9月5日~9月12日) にシンポジストとして招待され、ATP 受容体チャネルの性質および調節機構について報告した。なお、日本動物実験代替法学会第8回大会における中沢らの「化粧品原料の培養神経細胞に対する影響」に関する発表がゴールデンプレゼンテーション賞を獲得した。

また、平成6年度は延5人が医薬品の国内 GLP 査察を行った。

### 研究業績

1. 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) 化学物質による健康リスク評価法に関する研究 (厚科研)

画像解析装置を利用して精子濃度、運動量等解析システムを開発し、ニトロベンゼンを用いてシステムの検証を行った。

ii) 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 (厚科研)

ドレイズ眼粘膜刺激性試験代替法に関する二次バリデーションを終了し、新たに14品目の物質を対象として選考し、三次バリデーションに進んだ。

iii) 若令ラットにおける行動薬理試験法の検討 (試一般)

出生直後のラットの反射機能 (正向反射、断崖回避等) を録画画像解析により測定する方法を検討した。

iv) 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 (試一般)

ラット血清中の胚栄養因子を精製し、N末端アミノ酸配列を明らかにした。

v) 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 (委員長)

スルクストクロム P450 1A2 の塩基配列について検討し、スルクス P450 1A2 はウサギ P450 1A2、ラット P450 1A2 の塩基配列と相同性の高いことを示した (平成6年度で終了した)。

vi) 医薬品規制ハーモナイゼーションに関する国際共同研究 (厚科研)

トキシコキネティクスと反復投与組織分布試験に関する ICH の step II の合意文書に対するコメント

を各界より収集し、それに基づいて修正案を作成し、10月のICH会議において修正を経たものがstep IVの文書として合意された。現在、それを日本での厚生行政に反映させるための作業を行っている。

## 2. 医薬品等の中樞機能に及ぼす影響に関する薬理学的研究

i) ニューロサーキット同時多点解析法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(委員長)

PC12細胞におけるATP誘起反応をセロトニンが制御していることを示した(平成6年度で終了した)。

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(委員長)

受容体作動性Caチャンネル依存性および電位依存性Caチャンネル依存性神経伝達物質放出に対する分裂病治療薬の効果をCa拮抗薬と比較検討した(平成6年度で終了した)。

## 3. 生体機能における情報伝達に関する薬理学的研究

i) 細胞内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(環公害)

環境汚染物質である塩化カドミウムが低濃度から初代培養肝細胞間の情報伝達を抑制することを示した。また、培養海馬神経細胞ネットワーク系を用いて環境汚染物質カドミウム等の影響を検討した。

ii) 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(委員長)

酸化コレステロール、およびダイコートによるgap junctionを介した細胞間相互作用に活性酸素産生が関係していることを示した(平成6年度で終了した)。

iii) 分子生物学的手法を用いたイオン・チャンネルの薬理学的研究(試一般)

ニコチン様アセチルコリン受容体のcDNAよりアフリカツメガエル卵母細胞にイオン・チャンネルを発現させ、各種化合物の作用機序を検討した。

## 4. 医薬品等の後世代に及ぼす影響に関する薬理学的研究

i) 食品添加物の次世代影響に関する研究(食品等試験検査費)

塩化マグネシウムについてラットを用いた催奇形性試験を終了し、報告した。モルホリン脂肪酸エステルについてはラットを用いた催奇形性試験を開始

し、胎児検査を実施中である。グリセリン脂肪酸エステルについてはラットを用いた催奇形性試験のための用量設定試験を実施した。

ii) 既存化学物質の催奇形性に関する研究(既存化学物質試験検査費)

N-メチルフェニル-N'-メチルフェニル-p-フェニレンジアミンのラットを用いた催奇形性試験を終了し、報告書を作成中である。

iii) *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(試一般)

培養ラット胚におけるセレンの取り込み量を調べるための実験条件を検討した。

iv) 化学物質の生殖細胞の形成に対する障害性に関する研究(試一般)

コンピューター支援精子運動測定装置を用いて $\alpha$ -クロルヒドリンの精子の運動性に及ぼす影響を検討した。

## 5. 医薬品等の細胞機能に及ぼす影響に関する薬理学的研究

i) 細胞内のDNA修復機能に関する研究

ヒトATPase Q1の出芽酵母ホモログ遺伝子について遺伝子破壊株を作成し、機能を解析し、この遺伝子がアルキル化剤に対するDNA修復および減数分裂に関与している可能性を示唆した。

ii) 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(厚科研)

ピレスロイド系殺虫剤の代謝経路を調査した。また、ジフェニルエーテル系除草剤がイヌ肝臓で代謝を受け、胆汁中にアミノ体およびニトロソ体が出現することを示した。

iii) 農薬の分解・代謝物の安全性評価研究(厚科研)

ピレスロイド系殺虫剤およびその分解・代謝物の内、プロメトリンとアメトリンが低濃度から肝細胞毒性を示した。また、神経由来の培養細胞であるPC12細胞においてペルメトリンの代謝物であるPBalcが電位依存性のCaチャンネルを抑制することを明らかにした。

## 病 理 部

部長 高橋道人

## 概 要

平成7年4月1日付けで川西徹第二室長が生物

薬品部第二室に異動し、高田幸一毒性部主任研究官が第二室長に就任した。安原加寿雄主任研究官は平成6年5月より、生活衛生局生活化学安全対策室化学物質審査官を併任している。また非常勤職員の鈴木順子は平成7年3月31日付けで退職した。

短期海外出張は高橋道人部長が、ベルギー・ブルッセルで開催されたICH安全性分野専門家ワーキンググループに出席し、発がん性試験の用量設定について検討を行った(平成6年10月22日~10月28日)。さらに米国・ワシントンにおいて開催された同専門家ワーキンググループに出席し、発がん性試験実施が必要となる条件について討議を行った(平成7年3月25日~4月1日)。西川秋佳室長は米国癌学会(サンフランシスコ)に参加、発表した(平成6年4月10日~4月13日)。三森国敏室長は韓国獣医学会(ソウル)に出席し、特別講演を行った(平成6年5月26日~5月29日)。スイス・ジュネーブでの『FAO/WHOの第43回合同食品添加物(動物用)専門家会議(JECFA)』に出席、討議した(平成6年11月14日~11月16日)。また米国において日米間の環境化学物質の安全性およびリスクアセスメントに関する情報交換(平成7年2月13日~2月26日)、さらに日米がん研究協力事業セミナー(ハワイ)『発がん物質、抗発がん物質の重複投与効果』に出席、発表した(平成7年3月12日~3月16日)。

なお、医薬品GLP適合性調査には2人が延べ7ヶ所(海外1を含む)に出張した。

#### 研究業績

1. 食品添加物、農薬、医薬品等の安全性、特に発癌性に関する研究(食品等試験検査費)

ステビオサイドの慢性・発癌性試験の結果、明らかな毒性および発癌性は認められなかった。

ヨードカリ、ヒスチジン、バラオキシ安息香イソプロピル、流動パラフィン、乳酸鉄、 $\beta$ -サイクロデキストリン、ジョサマイシン等の化学物質の試験を継続中である。

2. 発癌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、HS財団受託研究費)

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。ハムスターのBOP誘発腺癌のイニシエーション過程におけるイソチオシアネート系化合物の影響を検索した結果、

腺腫瘍の発生を強く抑制した。ビタミンAの甲状腺腫瘍プログレッション期に対する影響を検討した結果、腫瘍のプログレッションを抑制した。またラット胃発癌モデルを用いてODC阻害剤およびビタミンD活性化体の影響を検討する動物実験を開始した。

3. 動物発がんモデルの確立に関する研究(厚生科学研究補助金、文部省科学研究費)

1) BOP 経胎盤投与による卵巣腫瘍モデルを用いてエストロジェンの影響についての実験を行っている。

2) lacI 遺伝子を導入した Big Blue マウスに DMN を投与し、変異原性と発がん性との関連を臓器レベルで比較検討した。

3) MNU のポリウレタンシート皮下埋植による影響を検討した結果、皮膚および皮下腫瘍の発生が促進された。

4. 自然発生病変の診断の確立に関する研究

WBN/Kob ラットの自然発症肺炎に対するニコチンアミドの影響を検索した結果、肺の線維化を抑制する傾向がみられた。

5. 化学物質による臓器障害に関する研究(喫煙財団研究助成金、厚生科学研究補助金)

1) MNUR 誘発肺線維症におけるタバコ煙の影響をハムスターを用いて検討した結果、腫瘍発生の促進はみられなかった。

2) ラットにピペロニルブトキサイドを反復投与し、肝病変を免疫形態学的に検討した結果、P450 分子種の変動がフェノバルビタールと同じであり、肝細胞のコネクシムも減少し、肝腫瘍発生にこれらのプロモーター作用の関与が示唆された。

3) ハムスターの肺線維症モデルでみられる増殖性病変の細胞増殖活性が抗酸化剤で抑制されることを明らかにした。

4) モノクロタリンはマウスに肝線維症を誘発するが、肺腫瘍誘発能はないことが判明した。

6. 有害性評価の生体指標に関する研究(特別研究、厚生省がん研究助成金)

1) 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。

細胞増殖活性を反応指標とする安全性評価の標準化に関する研究を継続した。

2) 肝発癌性が指摘されているピペロニルブトキサイドをラットに28日間投与した結果、肝細胞の壊死に続いて細胞増殖活性が投与期間の遅延と供

に増加する事を見出した。

7. 化学物質データベースシステムの作成に関する研究（厚生省移替予算）

毒性試験で使用されている病理診断所見用語のコード化を終了し、システムのバリデーションの検討を継続した。

8. 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，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顕微鏡を用いてビデオレイトでの画像取得技術を完成させた。

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過酸化物質の画像化を検討した結果、血管内皮細胞において酸化ストレスによって生じる過酸化脂質の生成を画像化した。

3) 環境汚染物質の細胞内情報伝達系への影響の研究

サイクリック AMP 情報伝達系への環境汚染物質の影響を検討した。

9. 化学物質の安全性評価に関する研究（厚生科学研究補助金）

アドリアマイシン反復投与ラットに発現した精巣病変を経時的に形態学的に検索した結果、時間の経過とともに精祖細胞から精子細胞の順に徐々に消失していくことを見出した。

10. 製剤評価に関する研究（財：日本公定書協会，HS 財団受託研究費）

抗悪性腫瘍剤による骨髄抑制と白血病誘発の種差に関する研究としてラットおよびイヌを用いてシクロフォスファミド，シスプラチン，エトポシドおよびシスプラチンとエトポシドの併用についての影響を検討した。

11. ダイオキシンの発がん性に関する研究（厚生科学研究補助金）

ダイオキシンの発がん性について，作用機構を中心に文献調査を行った。

12. 医薬品規制ハーモニゼーション推進国際共同研究（厚生科学研究補助金）

1) ラットに3種の既知精巣毒性物質を投与，検討した結果，精子形成サイクルが精巣毒性を検出，評価する上で重要であることが判明した。

2) 医薬品の安全性評価のための適切な癌原性試験を行う上で必要となる条件および用量設定について検討した。

## 変異遺伝部

部長 祖父尼 俊雄

### 概要

平成5年6月1日より科学技術庁 STA フェローとして来日していたフィンランド国立公衆衛生研究所 J. Mäki-Paakkanen 博士は，1年間にわたるマウス末梢血小核の分離とセントロメアの識別に関する研究を終えて，平成6年5月29日に帰国した。

第2室渡辺雅彦主任研究官は，科学技術庁長期在外研究員として平成5年9月1日より米国ローレンスリバーモア国立研究所にて，遺伝子突然変異の分子機構に関する研究に従事していたが，平成6年8月31日に帰国した。

渡辺主任研究官は平成6年9月1日より厚生省大臣官房厚生科学課に併任官として赴任し，平成7年3月31日にて併任が終了した。

HS 財団基礎研究支援事業により，平成6年3月21日よりドイツマインツ大学にて，代謝酵素遺伝子を導入した培養細胞を用いる研究に従事していた松岡厚子主任研究官が，平成6年9月20日に帰国した。

平成6年4月20日より第1室にて培養細胞を用いる小核試験の研究を行っていた，中国華西医科大学張立実助教授が，平成6年11月1日より，HS 財団流動研究員として採用され，引き続き培養細胞を用いる変異原性試験の研究に従事している。

第3室（細胞バンク）にて，平成元年10月1日より細胞の培養技術など幅広く細胞バンクの業務に貢献してきた大西清方協力研究員は，平成7年3月31日をもって終了した。

短期海外出張としては，祖父尼俊雄部長および本間正充厚生技官は，平成6年5月5日～5月13日にアメリカのポートランドで行われた米国環境変異原学会第25回大会に参加し，マウスリンフォーマ試験のワークショップで発表を行った。また，大会期間中に行われた ICH の遺伝毒性の専門家会議に出席した。

能美健彦第2室長は平成6年6月24日～7月3日にアメリカのプリマスで開催されたゴードンリサーチカンファレンスに参加し，バクテリアの遺伝子破壊株の作製法について発表した。

祖父尼部長は平成6年9月19日～9月25日にイ



タリアのローマで開かれた OECD 遺伝毒性試験ガイドラインの改訂に関する会議に出席し、改訂案の作製作業に携わった。

平成6年10月24日～10月28日にベルギーのブリュッセルで行われた ICH-3 準備会議での遺伝毒性の専門家会議に祖父尼部長が出席した。

林真第1室長は平成6年12月14日から12月16日のフランスのパリで開催された OECD コンピュータシステムの GLP 査察に関する作業部会に出席し、ドラフトの作成に参加した。

平成7年2月11日から2月19日にイギリスのロンドンで開かれた IPCS による遺伝毒性と発癌性のリスクアセスメントの国際ハーモナイゼーションの会議に祖父尼部長が出席し、アクションプランの作製に参加した。

平成7年3月9日～3月18日にアメリカのセントルイスで行われた ICH の遺伝毒性の専門家会議に祖父尼部長および本間厚生技官が出席し、厚生省・日本製薬協のマウスリンフォーム共同研究の成果について発表した。また、同時に開催されていた米国環境変異原学会第26回大会のワークショップ、シンポジウムおよび一般講演にて発表を行った。

林真第1室長は平成7年3月12日～3月16日にアメリカ、ハワイにおいて開催された日米がん研究協力事業セミナー「発がん物質、抗がん物質の重複投与効果」に出席し、2種の変異原物質投与による小核誘発の複合効果について発表した。

能美室長は平成7年3月23日より3月31日にアメリカのアルバカーキで開催されたキーストンシンポジウムに参加し、アクシル化 DNA 損傷に対する修復能を欠損したサルモネラ菌株について発表した。

第3室（細胞バンク）の業務拡大に伴い、大阪支所において財団法人による有料頒布を実施するために、生物試験部の一部の改装工事ならびに設備、備品の整備を行い、平成7年3月末日に完了した。本年度は業務の再構築のため新規細胞株の収集は最小限にとどめ、3件12種を収集した。しかし、細胞株の供給は昨年度に引き続き増加し、4150アンプルを供給した。第2室で新たに開発した遺伝子導入細胞株のマイコプラズマ除去等の品質管理を終了し、供給体制への組み込みが完了した。また、遺伝子治療用ベクターの開発に必要な細胞株2種を ATCC から入手し、保存供給体制を確立した。第2室においては、新しく開発した YG 株を国内42アンプル、

国外76アンプルを供給し、エームス菌株は国内64アンプル、国外4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. 農薬の変異原性に関する研究

農薬および農薬の代謝物について、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）。

##### 3. 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

複数の変異原の影響を評価するために、2種の変異原を投与したマウスの小核誘発性を末梢血を用いて調べた。作用機作の異なる2種の物質を投与した場合には加算効果がみられたが、作用機作の類似した2物質の場合には、「見かけ上」の相乗効果が現れる場合があり、それはその物質の用量反応パターンと作用機作に依存することを明らかにした（がん研究助成金による総合研究）。

##### 4. 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

マウスおよびラット受精卵にトランスフェクトする遺伝子突然変異検出用の新しいベクターとして、点突然変異と欠失突然変異を検出できるラムダファージを作製した。また、遺伝子が導入されたマウスからのファージ DNA の回収効率を検討し、さらに自家製のパッケージングエキストラクトを調整し、効率的なファージ DNA の回収を試みた（HS 財団受託研究費）。

##### 5. 化学物質による健康リスク評価法に関する研究

*In vivo* 突然変異検出用のトランスジェニックマウスとして Muta<sup>TM</sup> Mouse と Big Blue<sup>TM</sup> があるが、いずれも color selection 法を用いており、10万個の中から1個出てくる変異体を見いだすことになり、かなりの労力と時間が必要となる。最近、突然変異体のみを選択的に取り出す positiveselection 法が開発され、両者を比較したところ、後者は前者と同じような検出感度を持ちながら、1/10程度の労力で済み、極めて効率のよいことが判明した（生活衛生局生活化学安全対策室）。

##### 6. 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おける結果の判定のために、統計学的な解析方法について基礎的な検討を行った。陰性対照群での自然誘発小核出現頻度がどのような分布を示すかを、3つの異なる研究室から得られたデータを用いて解析した。3研究室でそれぞれ異なった結果が得られたことから、3研究室での観察法や小核の判定基準などが異なっていることが考えられた（労働省化学物質情報課）。

7. 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) 酸化的障害を引き起こす変異原に高感受性を示すサルモネラ菌株として、8-hydroxyguanine DNA glycosylase 遺伝子 (mutM) を欠損する株を作製し、自然突然変異を親株と比較するとともに、4-NQO に対する感受性を検討した。

2) Muta™Mouse を用いて、ENU および MMS の生殖細胞に対する影響を検討した。投与後3日目と14日目の精子および精巣より DNA を抽出して、positive selection 法を用いて検討した。

3) MeIQ が Big Blue™ マウスに大腸がんを発生したことから、大腸における MeIQ による遺伝子突然変異活性を検討したところ、突然変異頻度の著しい増加がみられた。

8. 医薬品規制ハーモナイゼーションに関する国際共同研究

マウスリンフォーマ試験がいかに染色体異常誘発物質を検出できるかを検討するために、共同研究を行った。国内42機関、国外7機関、合計49機関が参加して、21物質について検討した。陽性対照物質を除いた20物質の中15(75%)で陽性結果が得られた。3物質は疑陽性で、2物質は陰性であった（薬務局新薬品課）。

9. 水生生物の細胞遺伝毒性を指標とした水質汚染モニタリング法の開発に関する研究

マイトマインCを投与したニゴロブナおよびギンブナの赤血球において小核の誘発が認められた。タイリクバラタナゴの初期胚を用いてテトラクロロエチレンの染色体異常誘発性を検討した。野外で採取したカサゴ、アジなどでの自然誘発小核頻度についても検討した。また、バフンウニの初期胚を用いてマイトマインCによる小核誘発性を検討した。さらに、DNA 損傷性を検索する単細胞ゲル電気泳動法をギンブナの赤血球とエラ細胞に適用し、MNNGの影響を検討した（国立機関公害防止等試験研究費、環境庁）。

10. 変異細胞の選択技術の確立と突然変異の塩基配列の解析に関する研究

大腸菌 *gpt* 遺伝子における放射線誘発突然変異を塩基配列レベルで分析し、その変異スペクトラムを自然突然変異と比較した。最初に、大腸菌 *gpt* 遺伝子を組み込んだプラスミドを作製し、大腸菌に導入し、6TG で変異体のみを選択する実験条件を確立した。さらに、DNA シークエンサーによる大腸菌 *gpt* 遺伝子の塩基配列を決定するプロトコールを確立した（国立機関原子力試験研究費、科学技術庁）。

11. 突然変異誘発機構の生化学的解析に関する研究

MucA'B, SamA'B タンパク質の大量発現系を構築し、MucA'については抗体の作製を行った。MucBについてはグルタチオン S-トランスフェラーゼとの融合タンパク質の発現系を作製した。

12. DNA の酸化的障害に対する修飾機構に関する研究

酵母の8-hydroxyguanine DNA glycosylase の活性測定条件を確立し、遺伝子クローンの検索を行った（新技術事業団研究費）。

13. 環境変異原によって誘発されるヒト細胞ゲノム中の欠失型遺伝子突然変異の検出

ヒトリンパ球由来のTK6およびWTK1細胞を用い、種々の変異原による *tk* 遺伝子座における突然変異を解析したところ、組換え型および欠失型の突然変異が誘発されていることが判明した。

14. 化学物質の変異原性に関する情報収集とデータベースの構築

遺伝子突然変異試験、染色体異常試験および小核試験データの収集を行った。

15. 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

ヒト由来株細胞のうち、特定の株より派生した亜株とその親株との識別は極めて困難である。通常染色法、GおよびQ分染法による核型分析に加えて、9種類の染色体DNAプローブを用いた染色体ペインティング法により、マーカー染色体の詳細な解析より両者を識別することができた。さらに、免疫グロブリン遺伝子の2種をマーカーに、ヒトとヒトに近縁な霊長類7種類の染色体解析を行い、細胞株の相互比較や個別識別に有用であることが示唆された（HS財団受託研究費）。

16. 培養細胞研究資源の標準化および培養研究資源情報の統合化に関する研究

培養細胞の情報として、各細胞株の樹立とその特性が記載されている文献情報を収集し、重要なキーワードを抽出しデータベースとした。業務管理データベースは、細胞の学術情報、培養情報、保存管理情報、さらに利用者情報、分譲記録情報などとし、書籍カタログ、電子カタログ、ネットワーク情報提供などに対応できるようにした（厚生科学研究費補助金事業）。

17. 培養細胞の大量育成維持時の品質管理に関する研究

培養細胞株の品質管理としては、微生物の混入、他の細胞株の混入あるいは入れ替え、および本来の特性の維持の証明などが重要となる。株細胞の識別と特性の解析技術の精度を高めるために、DNAプロファイリング法、核型分析法、FISH法、染色体ペインティング法を併用するシステムの確立を行った（厚生科学研究費補助金事業）。

## 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、現在中館正弘室長、會田喜崇主任研究官および鎌田栄一主任研究官の3名で構成されている。

本年度は昨年度に引き続き、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および毒性予測に関する研究を行っている。

海外出張としてはOECD関連で、中館正弘室長が第2回「SIDSイニシャルアセスメント会合」（平成6年7月、フランス）、「第22回環境委員会/化学品グループ合同会合および農薬フォーラム」（平成6年11月、フランス）、「IPSC/OECD合同優先化学物質設定会議」・「日米化学物質の有害性に関する構造活性相関検討会議」および「OECD第3回SIDSイニシャルアセスメント会合」（平成7年1～2月、いずれも米国）に出席した。また、會田喜崇主任研究官は平成7年2月13日から26日まで日米科学技術協力協定に基づき、米国立環境保健

科学研究所（NIEHS）、食品医薬品局（FDA）、環境保護庁（EPA）等に赴き、環境化学物質のリスク評価についてセミナーを行い、情報交換を行った。

化審法GLPの査察には、当室から4カ所、延べ4名が参加した。

### 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、生産量が多く、安全性情報が少な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、必要な毒性試験を日本が分担で行うこととなっている化合物について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。昨年度は12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、評価手法の研究に利用している。さらに、平成6年度は、計画の3年目として行った12物質に関する毒性試験データを基に評価作業を行っている。また、4年目として分担する16物質についても既存の情報を検索、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。なお、当初は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になっていたが、4年目以降もUNCEDの決議に基づき年間約50物質程度の安全性点検が続けられることが決定されている。

また、OECDでの情報交換として行っているEXICHEMデータベースに、わが国が行っている化学物質の国内点検状況のデータを入力し、OECDに提出した。

一方、化審法による新規化学物質の評価においては、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107物質、高分子化合物72物質、良分解性物質43物質の計218物質について審査を実施し、その内35物質が指定化学物質に指定された。

### 研究業績

1. 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

当室は、これまでにリスクアセスメントおよび毒性予測に必要となる3種類のデータベースを構築し、これらのデータベースを利用しつつ下記に述べる種々の研究を行っている。

#### 1) 化学物質安全性点検支援システム

本データベースシステムは、国の責任で点検を行うこととなっている既存化学物質やOECDの高生産量化学物質の点検作業および新規化学物質の審査業務によって生じるデータの管理、利用の目的で、総合評価研究室と安全性生物試験研究センター各部の連携で開発したものである。本システムは昨年度末で一応完成したが、本年度もさらに充実したものとするためデータ収集や帳票出力等について改良を加えた。現在までにOECD担当20品目、国内点検12品目について、急性毒性試験19件、28日間反復投与毒性試験12件、反復投与毒性/生殖毒性併合試験10件、簡易生殖毒性試験10件、変異原性試験3件のデータを入力し、安全性評価作業に利用している。

#### 2) 化審法データベース

本データベースは、化審法の新規化学物質の安全性評価に利用するために厚生省生活化学安全対策室と共同で開発したもので、過去に申請された評価結果等を含む多くのデータが検索が可能となっている。現在約706品目のデータを入力し、利用している。なお、本データベースは厚生省とオンラインで結合しており、両方でデータの入力、検索が可能システムとなっている。

#### 3) バイオロジカル・データベース

先に、文献等の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、本年度もシステムを一部改良し、DECネットを利用してNECのPC98端末からアクセスが可能となった。また、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。

#### 4) IUCLIDデータベース

本データベースは、ヨーロッパ連合(EU)が開発したデータベースであるが、日/米/EU化学物質安全対策協議の枠組みで、本年1月に当所のVAXシステムにインストールしたものである。次年度以降、本データベースの有効性を検証しつつ、毒性試験データの国際的な情報交換を積極的に行う予定である。

#### 2. 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化学物質による健康リスク評価法に関する研究の一環として以下の研究を実施した。本年度は、前記安全性点検支援システムおよび化審法データベースを利用し、28日間反復投与試験の一般状態結果のうちの流涎と投与物質の構造の間の構造相関について調査研究を行った(厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告)。

3. 食品に含まれる汚染物質の安全性評価に関する研究として、現在国際機関で実施されている安全性評価の方法を調査研究し、また、多段階モデル等数種の数学モデルを用いてアフラトキシンB1の発癌性のリスク評価を実施した(厚生省生活衛生局食品保健課に報告)。

#### 4. 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の開発に関する研究を行っている。本年度は、昨年に引き続き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を検討し、さらに小核試験など他の変異原性について、予測システム構築のためのデータ入力を行い、検討した。

## 大 阪 支 所

支所長 武 田 寧

昨年度来の国立衛生試験所組織再編成構想が、厚生省の国立試験研究機関の重点整備・再構築へと展開し、最終的に大阪支所が「国立厚生科学基盤技術開発研究所(仮称)」に変身するという最終案に落ち着く経過を不安と期待の入り交じった複雑な心境で見守りつつ、本年度も大阪支所の現在の役割である検定・検査、標準品製造の業務とこれらの業務に関連する研究を例年どおりに実施した。

検定・検査、標準品製造等の業務については、支所3試験部全体として、検定・検査については、医薬品の国家検定147件、医薬品の国家検査19件、食用タール色素製品検査635件、特別行政試験3件について実施し、標準品は医薬品試験用40品目(5,726本)を製造した。これらの検定検査、標準品製造業務とともに、特別研究1件、科学技術振興調整費1件、厚生科学研究費6件、食品等試験検査費4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、その成果は以下の支所各部の業務報告のとおりである。

研修指導としては、3試験部に大阪薬科大学学生(9名, 3ヶ月)、摂南大学薬学部学生(9名, 2週間)を受入れ、食品試験部にJICA研修生(農薬の利用と安全性コース8名, 輸出入食品検査技術コース6名)を受入れたほか、4名の研修指導を行った。

本年度は、大阪支所内の情報関連基盤整備を計るため支所研究委員会に情報小委員会を設け、その検討結果に基づき、大阪支所にLAN幹線を敷設した。更に、平成7年2月には、大阪支所LANが省際ネットワーク大阪ノードへの専用回線接続により、用賀本所NIHSnetに64Kbpsで直結され、大阪支所・用賀本所間の地理的距離は電子的に解消されるとともに、インターネットによる世界への窓も大きく開かれることとなった。

また、厚生省構想に基づく、民間機関による研究用細胞等の頒布を行うセルバンク事業の場を大阪支所が提供することとなり、部長室の移転を含む生物試験部の改装を行い、平成7年度中の事業開始に備えた。

なお、平成7年1月17日早朝の阪神淡路大震災による阪神大震災に西宮市在住の職員1名が被災したが、その外の職員および大阪支所の施設、設備にはほとんど被害はなかった。

なお、大阪支所庶務課の人事異動は次のとおりである。

- (6.7.1) 相場 正憲 庶務課長(厚生省薬務局麻薬課)  
 ( " ) 笠木直一郎 庶務課課長補佐, 庶務係長・業務係長併任(総務部庶務課)  
 ( " ) 武田 勳 総務部業務課長に配置替え(庶務課長)  
 ( " ) 金子 英夫 総務部業務課課長補佐, 同企画調査係長併任に配置替え(庶務課課長補佐, 庶務係長・業務係長併任)

## 薬品試験部

部長 岡田 敏史

### 概要

前年度に引き続き、医薬品の品質規格および試験法に関する研究、医薬品分析法への機器分析法の応用に関する研究、ヒアルロン酸など高分子物質の特性解析とその応用に関する研究、エマルションおよびリポソームなど微小分散系製剤の安定性および製剤機能評価に関する研究、たん白質性医薬品の分子修飾による安定化に関する研究を行った。HS財団の第3期官民共同プロジェクト研究事業の「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、また同財団の創薬科学総合研究事業の「製剤設計に関する研究」に一課題で参加し、それぞれに着実な進展がみられた。

ヒトインスリン製剤の国家検定は、平成6年10月より新たに1製剤、2品目が検定対象品目に指定された。検定品目の見直しの作業が遅れているため、前年度に比べ検定件数は大幅に増加した。新規標準品は、塩化ベルベリンなど3品目を新たに設定した。

岡田敏史部長は、製薬工業技術に関する国際シンポジウム(IPTS-94)に出席し、薬局方の国際調和における日本薬局方の役割について講演した(平成6年9月10~17日, トルコ)。小松裕明主任研究官は、第39回米国生物物理学会に出席し、エタノールによるリポソーム膜の透過性亢進とアルコール中毒症・依存症・耐性との関連性に関する研究発表を行った(平成7年2月12~21日, 米国)。

人事面では、平成7年3月1日付で谷本 剛室長の生物試験部との併任が解除され、当部専任の室長として勤務することとなった。

### 業務成績

1. 国家検定  
ヒトインスリン製剤が147件で、全品合格であった。
2. 国家検査  
ブドウ糖注射液が18件、リンゲル液が1件で、全品合格であった。
3. 一斉取締試験  
トリアゾラムを含有する内服固形製剤8件およびアルプロスタジルを含有する注射剤7件につき、定量試験および含量均一性試験を行った結果、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) 総合電解質液など輸液製剤6検体につき、浸透圧試験および不溶性微粒子試験を行った結果、全品規格に適合していた。

3) 日本公定書協会より配布される日本薬局方標準品4品目の品質評価試験を行った。

#### 5. 標準品製造

38品目につき、合計4,426個の標準品の製造を行った。また、新規標準品3品目を新たに設定した：塩化ベルベリン、グリチルリチン酸、ヒト成長ホルモン。

#### 6. その他

日本薬局方の改正(薬務局安全課)、日本薬局方外医薬品成分規格の作成(薬務局審査課)、ヒトインスリン製剤の国家検定基準の作成(監視指導課)等に協力した。

#### 研究業績

##### 1. 医薬品の分析化学的研究

i) 医薬品の規格および試験法作成に関する研究  
i-1) 熱分析法の応用に関する研究

日本薬局方一般試験法中に熱分析法を新たに採用するにあたり、乾燥減量試験 または水分測定法の代替法としての熱重量測定法だけでなく、純度試験への応用が可能であることを明らかにした。特に、個々の微小不純物は無視できる程度であるが、合計量としては無視できない場合、紫外領域に吸収のないような不純物の混在が予想される場合、トータル量としてこれらの不純物を定量的に検出する手段として優れている。

i-2) 日局一般試験法の改正に関する研究

日局一般試験法中、比重測定法を「密度および比重測定法」に改めるため、振動式密度測定法を追加するための改正案を作成した。また、浸透圧測定法を「浸透濃度測定法」に改めるための改正案を作成した。別に、「粉末X線回折測定法」の新規作成および水分測定法、粘度測定法の改正案の作成に関し、東西技術研究委員会と協力して行った。

ii) 標準品の品質規格の設定に関する研究

ii-1) 塩化ベルベリンおよびグリチルリチン酸標準品の候補品につき、生薬部を含む5機関にの共同実験による品質評価試験を行い、HPLC法による定量用の標準品を確立した。

ii-2) ヒト成長ホルモン標準品の新規設定のため、3種の候補品につきその化学的純度および熱安定性に関する比較試験を実施し、候補品を選定した。その化学的および生物学的品質評価により生物活性およびたん白質量を決定するため、共同実験を実施中である。

ii-3) そのほか、平成7年度中に新規設定を予定している下垂体性性腺刺激ホルモンおよびセンノシド標準品に関する調査研究を行った。

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有効利用に関する研究

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) 分子量約240万のヒアルロン酸水溶液に回転のずり応力を負荷するとき、回転時間の増加に伴い次第に粘度が低下し、約3時間で一定値となる。また、回転数20rpmまでは、その増加につれて、粘度変化の速度が大となる。このようなみかけの粘度の低下は、ずり応力に起因する分子鎖の切断によるものであることがGPC-LALLS法により確認された。

(2) 示差走査熱量測定(DSC)法により、ヒアルロン酸ゲル中の水の存在状態に関する観察を行った。この結果、不凍水量W<sub>nf</sub>に分子量依存性がみられ、W<sub>nf</sub>は分子量の増加に伴い、増加するという、プルランなど通常の糖類でみられない特異な傾向が観察された。また、質量当たりの不凍水量はプルランの約2倍であった。一方、低温結晶化水分量およびガラス転移点には分子量依存性は観察されなかった(HS受託研究費)。

ii) 凝固系に係わる医薬品の抗凝血活性評価法およびその標準化に関する研究

ヘパリンの抗凝血活性は、ウシ新鮮血の凝固時間に対する影響の度合いを標準品と比較して評価する方法が日局では採用されているが、発色性合成基質を用いる比色法に変更する方向で基礎的な検討を開始した。

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) エマルション製剤の長期保存法の一つとして凍結保存法が考えられるため、凍結-融解サイクル中での分散系の安定性に関する基礎的検討を行った。この結果、塩の添加により、凍結によるエマルションの凝集および合一が抑制されることを見いだした。この塩の添加は氷晶量を減少させると同時に氷晶の

隙間に凍結保護剤であるグリセリンを濃縮させることによることを低温 DSC 法により明らかにした (HS 受託研究費)。

(2) リポソーム製剤の長期保存法として凍結乾燥法を検討する目的で、グルコースとそのオリゴ糖の添加による凍結保護作用のメカニズムにつき、蛍光色素カルセインのリークを指標として検討した。その結果、復水時と乾燥時での脂質膜の相状態がともにゲル相である場合は漏出が抑制されるが、一方がゲル相で他方が液晶相である場合、復水時に膜の相分離が生じ、膜構造の不安定さから内封物のリークが増加する。一方、糖の添加により、リポソーム膜の相転移温度が低下し、乾燥時・復水時ともにゲル相となることが DSC 法により確認され、凍結乾燥に対する糖の保護作用の機構が明らかとなった (科学技術振興調整費)。

#### 4. 創薬基盤技術の開発に関する生物化学的研究

1) タンパク性医薬品の分子修飾による安定化に関する研究

プロウロキナーゼはポリエチレングリコール (PEG) 3 分子で修飾することにより化学的、生物学的安定性を獲得し、血中半減期の延長が可能になった。また、この修飾を調節する主要因子は pH であり、PEG 3 分子修飾体の調製は pH 5~6 が最適であることを明らかにした。更に、PEG 修飾タンパク質の品質はペプチドマッピング法で評価できることを示した (創薬科学総合研究費)。

2) 薬物療法の最適化を指向した病因鑑別診断用医薬品の開発に関する研究

糖尿病合併症の発症と生体内アルドース還元酵素量との相関を明らかにし、赤血球中アルドース還元酵素量の測定が糖尿病性神経障害の鑑別診断に応用できる可能性を示唆した (厚生科学研究費補助金、保健医療局疾病対策課)。

3) 代謝異常性疾患治療薬の開発支援のための酵素評価系の確立に関する研究

糖尿病合併症治療薬としてのアルドース還元酵素阻害剤の酵素阻害効果はアルドース還元酵素の起源によって異なることから、当該阻害剤の *in vitro* 有効性評価には遺伝子組換えで生産したヒト型アルドース還元酵素を使用すべきであると考えられた (厚生科学研究費補助金、保健医療局疾病対策課)。

## 食品試験部

部長 柴田 正

### 概要

将来の組織改編に伴い、食品関連分野は本所に集約されることが予定されている。当部では食品添加物および残留農薬等に関する従来の業務を全うしつつ、各員の将来への方向、新たな研究課題の取り組みについて模索している。人事面では平成7年3月31日付で技術補助員の梅本美佳が退職し、平成7年4月1日付で技術補助員として三島郁子が採用された。

### 業務成績

#### 1. 製品検査

食用タール色素 635 検体 (平成6年4月1日~平成7年3月31日) について検査を行った。不合格はなかった。

#### 2. 標準品製造

ローズベンガル (食用赤色 105 号) 1 品目、500 個を製造した (実績は平成7年度)。

#### 3. 研修について

農林水産省愛知食糧事務所、大阪食糧事務所の技官2名の1カ月 (平成6年7月1日~7月29日) 研修および徳島県畜肉検査所技官1名の1ヶ月 (平成6年10月3日~10月28日) 研修を行った。また国際協力事業団の農薬の利用と安全性コース (平成6年7月4日~7月8日) 8名および輸出入食品検査技術コース (平成6年10月24日~10月28日) 6名の研修を行った。その他大阪薬科大学研究生3名の3カ月の研修および摂南大学薬学部研究生3名の2週間の研修を行った。

### 研究業績

#### 1. 食品添加物の規格基準の設定に関する研究

##### ① 食用タール色素・製剤試験法の改良

食用タール色素中のヒ素試験法を検討した。ヒ素試験法にはグートツァイト A 法が用いられているが、臭化水銀紙が用いられ、クリーンアナリシスの観点から改良が望ましく、また感度が低く、試料の灰化操作に熟達を要することから、水素化 ICP-AES 法を開発した。試料を水に溶解し、水素で還元しつつ ICP を用いて測定する方法で、高感度であり、試験者間の差のない方法である (食品等試験検査費、生活衛生局食品化学課)。

## ② 食品中の亜硝酸分析法の改良

亜硝酸の発色反応時の塩酸濃度を高くして呈色時の安定性を増し、感度を高くした。

また食品から亜硝酸塩の抽出操作中、硫酸亜鉛を用いてたんぱく質除去を行うとき、pHの変動が大きく、pHが低くなると亜硝酸塩はたんぱく質に結合して沈殿除去され、回収率低下の傾向がある。酢酸亜鉛液を用い、食品自身の緩衝作用を利用してpHを9付近に安定させ、魚卵、チーズ等のたんぱく食品に適用することが可能となった（食品添加物規格基準設定費，生活衛生局食品化学課）。

## 2. 残留農薬の分析等に関する研究

### ① 食品中残留農薬の簡易分析法開発に関する研究

10種ピレスロイド系農薬（シハロトリン、シフルトリン、シベルメトリン、デルタメトリン、トラロメトリン、フェンバレレート、フルシトリネート、フルバリネート、ベルメトリン、ピレトリン）の簡易分析法を作成した。

10種農産物をアセトンで抽出し、10%食塩水を加え、20%酢酸エチル/n-ヘキサンで再抽出した。野菜、果実はこれを試料液とし、穀類、豆類は更にエキストレートおよびSep-pak C18を用いて脱脂したものを試料液とした。試料液はシリカゲルおよびフロリジルミニカラムでクリーンアップし、DB-1またはDB-5カラムを用いてECD-GCで定量した。各農薬0.2 ppm（ピレトリンは0.4 ppm）添加時の回収率は41.3~139%，検出限界は0.01~0.15 ppmであった（食品等試験検査費，生活衛生局食品化学課）。

### ② 残留農薬基準告示分析法に関する研究

含窒素5種農薬（ジメピペレート，テニククロル，トリシクラゾール，プロベナゾール，プロモブチド）の告示分析法を作成した。

厚生省の告示法である10種含窒素農薬の一斉分析法を改良し、上記5種農薬を含む多成分分析法を作成したが、トリシクラゾールはフロリジルカラムによる精製過程で他と異なる挙動を示すため、別個の分析法を設定した。

試料からアセトンで抽出し、酢酸エチルに転溶、脱脂後フロリジルカラムで精製し、試料液をFTD-GCを用いて定量した。その結果だいこんその他10種の農作物への添加回収率（0.1 ppm 添加）は65.9~103.4%，検出限界は0.005~0.05 ppmであった。一方米中のトリシクラゾールは同様に抽出し、

Sep-pak plus silicaによる精製を行い、FTD-GCを用いて定量した。その結果添加回収率（0.1 ppm 添加）は81.3±10.6%，検出限界は0.02 ppmであった（食品等試験検査費，生活衛生局食品化学課）。

### ③ 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

13種ピレスロイド系農薬およびそれらの共通した分解物である3-フェノキシ安息香酸（PBA）を系統的に分析する方法を開発した。残留農薬および分解物を茶葉から抽出後、PBAはエステル化し、フロリジルカラムで精製した。エトフェンプロックスはGC/MSのSIMモードで、他のピレスロイドとPBAエステルはECD-GCで定量した。添加回収率はピレスロイド系農薬が80~101%（0.5~1.0 ppm 添加）、PBAが73~76%（0.05 ppm 添加）であった。検出限界はピレスロイド系農薬が0.005~0.1 ppm、PBAが0.005 ppmであった（食品等試験検査費，生活衛生局食品化学課）。

### ④ 新開発食品素材健康影響評価研究，スクワレンの生体影響に関する研究

スクワレン0.86 g/mlをラットに0.01, 0.05, 0.1 ml ずつ25日間連続経口投与したところ、血清総コレステロール、HDL-コレステロールおよびリン脂質は減少傾向にあり、血清トリグリセライド、肝臓総コレステロール量は増加傾向にあった。糞中への中性ステロイド（コレステロール，コプロスタノール，コプロスタノン）排泄量は0.1 ml 投与時に顕著に増加した。

胆汁酸排泄量はスクワレン投与量に応じて増加し、CDCA 系胆汁酸（ $\beta$ MCA,  $\alpha$ MCA,  $\omega$ MCA），CA 系胆汁酸（DCA, 12KLCA）は増加傾向にあった。これらの傾向は実験開始後1週目よりも3週目の方が顕著であった。3週目では、0.05および0.1 ml 投与群で胆汁酸総排泄量は有意に増加し、特に0.1 ml 投与群ではHDCA, LCAの排泄量は有意に増加した。大腸がんのプロモーターである2次胆汁酸（DCA, LCA）および関連胆汁酸の糞中排泄量を指標としたスクワレンの最大安全摂取量は28.7  $\mu$ g/kgと考えられた。またスクワレン0.1 mlをラットに1回経口投与したところ、血清および肝臓中のスクワレン濃度は投与後4~6時間で最高となり、以後正常値に復した。投与されたスクワレンは約60%が吸収され、その1部は速やかに胆汁酸に代謝され、1~2日で糞中に排泄された（厚生科学研究費補助金，生活衛生局食品保健課）。



### 3. 輸入食品検査に関する研究

#### ① 輸入農産物の分析, 試験法等に関する研究

米中の残留農薬のイオントラップGC/MSによる一斉分析法の開発, 各種輸入食品中残留農薬のGC, GC/MSによる多成分系統分析法の開発, 食品中のポリソルベートのHPLC分析法の開発, 検査法の評価法に関する調査研究ならびに諸外国における食品輸出入検査および認証制度についての調査研究の5課題について参加9機関の協同研究を行った。その結果輸入主要農産物中の残留農薬の系統的多成分分析法を確立した。更に指定外食品添加物ポリソルベートの試験法を確立した。また, 検査法の評価法を確立するとともに, FAO/WHO合同食品企画委員会の食品輸出入検査および認証制度を調査し, 食品安全性確保における国際協力について研究した(厚生科学研究費補助金, 生活衛生局食品保健課)。

#### 4. 希土類元素の生体影響に関する研究

##### ① 希土類元素の生体内作用の評価法に関する研究

7種希土類元素(REE), Y, 軽希土類(Ce, Pr), 中希土類(Eu, Dy), 重希土類(Yb, Lu)をラットに2段階用量(60および120  $\mu\text{mol/kg}$ )で静脈内投与し, 投与後1日目の各臓器におけるREEおよび9種ミネラル(Ca, Mg, Fe, P, Zn, Cu, Mn, Na, K)濃度を測定した。

いずれのREE投与時にも78%以上が肝臓, 骨, 脾臓に分布した。Yおよび中希土類は高用量投与時に脾臓および肺臓中のREE分布率が数倍に増加した。EE投与により肝臓, 脾臓, 肺臓, 腎臓中のCaおよび血清P濃度が増加した。特に肝臓, 脾臓, 肺臓中のREE濃度に比例したCa濃度の増加はYおよび中希土類でのみ顕著であった。軽希土類投与により脂肪肝の形成が認められた。軽および重希土類投与時には肝臓, 肺臓, 腎臓中のCu濃度の増加傾向があった。高用量のYおよび中希土類投与時には脾臓中のNaが増加し, Kが増加する傾向があった。

以上のことよりREEの生体内作用は①軽希土類, ②Yおよび中希土類, ③重希土類により異なることが推察された。

## 生物試験部

部長 小川 義之

### 概要

研究業務として平成4年度より開始されたヒューマンサイエンス振興財団による第3期官民共同プロジェクト研究(1件), 「創薬科学総合研究事業」(2件), 「創薬科学総合研究推進事業(国際共同研究)」(1件)のほか厚生省特別研究(新規1件)などを中心に取り組んだ。ヒューマンサイエンス振興財団による細胞, 遺伝子等の研究資源バンク(HSRRB)事業を平成7年度から大阪支所(生物試験部の一画を貸与して)で開始することになり, そのための改修工事が平成6年10月中旬~平成7年2月末にかけて行われて環境の大きな変化があった。

短期海外出張は小川義之部長が国際協力事業団による中国天津医薬品検査技術プロジェクト計画打合せ調査団(団長:内山 充所長)の調査団員として, 平成6年8月23日~8月30日に北京市および天津市へ出張した。村井敏美第一室長は, 「創薬科学総合研究推進事業国際共同研究」に係わる専門家としてヒューマンサイエンス振興財団より, アメリカ合衆国へ平成7年2月5日~2月12日まで派遣された。

海外からの招へい研究者としてATCCのDr. Robert J. Hayがヒューマンサイエンス振興財団基礎研究支援事業により平成7年3月5日~3月11日まで来日し, ヒューマンサイエンス振興財団および醸酵研究所で細胞バンク運営に関する講演などを行った。

人事面では, 平成7年4月1日付けで原園 景技官が新規採用されて第二室に配属された。平成7年3月31日付けで第二室の黒坂麗子非常勤職員が退職し, 平成7年4月1日付けで第一室に宮脇英美子が非常勤職員として採用された。

### 業務成績

国家検定としてヒトインスリン製剤147件(生物試験, 無菌試験), 国家検査としてブドウ糖注射液18件(発熱性物質試験, 無菌試験)およびリンゲル液1件(生物試験, 無菌試験), 特別行政試験として輸液製剤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1200個, 胎盤

性腺刺激ホルモン 100 個をそれぞれ製造した。なお、胎盤性腺刺激ホルモンは企業 3 社の協力を得てロット更新を行った。

日本薬局方の改正（薬務局安全課）、特にエンドトキシン試験法の日局 13 改正案および国際調和案作成協力のほか生化学試薬等の JIS 規格案の作成協力をした。

## 研究業績

### 1. 発熱性物質に関する研究

超音波照射によるエンドトキシン活性の変化をリムルス活性とマクロファージ (Mφ) に対する腫瘍壊死因子 (TNF) 産生誘導について比較検討した。9 種のエンドトキシン溶液に 3 分間超音波照射を施すと、リムルス活性は各種のエンドトキシンの平均で 7.6 倍上昇し、一方、TNF 産生誘導活性の上昇は著しく、70 倍から 2000 倍、平均で約 600 倍もの上昇が認められた。これらの結果は、エンドトキシンの構造活性相関において、また Mφ への作用機構を追求する上で興味深い知見と考えられた。

Limulus 試験法に関する研究では、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昨年度に引き続き参加し、エンドトキシン試験用水の品質規格に関する研究と希釈度の少ない低含量エンドトキシン標準品試作品の評価を引き続き行った。その他、日本透析医学会の依頼を受けて透析用水の安全性評価法、特に、Limulus 試験法による評価法についての調査研究を行った。

### 2. 医薬品等の有効性、安全性に関する研究

1) ラットにおける di-n-butyl phthalate (DBP) と butyl benzyl phthalate (BBP) の発生毒性の類似性はこれらによる発生毒性が同じ機作で発現すること、すなわち DBP および BBP の共通の代謝物を介して発現することが示唆された。

2) 防霉剤として農業分野、また加硫促進剤としてゴム工業分野で使用されている zinc dimethyldithiocarbamate (Ziram) の発生毒性についてラットを用いて検討し、Ziram は 0.025% 以上の投与量で母体毒性を示すが、Ziram による次世代の出生前発育に対する害作用および催奇形作用は認められなかった。

3) 船底用塗料の防染剤や殺虫剤として使われるトリブチルスズは、ラットにおいて催奇形作用を有し、また発生毒性発現には投与時期特異性があることが示唆された。

### 3. 安全性評価のための迅速かつ鋭敏な毒性指標

の確立に関する研究—ラット脱落膜反応を用いた発生毒性に関する組織器官レベルでの検出システムの開発 (分担研究)—

可塑剤 butyl benzyl phthalate (BBP) をラットの妊娠初期に与えたときに惹起される胚致死作用の機序について検討し、BBP による妊娠初期における着床後の胚致死作用は母体血中プロゲステロンの低下、すなわち卵巣における黄体の機能障害に起因することが示唆された (厚生省特別研究：新規)。

4. 新医薬品・医用材料の評価技術の開発と応用—サイトカイン誘導活性を指標とする医用材料および医療用具の安全性、生体適合性の評価系の確立を目指し、医療用具抽出液の培養マクロファージ (Mφ) に対するサイトカイン誘導活性を検討した。また同時に、それらのリムルス活性についても検討を加えた。その結果、Mφ を用いる試験系はエンドトキシンだけでなくサイトカイン産生誘導物質を広く検出できるバイオアッセイ系になり得る可能性が示された (ヒューマンサイエンス振興財団：受託研究費)。

5. 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 (自己免疫疾患における熱ショック蛋白質の病因的意義に関する基礎的検討)

自己免疫疾患モデル動物における熱ショック蛋白質 (HSP) の病因的意義を追求した。その方法として、HSP 誘導阻害剤であるバナデートをアジュバント関節炎ラットおよび NOD マウス (I 型糖尿病モデル) に投与し、その発症あるいは病態がどのように修飾されるかを検討した。その結果、自己免疫反応のトリガーとなる自己抗原は構成的に発現する HSP 60 か、もしくは HSP 以外の物質であること、またトリガーが惹起する炎症反応によって誘導される HSP60 は二次的な自己抗原として病態の増悪に関与すること、更に HSP60 以外の HSP は細胞防衛的に働くことによって炎症反応の進展を抑制すること、が示唆された (ヒューマンサイエンス振興財団：創薬科学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)。

6. 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

疾患モデル動物として使用されている 6 系統のミュータントマウスを用いて、体外受精によって凍結に供する胚の作成を行うとともに、凍結保存胚の融解後の生存性と移植による産児への育成を検討した。

その結果、いずれの系統とも体外受精により、効率的に2細胞期胚を得ることができた。また、凍結融解胚の生存性は75%以上で、これらは移植によって35%以上が正常な産児に育った。

ICR マウスでは、42.5℃の高温暴露により有意に高い胎児奇形発現頻度がみられ、高温暴露はマウスにおいて胎児奇形、特に中枢神経系の奇形を惹起させるのに有用な手段になりうることを示された。糖尿病の自然発症モデルであるNODマウスにおいては、対照条件として設定した38℃で12.5分間の暴露でも高い奇形発症が観察され、自然発症奇形発症率が対照のICRマウスに比べて高いことが示された(ヒューマンサイエンス振興財団:創薬科学総合研究推進事業、三菱化学生命科学研究所と共同研究)。

#### 7. 中枢神経系幹細胞樹立細胞系の開発

C6 グリオマー細胞は、通常無血清添加培地で継代培養されるが、無血清かつ成長因子を含まない培地での継代に成功した。この系においてC6細胞に対して増殖性に機能する因子として、継代時に培地中に移行する低濃度のトリプシンであることと、この作用はトリプシンのプロテアーゼ活性に依存するものであることが明らかになった(ヒューマンサイエンス振興財団:創薬科学総合研究推進事業、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

平成6年(1994年)は当試験場の創立30周年にあたり、7月1日に創立30周年記念式典を挙行、地元および全国から関係者の出席を得、成功裡に終了することができた。また、これを機に30周年記念誌を編集、発行した。

施設面では重油タンクの更新をはかり、平成7年2月に着工し、同3月に完了、引渡しとなった。

人事面では、栽培管理室長飯田修技官が昇任し、伊豆薬用植物栽培試験場長として転任し、後任に熊谷健夫技官が着任した。

研究業務としては、例年どおり、厚生省厚生科学課の委託である薬用植物栽培・品質評価指針に関する栽培試験を行い、「ホソバオケラ」の報告書を提出した。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」についても研究を実施した。なお、後者は今年度をもって終了とする。厚生省の研究補助事業「老人医療に用いられる生薬・漢方薬についての基礎研究」については、キバナオウギ・ナイモウオウギの栽培法、調製法別の試料の化学的品質評価を行い、報告書を提出した。

本年は全国的な高温・寡雨に見舞われ、北海道も同様な気候で作物は減収ないし矮化し、試験作物も広範囲にわたって影響を受けた。当地域には集中豪雨が2回あり、そのつど圃場が冠水し、一部試験の中止やむなきに到った。

海外出張は、畠山場長が平成6年6月5日から同6月18日まで中国青海省に赴き、主として西寧大黃および冬虫夏草の産地視察を行い、同8月22日から8月28日まで東洋資源植物学会の招待により韓国を訪問し、同学会学術セミナーにおいて講演を行った。

#### 業務成績

##### 1. 種子交換

|     |      |            |
|-----|------|------------|
| 採取  | 203種 | (筑波試験場へ送付) |
| 受入れ | 39件  | 166種       |
| 分譲  | 28件  | 35種        |

##### 2. 指導業務

ケシの講習会が平成6年7月27日に栽培地である下川町サンルで開催され、一般耕作者、関係機関に対し講習を行った。

#### 研究業務

##### 1. 生態系農業に基づくけし栽培法の確立に関する研究

前年と同じ有機物施用試験の第二年次に当たる。A:フミトップ、B:下川炭素、C:化成のみの3区を設けて比較したところ、収量構成要素の中、果数は3区間に差はなく、1果当りのアヘン重量は有意差のある程ではないが、A、B、Cの順に大きかった。有効歩合は3区とも1回目が100%、2回目90%で区間に差がなく、3回目はC区の47%がA、B区の40%より少し高かった。アヘン収量は3区ともほぼ同量であり、構成要素の相乗効果は見られなかった。

フミトップ施用区の光合成特性についても検討したが、光合成速度、蒸散速度および気孔コンダクタンスはいずれも上位葉が高く、下位葉は低い値を示した。光合成速度は午前10時頃に、蒸散速度はや

や遅れて正午すぎに最大に達した。

気孔コンダクタンスは早朝に大きく、時間の経過とともに低下する傾向を示した。

## 2. ミシマサイコの収量要因に関する研究

筑波系統および和歌山系統を供試し栽植密度の影響を調べた。両系統とも株数の増加とともに収量は直線的に増加し、両者の関係は一次関数を示した。系統間の収量比較では、筑波系統の方が高い推移を示した。

## 3. トリカブトの1年生栽培に関する研究

1年生栽培技術を開発する研究の第一段階として窒素肥料の効果を検討した。水谷系と伊達系2号を供試材料とし、窒素の施用量をI 5 kg, II 10 kg, III 15 kg, IV 20 kg/10 aの4水準とした。窒素施用量の増加に伴い生育不良株および欠株数の増加がみられ、水谷系でその傾向が強かった。収穫期における1年生株の子根数は水谷系では4.9 (I, II, III区)~6.1 (IV区)、伊達系2.0 (I区)~3.0 (IV区)を示し、子根重はそれぞれ15.7 g (III区)~22.1 g (II区)、7.1 g (I区)~11.4 g (IV)であった。

区間に有意差はなかったが、窒素施用量は生育に影響を及ぼすようである。

## 筑波薬用植物栽培試験場

場 長 西 孝三郎

### 概 要

平成7年3月31日付けで原田正雄庶務課長が退職、後任に本所の高田正義庶務課長補佐が就任した。

前年度に引き続き、科学技術振興調整費による「発生・分化機構解明のための実験系の開発」に参画した。ヒューマンサイエンス振興財団の受託研究では官民共同プロジェクト研究の一環として「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」、「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」を実施し、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及ぼす因子の解明」に関する研究を実施、それぞれ終了した。その他、厚生省麻薬課の委託研究「生態系農業に基づくケシ栽培法の確立に関する研究」を実施した。また、厚生科学研究費補助金により「薬用生物資源の保存および保護に関する研究」、「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」を実施し、さらに、本年度から新たに

「ケシ科マクランタ節植物の分類法に関する研究」、「毒物等誤嚥時の初期治療薬の開発研究」、5試験場の共同研究による「薬用植物種子の長期保存方法等に関する研究」を開始した。

施設整備関係では、無菌室の空調設備の改修工事を行った。

平成6年11月1日付けで、佐々木和生研究員が「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」を行うため流動研究員として採用された。また、海外研究員として、日本女子大学理学部の駒嶺穆教授からの依頼により、韓国全南大学からDr. Jun Cheul Ahnが平成6年9月1日より平成7年8月31日まで、また科学技術庁フェローとしてシンガポールのSingapore Polytechnic (Chemical Process & Biotechnology Department) からWendy Soo Ching Shu 女史が平成7年2月7日から平成8年2月6日までの予定で研修中である。以上の他、協力研究員として韓国慶北大学のDr. Sang Chul Leeが平成6年12月1日から平成7年2月28日まで、韓国全南大学のHwang Baik教授が平成7年1月5日から同年2月4日まで当場にて研究を行った。また、国際協力事業団からの依頼により、ブラジル・アマゾン農業研究協力計画カウンターパートに係わる研修の一環として、ブラジル農牧研究公社湿潤熱帯研究センターのDr. Edson Jose Artiaga de Santiagoが平成6年11月8日から同年11月18日まで研修を行った。

平成7年3月2日、本所の会議室において、内山所長、寺尾副所長、佐竹生薬部長、福永総務部長および総務部各課長出席のもとに、平成6年度薬用植物栽培試験場業務打ち合わせ会議を開催し、報告および連絡事項の他、厚生省研究機関の組織再編についての説明があった。翌3日は、場所を筑波試験場に移し、平成6年度試験研究業務報告および平成7年度試験研究計画等について討議を行った。

平成6年7月19日、昨年に引き続き「第4回薬用植物栽培技術フォーラム」を開催した。飯田滋東京理科大学教授、海老塚豊東京大学助教授および韓国農村振興庁作物試験場の李承宅薬用作物科長を招き、特別講演を行ったほか、当所の5試験場の研究報告、富山県のシャクヤクの栽培、熊本県菊鹿町のミシマサイコの産地化についての発表があった。全国から約170名の参加者があり、盛況のうちに無事終了した。

平成6年9月13日、日本生薬学会第41回年會に

において下村室長が日本生薬学会学術奨励賞「薬用植物の形質転換根(毛状根)による有用物質の生産制御」を受賞した。

海外出張は、柴田室長が平成6年6月5日から同年6月18日まで中国青海省果洛藏族自治州に出張し、漢方薬材の産地視察と加工場での技術交流、特に西寧大黃と冬虫夏草について現地調査を行った。また、吉松研究員は平成6年9月21日から同年10月29日までブリュッセル自由大学国際交流事業による博士研究員としてベルギーに出張し、ブリュッセル自由大学において共同研究を行った。さらに、酒井研究員は平成7年1月19日から同年1月28日まで交流協会の専門家派遣要請により台湾に出張し、行政院衛生署薬物食品検査局において薬用植物の栽培方法、採集時期および調製方法とその生薬の品質に関する講義を行った。

#### 業務成績

|            |              |    |        |
|------------|--------------|----|--------|
| 種子保管数(貯蔵庫) | 274種類        | 延べ | 1399缶  |
| 交換用種子保管数   | 983種類/1995年分 |    |        |
|            | 948種類/1994年分 |    |        |
| 入手種子数      | 28件          | 延べ | 142種類  |
| 分譲種子数      | 191件         | 延べ | 4413種類 |
| 種子目録配布数    | 68カ国         | 延べ | 412機関  |

#### 研究業績

##### 1. 薬用植物の栽培に関する研究

1) 環境制御下におけるゲンノショウコの生育特性について

北海道(白花)、茨城県(白花)、徳島県(赤花)の野生種由来の種子を供試し、生育過程における特徴を見いだすため環境制御下(ファイトトロンでの鉢栽培、環境制御棟での水耕栽培)での栽培および圃場栽培試験を実施した。

水耕栽培における生育は旺盛で、栽培5ヶ月目での葉の収量は鉢栽培に比較して5~10倍であった。北海道産株では根出葉が目立ち、茨城産株は花芽形成が他産地株より早く認められ、徳島産株では茎が伸長し次々に葉が展開し、産地により異なった生育特性が観察された。葉におけるタンニン含量は、圃場栽培株で最も高く、鉢栽培、水耕栽培の順であった。また、各部位別のタンニン含量は、葉と花器(つばみ、花)で高く、花卉においては1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- $\beta$ -D-glucose含量が高かった。

2) スボイシアの優良系統の挿し木苗におけるトロパナルカロイドの経時変化

筑波試験場で育成した *Duboisia* hybrid M-II-8-

14およびM-II-8-6 (*D. myoporoides*と*D. leichhardtii*の自然交配系統)を供試し、挿し木繁殖試験、tropane alkaloid含量の部位別経時変化について試験を行った。

アルカロイド高含量株M-II-8-14は、先端部を材料としてインドール酪酸(商品名:オキシベロン)を使用することにより、効率的な挿し木繁殖が可能であった。発根は4週目に、新葉の展開は6週目から認められ、挿し木後1年以内の株は、當場屋外での越冬は困難であったが、1年以上経過した株の中には、越冬する株も認められた。また、親植物の葉は安定して高いhyoscyamine含量を示すのに対し、挿し木苗の葉はアルカロイド含量およびその組成が大きく変化した。

さらに、新出葉は、既存葉(親株由来の葉)および親植物の葉に比べてscopolamine含量が高く、根の生育が盛んとなる8週間後と温室での開花直前の22週間後にhyoscyamineおよびscopolamine含量の増加が認められた。

##### 2. 薬用植物の組織培養に関する研究

###### Riプラスミドによる形質転換細胞の研究

種々のRiプラスミドによりベラドンナ(*Atropa belladonna*)の形質転換根(毛状根)を作出し、その特性を調べるとともに、得られた形質転換植物体にさらに異なる菌を感染させ、同様の試験を実施した。共存培養法により、種々のT-DNAが組み込まれた毛状根(15834株, MAFF03-01724株, 15834株とMAFF03-01724株)が得られ、形質転換を確認した。MAFF03-01724株で得られた毛状根からは、植物ホルモン無添加培地においても自然にシュートが分化した。それぞれの毛状根(MAFF03-01724株, 15834株)から得られた再生植物個体は、非形質転換個体とはかなり形態が異なっていた。毛状根の生育は15834株から得られた毛状根よりMAFF03-01724株から得られた毛状根の方が良好であったが、アルカロイド含量は15834株から得られた毛状根の方が良好であった。また、15834株とMAFF03-01724株の2つの菌を感染させて得られた毛状根はそれぞれ単独に感染させて得られた毛状根の中間の値を示した。さらに、毛状根中の内在性植物ホルモン濃度をELISAにより測定した結果、2つの菌を感染させて得られた毛状根にはIAAが検出されなかった。

## 伊豆薬用植物栽培試験場

場 長 飯 田 修  
前場長事務取扱 寺 尾 允 男

## 概 要

平成6年7月1日付けで山田和也技官が和歌山薬用植物栽培試験場へ転任、後任に筑波薬用植物栽培試験場から関根勉技官が就任、平成7年3月31日付けで渡辺宏之技官が定年退職、平成7年4月1日付けで熊谷健夫主任研究官が北海道薬用植物栽培試験場栽培管理室長として転任、同試験場から飯田修栽培管理室長が場長として就任した。作業長には関根勉技官が発令された。

研究面では、例年どおり、厚生省研究開発振興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試験を行い、「サフラン」の報告書を提出した。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」およびミヤマサイコの共同栽培試験等を行った。

施設面では、培養室 (32.78 m<sup>2</sup>) の増築工事を行った。

## 業務成績

## 1. 種子交換

採 種 189種 (筑波試験場へ送付)

内 訳 野生植物 81種

標本植物 74種

温室植物 34種

受 入 7件 35種

分 譲 7件 15種

## 2. 薬用植物の自生地調査

例年どおり、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

深耕による有機質肥料の施用効果について検討した。試験区はI. 自家製堆肥 300 kg/a, II. 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) 75 kg/a, III. 同 150 kg/a, IV. 同 300 kg/a の4区を設け、トレンチャーを用いて約60 cmに深耕する際、上記の有機質肥料を混和した。施肥・深耕後、播種前の土壌 pH および腐植含量は自家製堆肥区が最も低く、土壌改良資材区では施用量の増

加に伴い高くなった。収穫期における草丈、茎の太さおよびさく果の大きさは土壌改良資材区内では施用量が多くなるほど大となる傾向が見られ、自家製堆肥区は土壌改良資材 150 kg/a 施用区とほぼ同程度であった。1 a 当りの各試験区のアヘン収量は 93.2~117.0 g で、例年に比べて減少したが、自家製堆肥区に比べて土壌改良資材区で高く、更に施用量が多いほど高かった。

## 2. ゲンノショウコの栽培研究

## 1) 系統比較試験

伊豆および筑波試験場保存系統を用い、1993年11月22日播種、1994年4月11日定植、8月29日~9月1日に20個体について調査を行った。筑波系統は伊豆系統に比べて、草丈、茎長、第一次分枝数ともに大きかったが、茎数、最大葉長、最大葉身長、最大葉身幅には系統間に大きな違いはなかった。1株当りの部位別風乾重は葉重では伊豆系統がやや大きかったが、茎重は筑波系統で大きく、伊豆系統の1.4倍であった。1 a 当りの茎葉重は筑波系統が 93.1 kg で、伊豆系統の 78.6 kg に比べやや大きかったが、葉重/茎葉重率は筑波系統が 35.0%、伊豆系統が 45.5% で、葉重は伊豆系統が大であった。

## 2) 施肥量試験

伊豆試験場保存系統を用い、1992年11月25日播種、1993年4月14日定植、1994年7月25日~8月1日に20個体について調査を行った。試験区は2年生春(1994年4月11日)の追肥量を変えた次の3区を設けた。I. 化成肥料 (15-15-15) 13.3 kg/a, II. 同 26.7 kg/a, III. 同 53.3 kg/a。収穫時の地上部諸形質では草丈、茎長、第一次分枝数、最大葉長ともにI区に比べII, III区で大きく、1株風乾重についても葉重、茎重ともにI区に比べ、II, III区で大きかった。2年生1 a 当り収量は葉重 33.0~51.9 kg、茎重 66.8~116.1 kg で、施肥量が増加するほど多かった。10 a 当り基準施肥量 (N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O) は前年度の結果から1年生では基肥、12月追肥それぞれ各4 kg、2 kg、2年生で各6~8 kg 程度と考えられた。

## 3. クコの施肥量試験に関する研究

クコ栽培における適正な施肥量について検討した。供試系統は *Licium chinense* Mill.: 国内在来種、青陽 (韓国)、珍富 (韓国)、儒城 (韓国)、永越 (韓国)、*Lycium barbarum* L.: 新疆・精河県 (中国) を用い、1992年11月16日に定植した。定植時の基肥は堆肥 1000 kg/a、追肥は1年目1993年4月

14日、2年目1994年5月2日に行い、果実の収穫は1994年8月～12月にかけて8回行った。試験区はI. 無施肥区、II. 半量区、III. 標準区、IV. 倍量区の4区を設けた。施肥量は1年目、1株当たり粒状化成肥料(10-10-10)をそれぞれ5, 10, 20gを株元に施用し、2年目はそれぞれ倍量とした。各系統の生育は系統間で差が見られ、草丈は儒城、永越系統が高く、青陽系統で低かった。一次分枝数は在来系統で多く、中国系統で少なかった。1株当りの果実風乾重は在来系統、儒城系統が大きく、珍富、青陽系統は10g以下で、中国系統は僅かであった。各系統の果実収穫量は10月以降多くなるが、在来系統は他の系統に比べて12月の収穫量が多かった。無施肥区に比べて永越系統の標準、倍量区、珍富系統の標準、倍量区および儒城系統の標準、倍量区で収穫量が多かったが、他の系統では施肥量の効果は明確に見られなかった。

#### 4. ミシマサイコの収量要因に関する研究

栽植密度と収量の関係および成長過程を検討した。筑波および和歌山系統を用い、1994年4月1日播種、10月24日および1995年1月23日に個体調査、1月25日に収量調査を行った。施肥は10a当り基肥として油粕100kg、鶏糞100kg、化成肥料(15-15-15)20kg、追肥は1回目7月26日、2回目9月8日に化成肥料(15-15-15)をそれぞれ20kg施用した。10月収穫時では草丈、莖長、分枝数の地上部諸形質は系統間に差はなかったが、根頭部径、根乾重は筑波系統で大きかった。1月収穫時の各形質についても系統間の差は小さかったが、根頭部径、根乾重は筑波系統で大きかった。10月と1月の収穫時ともに根頭部径、根乾重が筑波系統で大きかったのは、筑波系統の株間が和歌山系統に比べてやや広かったためと考えられた。1m<sup>2</sup>当りの根収量は筑波系統40.0g、和歌山系統25.9gで、筑波系統で大きかった。収穫本数と根収量の相関係数は筑波系統で $r=0.954$ 、和歌山系統で $r=0.577$ で、収穫本数が増加すると根収量が大きくなる傾向があった。

### 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きたが、昨年3

月に圃場作業員1名が停年退職したため残り1名となり、研究業務、圃場管理から宿日直業務まで2名でこなさなくてはならなくなった。7月1日、伊豆試験場より山田和也氏が配置換えとなり、温室の管理、圃場作業その他に力を発揮したが、本年3月には八田真義氏が退職し、圃場作業員は再び1名となり、春から秋まで雇い上げ職員2名をほぼ連日入れ、圃場管理にあたった。

今年度、野口は、富山医科薬科大学の非常勤講師として薬学概論の講義にあたり、また9月30日より10月9日まで韓国、水原市の韓国農業試験場へ出張し、韓国薬用作物学会第3回学術研究発表会にて、「薬用植物の調製加工法の生薬の品質に及ぼす影響」について特別講演を行った。

施設整備面では、玄関まわり、薬木園、標本園まわりを改装し芝生を敷き、敷石、バラアーチ、柵を設置し、また試作園の一部を改装し、展示標本植物の数を増やし、見学者の便をはかった。

#### 業務成績

##### 1. 種子交換

|    |       |
|----|-------|
| 採種 | 111   |
| 受入 | 1     |
| 分譲 | 6件12種 |

##### 2. 指導業務

野口は、和歌山県企画部地域振興課を中心とした、和歌山県日高郡に「紀の国薬草の里(仮称)」を設置するための整備構想委員会に参加し、最終報告書の作成を行った。

また、場の団体見学ならびに外部依頼計17回、参加者476名に薬草に関する講義、指導を行った。本年度の当場への薬草問い合わせ件数は年間22件で、その内訳は種苗依頼16、栽培法2、薬効(用法)2、調製加工法・分析法その他の情報2件であった。

更に、紀伊半島における薬用植物生産を推進させるため、実行委員会形式で第2回薬用植物の生産と流通に関する研究会(1995.4.14. 奈良県新庄町)を開催し、全国から参加者164名を迎えた。

プログラムは、大和=奈良県産薬用植物、当帰、芍薬、牡丹を中心に栽培法、品質評価法、臨床応用等に関する演題を取り上げ、交流会、見学ツアーをも組み入れた盛り沢山の内容で、参加者からの感想も上々で、当場からは、ミシマサイコ地上部を用いた新製品「サイコ餅」を発表、好評を博した。また、これとは別に当場では、ミシマサイコ地上部を薬草

染めに応用し、鮮やかな色彩のサイコ染めを完成させた。

また、1995.7.30には、見学に来訪した京都大学薬学部学生有志を対象に薬草生け花体験学習会を開催し、薬学教育、生薬学教育の新しいアプローチの方法を模索した。

#### 研究業績

##### 1. キハダの増殖法の検討

4/7に砂および鹿沼土にキハダ種子をは種、発芽を検討した結果、小形種子(100粒重0.50g)からは小形の、また大形種子(100粒重1.38g)から大形の芽が現れ、5/29段階での発芽率は大26%、小50%となった。また、挿し木試験においても高い発根率を示し、更に、4本の成木の梢部分で取り木を行ったところ、ほぼ完全に発根した。

##### 2. シャクヤクの調製法の品質に及ぼす影響の検討

薬用芍薬2系統を株分け4年目に掘り上げ、根頭を取り除き、根を大、中、小に区分けし、それぞれ長さ40cm程度の太さの等しい部分を取り、これを2分し、①片方の皮を金属ブラシを用いて剥き、②そのままあるいは皮剥き後、天日、温風乾燥する。③両方を皮剥き後、片方を沸騰水中に2分間浸し、温風乾燥する。という3つのグループに分け、HPLCを用いてペオニフロリン(p)、オキシペオニフロリン(OP)、アルビフロリン(A)、ガロイルペオニフロリン(GP)、ガロイルオキシペオニフロリン(GOP)の含量を測定した。その結果、P、GP含量は両乾燥法では大きな差は認められなかったが、その他の成分では含量は温風乾燥では天日乾燥に比べ半分以下に低下した。また、いずれの成分も皮剥き処理により含量は半分以下に低下し、また、湯通し処理により成分含量はかなり高くなる傾向が認められた。

##### 3. キキョウの乾燥法の品質に及ぼす影響

当試験場で栽培した1年生キキョウをそのままあるいは皮剥きし、天日、温風乾燥後、局方試験、サポニン含量の測定を行った。その結果、エキス含量は皮去り>皮付で、温風乾燥では天日乾燥に比べて10%以上高い値を示した。一方サポニン含量は、皮去りでは皮付の15%程度に低下し、また皮去りの場合、プラティコディンDは温風乾燥では天日乾燥より数倍高い値を示したが、プラティコディンC、Aは両乾燥法でそれほど大きな相違は認められなかった。

## 種子島薬用植物栽培試験場

場 長 香 月 茂 樹

#### 概 要

研究面では薬用植物栽培・品質評価指針作成に関する栽培試験を行い、「ウコン」の報告書を提出した。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」を実施した。

研修生の受け入れをし、宮崎県林業総合センターから若松茂樹技師が平成5年11月1日より1月31日まで在場し、薬用植物の種類・栽培法・用途等について指導した。

気象面では梅雨の現象がはっきりせず、期間が特定できていない。夏の中期～秋後期の降水量が少なく、場内の植物にも枯死・生育不良等の影響が生じた。台風の接近・通過は次のとおりであるが、被害は樹木・栽培植物の折損・一部倒伏等のみで軽微であった。

7月22日～28日 7号

瞬間最大風速 14 m/s・総降雨量 96.2 mm

8月12日～13日 14号

瞬間最大風速 39 m/s・総降雨量 233.5 mm

9月27日～28日 26号

瞬間最大風速 21 m/s・総降雨量 137.2 mm

#### 業務成績

##### 1. 種子交換

採種 251種 (筑波試験場へ送付)

内訳 野生種 153種

栽培種 98種 (露地 94種, 温室 4種)

受入 25件 79種

分譲 41件 172種

##### 2. 指導業務

見学者 112件 699名以上

問い合わせ件数は41件以上あり、内訳は種苗の入手法6、栽培法13、植物鑑定4、薬効・用法10、流通1、その他の情報19件であった。

#### 研究業績

1. ケシの生態系農業に基づく栽培法の確立に関する研究 (異系統の種子島における生育・収量について)

極暖地での栽培に適する系統の選択のため本試験を行った。

北海道(H系)、伊豆(I系)両試験場の1994年



産「一貫種」の種子を用い、12月23日に播種した。肥料条件を10アール当たり、基肥として化学肥料 (IB化成10-10-10) 46.8 kg, 鉬滓硅酸質肥料 (硅酸-アルカリ分-苦土: 30-40-5) 133.3 kg, 追肥として化学肥料 (同) 120.0 kgを4月8日に側条施肥した。

出芽から開花初日までH系は127日 (平均136.5日), I系では123日 (平均126.9日)であった。H系はI系と比較し生育のばらつきが大きかった。H系の葉は幅広く、やや開帳気味で粉白色がやや強く、最終葉数 $37.6 \pm 2.3$ 枚, 草丈 $140.1 \pm 7.7$  cmであった。I系では葉は幅やや狭く斜上し、最終葉数 $30.8 \pm 2.1$ 枚, 草丈 $133.1 \pm 6.2$  cmであった。

病虫害耐性はH系が劣った。

初回の有効果実数はH系569個/a, I系887個であり、アヘンの総収量はH系78.056 g/a, I系105.533 gであった。モルヒネ含有率はほとんど差がなかった。

## 2. 主要薬用植物 (種子島の野生薬用植物)

野生薬用植物を調査するにより栽培上での生態面の基礎資料とすること, 自生・分布の変遷が明確となること, また緊急な採集の備えとすることを目的として調査を行った。

他の地域同様、環境が大きく変化しており、生態系もその影響をまともに受け変化が目立っている。以下の内容が明確となった。環境破壊のため減少が見られる種、ならびに環境非適応種 (カギカズラ, コウホネ, ハマボウフウ, ヒシ, ヤマモモ, クチナシ, ヤマザクラ, タチバナ)。環境適応種として増加している種 (アカメガシワ, ネムノキ, クサギ類, カワラケツメイ, テリハノイバラ)。人工環境の荒

廃により増加している種 (コガマ, ヨシ, クズ)。導入したものが逸出し、繁殖している種 (ヒガンバナ, スイセン, ジュズダマ, クヌギ, クスノキ, クコ, ショウブ, オニグルミ, ユキノシタ, イタドリ, アオキ)。

種子島南限種 (クララ, コウホネ, サイハイラン) 屋久島南限種 (カギカズラ, ヒキオコシ, イチヤクソウ, カワラサイコ, アケビ, オオバウマノスズクサ, クヌギ, オニグルミ) 種子島・屋久島固有種 (ヤクシマアオイ)

## 3. 薬用生物資源の保存および保護に関する研究 (ボナベ島の薬用植物)

標記の内容を目的とし、その初期段階として過去の現地調査・文献調査により、現地環境下の薬用植物相を明確にした。

海洋島であるため、薬用に供される種そのものが少なく、また医療機関の充実・売薬等により生活から遠ざかるものが多く見られる。

嗜好料・食生活上利用する目的でキチンガーデンで栽培されている種 (カワカワ, ビンロウ, キンマ, キダチトウガラシ, トウガラシ, ウコン属植物, ダイジョ, サワーオレンジ, バンジロウ, パパイア, ベニノキ等)。換金作物として十分な管理のもとで規模もやや大きく栽培されている種 (コショウ, ココヤシ, マクリ, パパイア, キャッサバ等)。導入種であるが環境に適応し、野生化している種 (イランイラン, ハネセンナ, トウゴマ, デリス, タバコ, ナンヨウニガキ等)。過去に導入されたが、未確認の種 (トコン, アカキナノキ, コカノキ, ヤボランジ, ビャクダン, ヤラッパ等)。以上の種が顕著なものである。

## 平成6年度所外研究員等受け入れ名簿

平成7年3月31日

(客員研究員) 7名

| 氏 名     | 所 属                | 受 入 部   | 入 所     | 退 所     | 性別 | 備考 |
|---------|--------------------|---------|---------|---------|----|----|
| 岡 本 季 彦 | (助)結核予防会・八王子血液センター | 衛生微生物部  | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |
| 下 村 裕 子 | 東京薬科大学名誉教授         | 生 薬 部   | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 女  |    |
| 熊 田 秀 文 | 神奈川歯科大学            | 衛生微生物部  | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |
| 真 下 悟   | 東海大学教授             | 薬 品 部   | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |
| 大 島 輝 夫 | 化学品安全管理研究所         | 化学物質情報部 | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |
| 一 戸 正 勝 | 東京家政大学助教授          | 衛生微生物部  | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |
| 大 幡 久 之 | 昭和大学薬学部助教授         | 病 理 部   | 6. 6.17 | 7. 3.31 | 男  |    |

(協力研究員) 12名

| 氏 名         | 所 属               | 受 入 部   | 入 所     | 退 所     | 性別 | 備考 |
|-------------|-------------------|---------|---------|---------|----|----|
| 大 西 清 方     | (助)ヒューマンサイエンス振興財団 | 変異遺伝部   | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |
| 吉 村 博 之     | 昭和大学薬学部           | 病 理 部   | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |
| F. J. Diana | サンマルコス大学          | 生 薬 部   | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 女  |    |
| 岩 田 秀 永     | 東京医科大学            | 代謝生化学部  | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |
| 顔 妮         | 国家医薬管理局           | 生 薬 部   | 6. 4. 1 | 6. 4.30 | 女  |    |
| 劉 一 鳴       | 中国湖南大学講師          | 環境衛生化学部 | 6. 9. 7 | 6.11.20 | 男  |    |
| S. Satarug  | コーンケーン大学助教授       | 毒 性 部   | 6.11. 1 | 7. 1.27 | 女  |    |
| 西 尾 俊 幸     | 日本大学農獣医学部講師       | 有機化学部   | 6.12. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |
| 金 亨 津       | 韓国化学研究所安全性研究センター  | 毒 性 部   | 7. 1.20 | 7. 3.31 | 男  |    |
| 李 相 哲       | 慶北大学校副教授          | 筑波試験場   | 6.12. 1 | 7. 2.28 | 男  |    |
| Baik Hwang  | 全南大学校教授           | 筑波試験場   | 7. 1. 5 | 7. 2. 4 | 男  |    |
| 安 相 得       | 江原大学校副教授          | 北海道試験場  | 6. 9. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |

(流動研究員) 18名

| 氏 名              | 所 属               | 受 入 部  | 入 所     | 退 所     | 性別 | 備考 |
|------------------|-------------------|--------|---------|---------|----|----|
| 山 口 高 正          | (助)ヒューマンサイエンス振興財団 | 生物薬品部  | 6. 4. 1 | 6. 6.24 | 男  |    |
| 大 塚 知 子          | (助)ヒューマンサイエンス振興財団 | 薬 品 部  | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 女  |    |
| 小 泉 修 一          | (助)ヒューマンサイエンス振興財団 | 薬 理 部  | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |
| 鈴 木 任            | (助)ヒューマンサイエンス振興財団 | 変異遺伝部  | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |
| 張 宝 旭            | (助)ヒューマンサイエンス振興財団 | 薬 理 部  | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |
| 春日井 勲            | (助)ヒューマンサイエンス振興財団 | 生物薬品部  | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |
| 中 岡 竜 介          | (助)ヒューマンサイエンス振興財団 | 療 品 部  | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |
| 小 木 美 恵 子        | (助)ヒューマンサイエンス振興財団 | 生物薬品部  | 6.11. 1 | 7. 3.31 | 女  |    |
| 張 立 実            | (助)ヒューマンサイエンス振興財団 | 変異遺伝部  | 6.11. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |
| 佐々木和生            | (助)ヒューマンサイエンス振興財団 | 筑波試験場  | 6.11. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |
| Mohammed Syameem | (助)ヒューマンサイエンス振興財団 | 薬 品 部  | 6. 4. 1 | 6. 8.15 | 男  |    |
| Lubna Huq.       | (助)ヒューマンサイエンス振興財団 | 機能生化学部 | 6. 4. 1 | 6. 6.30 | 男  |    |
| Petr Gruz        | (助)ヒューマンサイエンス振興財団 | 変異遺伝部  | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 男  |    |
| A. F. A. Alim    | (助)ヒューマンサイエンス振興財団 | 生物薬品部  | 7. 2.20 | 7. 3.31 | 男  |    |
| Lin Shan         | 国際協力事業団           | 薬 品 部  | 6. 4. 1 | 6. 9.19 | 女  |    |
| Ida Kristiani    | WHO フェロー          | 毒 性 部  | 6. 6.13 | 6. 8.12 | 女  |    |
| Ma, Wen-Shi      | 国際協力事業団           | 薬 品 部  | 6. 7. 5 | 6.11.24 | 男  |    |
| Wang Tie         | 国際協力事業団           | 生 薬 部  | 7. 1. 5 | 7. 3.24 | 男  |    |

## (科学技術特別研究員) 3名

| 氏名    | 所 属    | 受 入 部  | 入 所   | 退 所     | 性別 | 備考 |
|-------|--------|--------|-------|---------|----|----|
| 和田 幾江 | 新技術事業団 | 機能生化学部 | 6.4.1 | 6.10.31 | 女  |    |
| 金 秀良  | 新技術事業団 | 変異遺伝部  | 6.4.1 | 7.3.31  | 男  |    |
| 代 田 修 | 新技術事業団 | 生 薬 部  | 6.4.1 | 7.3.31  | 男  |    |

## (科学技術庁フェロー) 5名

| 氏名                 | 国 籍     | 所 属  | 受 入 部     | 入 所   | 退 所    | 性別 |
|--------------------|---------|--|-----------|-------|--------|----|
| Yi-Ming Liu        | 中国      | 湖南大学   | 環境衛生化学部   | 6.4.1 | 6.9.6  | 男  |
| J. K. M. Paakkanen | フィンランド  | フィンランド国立衛生研究所                                      | 変異遺伝部     | 6.4.1 | 6.5.31 | 男  |
| C. F. Hossain      | バングラデシュ | 千葉大学大学院  | 生 薬 部     | 6.4.1 | 7.3.27 | 男  |
| R. B. Poe          | 米国      |  | 療 品 部     | 6.8.1 | 7.3.31 | 男  |
| A. K. Pathak       | インド     | Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants | 有 機 化 学 部 | 7.2.1 | 7.3.31 | 男  |

## (研究生) 38名

| 氏名            | 所 属            | 受 入 部   | 入 所     | 退 所     | 性別 | 備考 |
|---------------|----------------|---------|---------|---------|----|----|
| 山 田 仁 美       | 東邦大学付属大橋病院     | 衛生微生物部  | 6.4.1   | 7.3.31  | 女  |    |
| 田 川 富美子       | 既存化学物質点検推進委員会  | 総合評価室   | 6.4.1   | 7.3.31  | 女  |    |
| 天 野 富美夫       | 国立予防衛生研究所      | 機能生化学部  | 6.4.1   | 7.3.31  | 男  |    |
| 加 藤 誠 司       | 昭和大学薬学部        | 病 理 部   | 6.4.1   | 7.3.31  | 男  |    |
| 坂 本 知 昭       | 昭和薬科大学         | 薬 品 部   | 6.4.1   | 7.3.31  | 男  |    |
| 川 口 明 昭       | 神奈川県警察科学捜査研究所  | 代謝生化学部  | 6.4.1   | 7.3.31  | 男  |    |
| 飯 田 貴 敏       | 昭和薬科大学         | 衛生微生物部  | 6.4.1   | 7.3.31  | 男  |    |
| 安 住 聡 子       | 昭和女子大学         | 衛生微生物部  | 6.4.1   | 7.3.31  | 女  |    |
| 杉 本 靖 子       | 名古屋市立大学医学部     | 変異遺伝部   | 6.4.1   | 6.5.31  | 女  |    |
| 井 上 かおり       | 昭和大学薬学部        | 薬 理 部   | 6.4.1   | 6.6.30  | 女  |    |
| 岡 本 章 子       | 東京農業大学         | 変異遺伝部   | 6.4.1   | 7.3.31  | 女  |    |
| 西 尾 俊 幸       | 日本大学           | 有機化学部   | 6.4.1   | 6.8.31  | 男  |    |
| 池 崎 信一郎       | 静岡県立大学薬学部      | 病 理 学 部 | 6.4.1   | 7.3.31  | 男  |    |
| 石 嶋 尚 一       | 昭和女子大学薬学部      | 衛生微生物部  | 6.4.1   | 7.3.31  | 女  |    |
| 中 島 幹 夫       | 麻布大学大学院獣医学研究課  | 薬 理 部   | 6.4.1   | 6.12.28 | 男  |    |
| 古 坊 真 一       | 信州大学医学部動物実験施設  | 毒 性 部   | 6.4.1   | 6.9.30  | 男  |    |
| 毛 藤 満里子       | 早稲田大学人間科学部     | 生 薬 部   | 6.4.1   | 7.3.31  | 女  |    |
| 西 野 達 哉       | 国際基督教大学        | 変異遺伝部   | 6.4.1   | 7.3.31  | 男  |    |
| 伊 藤 幸 子       | 共立薬科大学大学院      | 有機化学部   | 6.5.1   | 7.3.31  | 女  |    |
| 出 川 宏 規       | 順天堂大学医学部       | 療 品 部   | 6.5.10  | 7.3.31  | 男  |    |
| 加 藤 仁 美       | 昭和薬科大学大学院      | 衛生微生物部  | 6.5.19  | 7.3.31  | 女  |    |
| 伊 東 華奈子       | 明治薬科大学大学院      | 薬 理 部   | 6.6.6   | 7.3.31  | 女  |    |
| 池 田 真 子       | 日本大学大学院        | 薬 理 部   | 6.7.1   | 7.2.28  | 男  |    |
| 国 安 祐 子       | 国立環境研究所        | 変異遺伝部   | 6.8.1   | 7.3.31  | 女  |    |
| 長 尾 彰 文       | 東京農林水産消費技術センター | 食 品 部   | 6.9.1   | 6.11.30 | 男  |    |
| 朴 鍾 喆         | 東京農工大学大学院      | 衛生微生物部  | 6.9.5   | 7.3.31  | 男  |    |
| 熊 川 順 子       | 昭和大学薬学部        | 毒 性 部   | 6.9.16  | 6.12.28 | 女  |    |
| 小 林 浩 子       | 岡山大学薬学部        | 変異遺伝部   | 6.10.4  | 7.3.31  | 男  |    |
| 桜 井 俊 朗       | 食糧庁検査課品質管理室    | 食 品 部   | 6.10.24 | 6.12.2  | 男  |    |
| 大 倉 登美夫       | 農林水産省農薬検査所     | 毒 性 部   | 6.11.1  | 7.1.31  | 男  |    |
| 伊 藤 俊 明       | 徳島大学医学部        | 変異遺伝部   | 6.11.7  | 7.3.31  | 男  |    |
| 杉 村 真 二       | 神戸大学農学部        | 衛生微生物部  | 7.2.13  | 7.3.31  | 男  |    |
| 笥 華 子         | (財)日本公定書協会     | 支所薬品部   | 6.4.1   | 7.3.31  | 女  |    |
| 村 井 真 実       | (財)日本公定書協会     | 支所薬品部   | 6.4.1   | 7.3.31  | 女  |    |
| 高 畑 知 子       | (財)日本公定書協会     | 支所薬品部   | 6.4.1   | 7.3.31  | 女  |    |
| 濱 田 元 一       | 愛知食糧事務所        | 支所食品部   | 6.5.30  | 6.6.17  | 男  |    |
| 村 川 仁 志       | 大阪食糧事務所        | 支所食品部   | 6.7.11  | 6.7.29  | 男  |    |
| Jun-Cheul Ahn | 日本女子大学理学部      | 筑波試験場   | 6.9.1   | 7.3.31  | 男  |    |

(実習生) 60名

| 氏名          | 所 属             | 受 入 部         | 入 所     | 退 所     | 性別 | 備 考 |
|-------------|-----------------|---------------|---------|---------|----|-----|
| 岩 瀨 佳 美     | 東京科学電子工業専門学校    | 毒 性 部         | 6. 4. 1 | 7. 2.28 | 女  |     |
| 江 下 希 美     | 東京工業専門学校        | 毒 性 部         | 6. 4. 1 | 7. 2.28 | 女  |     |
| 佃 田 昌 俊     | 日本大学農獣医学部       | 食 品 添 加 物 部   | 6. 4. 1 | 6. 6.30 | 男  |     |
| 袴 田 航 子     | 日本大学農獣医学部       | 有 機 化 学 部     | 6. 4. 1 | 7. 2.20 | 男  |     |
| 辻 郁 子       | 昭和女子大学          | 食 品 添 加 物 部   | 6. 4. 1 | 7. 2.28 | 女  |     |
| 小 栗 育 子     | 北里大学衛生学部        | 食 品 添 加 物 部   | 6. 4. 1 | 7. 2.28 | 女  |     |
| 濁 川 雄 一     | 北里大学衛生学部        | 療 品 部         | 6. 4. 1 | 7. 3.14 | 女  |     |
| 外 藤 有 剛     | 北里大学衛生学部        | 環 境 衛 生 化 学 部 | 6. 4. 1 | 7. 3.21 | 男  |     |
| 内 山 藤 有 剛   | 東京農業大学農学部       | 衛 生 微 生 物 部   | 6. 4. 1 | 7. 1.31 | 男  |     |
| 中 藤 有 剛     | 東京理科大学薬学部       | 有 機 化 学 部     | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 女  |     |
| 松 内 知 昌     | 昭和女子大学家政学部      | 毒 性 部         | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 女  |     |
| ノ 内 知 昌     | 昭和女子大学家政学部      | 毒 性 部         | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 女  |     |
| 中 西 元 良     | 日本大学農獣医学部       | 食 品 添 加 物 部   | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 男  |     |
| 吉 西 元 良     | 日本大学農獣医学部       | 食 品 添 加 物 部   | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 男  |     |
| 船 越 か や     | 日本大学農獣医学部       | 食 品 添 加 物 部   | 6. 4. 1 | 7. 2.28 | 女  |     |
| 柳 沢 崇 子     | 北里大学衛生学部        | 食 品 添 加 物 部   | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 男  |     |
| 河 岸 園 子     | 昭和女子大学          | 化 学 物 質 情 報 部 | 6. 4. 1 | 7. 3.31 | 女  |     |
| 鈴 木 資 幸     | 北里大学衛生学部        | 食 品 添 加 物 部   | 6. 4.11 | 7. 3.31 | 女  |     |
| 鈴 幸 謙 二     | 北里大学衛生学部        | 食 品 添 加 物 部   | 6. 4.11 | 7. 3.31 | 女  |     |
| 滝 澤 守 彦     | 東京理科大学薬学部       | 生 薬 部         | 6. 4.14 | 7. 3.31 | 男  |     |
| 熊 倉 守 彦     | 東京理科大学薬学部       | 生 薬 部         | 6. 4.14 | 7. 3.31 | 男  |     |
| 栗 原 紀 子     | 昭和女子大学家政学部      | 変 異 遺 伝 部     | 6. 5. 1 | 7. 3.31 | 女  |     |
| 宮 坂 俊 範     | 中央大学理工学部        | 化 学 物 質 情 報 部 | 6. 5. 1 | 7. 3.14 | 男  |     |
| 飯 嶋 仁 晃     | 中央大学理工学部        | 化 学 物 質 情 報 部 | 6. 5. 1 | 7. 3.14 | 男  |     |
| 井 井 将 秀     | 日本大学理工学部        | 環 境 衛 生 化 学 部 | 6. 5.17 | 7. 2.24 | 男  |     |
| 櫻 澤 晃 晃     | 日本大学理工学部        | 環 境 衛 生 化 学 部 | 6. 5.17 | 7. 2.24 | 男  |     |
| 滝 井 村 弘 美   | 共立薬科大学薬学部       | 食 品 添 加 物 部   | 6. 5.17 | 6.12.28 | 女  |     |
| 井 仲 野 子     | 共立薬科大学薬学部       | 環 境 衛 生 化 学 部 | 6. 5.19 | 6.12.22 | 女  |     |
| 山 野 尚 志     | 共立薬科大学薬学部       | 環 境 衛 生 化 学 部 | 6. 5.19 | 6.12.22 | 女  |     |
| 平 野 子 子     | 共立薬科大学薬学部       | 有 機 化 学 部     | 6. 5.19 | 7. 3.31 | 女  |     |
| 桑 島 源 子     | 昭和大学薬学部         | 食 品 添 加 物 部   | 6. 6. 1 | 6.11.30 | 女  |     |
| 山 崎 邦 彦     | 日本医科大学          | 毒 性 部         | 6. 6. 1 | 6. 6.30 | 男  |     |
| 木 崎 内 田 仁   | 昭和大学薬学部         | 病 理 部         | 6. 6.14 | 6.11.30 | 男  |     |
| 黒 山 美 貴     | 昭和大学薬学部         | 薬 理 部         | 6. 6.15 | 6.11.30 | 女  |     |
| 杉 山 理 絵     | 東京動物専門学校        | 毒 性 部         | 6. 9.30 | 6.10.28 | 女  |     |
| 蓮 沼 智 美     | 東京動物専門学校        | 毒 性 部         | 6. 9.30 | 6. 9.30 | 女  |     |
| 小 田 真 琴     | 昭和女子大学家政学部      | 食 品 添 加 物 部   | 7. 2.21 | 7. 3.31 | 女  |     |
| 三 浦 麻 記     | 日本大学農獣医学部       | 食 品 添 加 物 部   | 7. 3. 1 | 7. 3.31 | 女  |     |
| 大 浦 雄 一     | 北里大学衛生学部        | 療 品 部         | 7. 3. 6 | 7. 3.31 | 男  |     |
| 大 嶋 崎 伊 津 美 | 日本大学農獣医学部       | 食 品 添 加 物 部   | 7. 3.13 | 7. 3.31 | 女  |     |
| 秋 本 真 由     | 摂南大学薬学部         | 支 所 薬 品 部     | 6. 6. 7 | 6. 6.16 | 女  |     |
| 植 本 晴 海     | 摂南大学薬学部         | 支 所 薬 品 部     | 6. 6. 7 | 6. 6.16 | 女  |     |
| 小 野 上 太 惠   | 摂南大学薬学部         | 支 所 薬 品 部     | 6. 6. 7 | 6. 6.16 | 男  |     |
| 井 上 策 児 代   | 摂南大学薬学部         | 支 所 薬 品 部     | 6. 6. 7 | 6. 6.16 | 男  |     |
| 小 川 千 代 美   | 摂南大学薬学部         | 支 所 薬 品 部     | 6. 6. 7 | 6. 6.16 | 女  |     |
| 小 谷 本 隆 浩   | 摂南大学薬学部         | 支 所 薬 品 部     | 6. 6. 7 | 6. 6.16 | 男  |     |
| 梅 原 弘 智     | 摂南大学薬学部         | 支 所 薬 品 部     | 6. 6. 7 | 6. 6.16 | 女  |     |
| 香 川 智 紀     | 摂南大学薬学部         | 支 所 薬 品 部     | 6. 6. 7 | 6. 6.16 | 女  |     |
| 長 野 誠 二     | 大阪バイオテクノロジー専門学校 | 支 所 薬 品 部     | 6. 8. 1 | 7. 1.31 | 男  |     |
| 赤 松 茂 子     | 徳島県食肉衛生検査所      | 支 所 食 品 部     | 6.10. 3 | 6.10.28 | 男  |     |
| 上 原 登 茂     | 大阪薬科大学          | 支 所 薬 品 部     | 6.10. 4 | 6.12.16 | 女  |     |
| 本 登 子       | 大阪薬科大学          | 支 所 薬 品 部     | 6.10. 4 | 6.12.16 | 女  |     |
| 山 中 弘 美     | 大阪薬科大学          | 支 所 薬 品 部     | 6.10. 4 | 6.12.16 | 女  |     |
| 今 井 昌 也     | 大阪薬科大学          | 支 所 食 品 部     | 6.10. 4 | 6.12.16 | 男  |     |
| 大 森 夏 子     | 大阪薬科大学          | 支 所 食 品 部     | 6.10. 4 | 6.12.16 | 女  |     |
| 中 添 一 夫     | 大阪薬科大学          | 支 所 食 品 部     | 6.10. 4 | 6.12.16 | 女  |     |
| 河 添 忠 夫     | 大阪薬科大学          | 支 所 生 物 試 験 部 | 6.10. 4 | 6.12.16 | 男  |     |
| 都 築 朋 子     | 大阪薬科大学          | 支 所 生 物 試 験 部 | 6.10. 4 | 6.12.16 | 女  |     |
| 山 名 亜 英     | 大阪薬科大学          | 支 所 生 物 試 験 部 | 6.10. 4 | 6.12.16 | 女  |     |

## 乱用薬物基礎研究報告；乱用薬物に関する実験的研究（第2次）

（平成2年～平成6年）

世話人 安全性生物試験研究センター 黒川雄二

麻薬、覚せい剤など薬物の乱用は、今日、世界各国で深刻な問題となっており、国連は1991年から2000年までを「国連麻薬乱用撲滅の10年」と定め、各国が薬物乱用問題に取り組んでいる。

わが国においても、覚せい剤および有機溶剤を中心に依然として睡眠薬、抗不安薬、鎮痛剤などの医療用薬物の乱用が後を絶たない。更に近年、コカイン、ヘロイン、大麻などの乱用の流行する兆候がみられ、薬物の乱用は拡大と多様化の傾向を一段と強めている。このような状況を踏まえ、わが国でも昭和61年に官民一体となった薬物乱用に関する防止活動が閣議決定された。当所でもその活動の一環として薬理学的見地から動物実験を主体とした基礎研究を企画し、毒性部、薬品部、有機化学部および機能生化学部の各部の協力の下に第1次3年計画（昭和62～平成元年：衛生試験所報告第108号、1990）を実施した。引続き、平成2年度から第2次の試験研究を行っており、この度第2次5年計画が終了したので報告する。

毒性部では、コカインの強化効果に対する抑制作用、ならびにコカイン依存の治療薬としての可能性の関連が注目されているオピオイド受容体アゴニスト・アンタゴニストであるブプレノルフィンとセロトニン（5-HT<sub>3</sub>）受容体アンタゴニストであるオンダンセトロンおよびアザセトロンについて、コカインの強化効果に対する影響をアカゲザルを用いた静脈内自己投与実験により検索した。

薬品部では、従来覚せい剤一辺倒であったわが国の薬物乱用社会にも多剤乱用が急増していることに着目し、多剤乱用者の正しい薬物歴の情報と取締現場での分析法の実用化を目的とした化学的手法の開発を試み、多剤乱用者の毛髪分析による薬物の証明、一斉分析方法の検討を行った。また、コカインとアルコールを併用した場合に生成するコカエチレンの検出をラットの試験で検討した。

有機化学部では、依存性薬物とオピオイドレセプ

ターの相互作用を解析するため、レセプターを化学修飾して不可逆的薬理作用を示す化合物合成の検討を行った。今回は、特にモルヒネ類に着目し、モルヒネ骨格に化学反応性の高い官能基を導入した新規化合物として8種類の6 $\alpha$ -アルキル尿素ジヒドロコデイン誘導体を合成し、さらにモルモット回腸縦走筋を用いてその薬理作用について検討した。

機能生化学部では、抗モルヒネ抗体を固定化した担体を前処理充填剤として用いたキャピラリー電気泳動法により生体試料中のモルヒネを直接分析する方法を検討した。また、オピオイド結合タンパク（OBCAM）に対するモノクローナル抗体を調製し、この抗体を用いてOBCAMの発現量の変化をウェスタンブロット法および免疫組織化学染色を用いて検討した。

以上、各担当部が行った試験研究の概要について述べたが、その具体的内容については以下に記す各々の報告書を参照されたい。

なお、本研究計画は平成7年度から第3次3年計画の下に継続する予定である。

**アカゲザルのコカイン静脈内摂取に及ぼすブプレノルフィン、オンダンセトロンおよびアザセトロンの影響**

毒性部 関田清司、小川幸男、小野 敦  
村上 治、降矢 強、井上 達  
黒川雄二

**Keywords** : cocaine-self administration, buprenorphine, 5-HT<sub>3</sub> antagonist

## [目的]

薬物の強化効果の抑制あるいは除去を起こす薬物の研究は、薬物依存の治療薬開発や依存性の発現機序を解明する上で重要なこととされている。近年、オピオイド受容体アゴニスト・アンタゴニストであるブプレノルフィンやセロトニン（5-HT<sub>3</sub>）受容体アンタゴニスト薬の、コカインの強化効果に対す

る抑制作用, ならびに依存性に対する治療薬としての可能性の関連が注目されている。そこで, コカインの強化効果に対するブプレノルフィンやセロトニン受容体アンタゴニストであるオンダンセトロンやアザセトロンの影響を, アカゲザルを用いた静脈内薬物自己投与実験により検索した。

#### [実験方法]

手術により静脈内に長期的にカテーテルを留置した雄アカゲザルを金属性の自在アームおよびハーネスで自己投与実験ケージに係留し静脈内薬物自己投与実験を行った。本法は第1次3年計画で既報の通り, ケージ内に設けられたレバーをサルが一定回数押すごとに一定量のコカインもしくは生理食塩液がカテーテルを介して静脈内に自動注入される構造をとっている。

#### 1. 実験動物

薬物自己投与訓練により, 薬物弁別学習が形成された動物すなわち, 生理食塩液では低い摂取が, またコカインでは高い摂取が見られるようになった個体を用いた。

#### 2. 実験方法

##### 1) ブプレノルフィン

1回の薬物摂取にレバー押し100回を要し (FR 100), 1日の薬物摂取可能時間を22時間30分 (午前10時30分~翌日9時), また1回の薬物摂取ごとに15分のタイムアウトを設けたスケジュールで4頭を用いて行った。実験は最初にコカイン (単位用量: 0.05 mg/kg/inj.) を4日間, 次いで生理食塩液 (0.25 ml/kg/inj.) を4日間, 次いでブプレノルフィンを毎日午前10時に1回皮下投与してコカイン (0.05 mg/kg/inj.) を4日間, 次いで生理食塩液 (0.25 ml/kg/inj.) を4日間摂取させる各期間からなった。この行程を3回繰り返す, ブプレノルフィンの0.06, 0.24および0.72 mg/kgについてその効果を検討した。

##### 2) オンダンセトロン

ブプレノルフィンと同じスケジュールで4頭のサルを用いて行った。実験は最初に生理食塩液 (0.25 ml/kg/inj.) を5日間, 次いでコカイン (0.10 mg/kg/inj.) を5日間, 次いでオンダンセトロンを毎日午前10時に1回皮下投与してコカイン (0.10 mg/kg/inj.) を5日間, 次いでコカイン (0.1 mg/kg/inj.) を5日間摂取させる期間からなった。この行程を2回繰り返す, オンダンセトロンの1.0および4.0 mg/kgについてその効果を検討した。

##### 3) アザセトロン

FR30, 1日の薬物摂取可能時間を3時間 (10~13時), 1日の薬物の最大摂取回数を90回としたスケジュールで4頭のサルを用いて行った。実験は最初に生理食塩液 (0.25 ml/kg/inj.) を4日間, 次いでコカイン (0.05 mg/kg/inj.) を4日間, 次いでアザセトロンを薬物摂取用に頸静脈内に留置したカテーテルを介し毎日1回前処置してコカイン (0.05 mg/kg/inj.) を4日間摂取させる期間からなった。この行程を2回繰り返す, アザセトロンの4.0および16.0 mg/kgについて検討した。アザセトロンの処置は自動注入装置を用いて9時20分より約30分をかけてゆっくり投与した。また, アザセトロン処置期間にアザセトロンを処置しないで, コカインの単位用量を0.025 mg/kg/inj. に半減した場合のコカイン摂取についても検討した。

#### 3. 観察方法

1時間ごとおよび1日の薬物摂取回数を記録し, 無処置期間と薬物処置期間のコカイン摂取回数を比較した。

#### [実験結果および考察]

##### 1. ブプレノルフィン

生理食塩液の1日平均摂取回数は9.0~17.1であるのに対し, 無処置期間のコカイン摂取回数は34.6~42.1と明らかに高値を示し, いずれの例でも生理食塩液とコカインの薬物弁別学習が形成されていた。

無処置期間とブプレノルフィン処置期間のコカインの摂取回数の比較では, 2例に各用量のブプレノルフィン処置期間で1日平均摂取回数の明らかな減少が認められた。この減少には用量反応関係を認めなかった。減少効果は各用量とも処置1日で最も強く, その後急速にあるいは漸次弱まり処置4日までには摂取回数の減少はほとんど見られなくなった。また, 強い減少が見られた日では生理食塩液の摂取回数を下回る例や1日中摂取が見られない例が見られた。このことはブプレノルフィン処置がオペラント (レバー押し) 行動そのものを抑制している可能性を示唆したものと考えられる。一方, 1例では1日平均摂取回数に差を認めなかった。しかし, この例でも各用量の処置1日の摂取開始2.5時間後までのコカイン摂取回数は明らかな減少を示した。また1例はブプレノルフィン0.24および0.72 mg/kg 処置期間で逆に高い1日平均摂取回数を認めた。しかし, この例でも0.06 mg/kg 処置1日の摂取開始2.5時

間後までのコカイン摂取回数に減少が認められた。

このように個体差を認めるもののブプレノルフィン処置によるコカイン摂取の減少がすべての動物で観察された。

## 2. オンダンセトロン

生理食塩液の1日平均摂取回数は4.2~12.2であった。これに続く、無処置期間のコカインの1日平均摂取回数は61.2~76.2と高い摂取を示した。このようなサルにオンダンセトロンの1.0あるいは4.0 mg/kgを投与したところ、コカインの1日平均摂取回数は無処置期に比べ、両用量とも数値的にはいずれの個体でも低い値を示し、1例の1.0 mg/kg処置で有意差が認められた。オンダンセトロン処置期間の1日ごとのコカインの摂取回数について見ると、1例は処置1日で明らかな減少が1.0および4.0 mg/kgで認められた。この減少はコカイン摂取開始8.5~22.5時間の時間帯(7:00 p.m.~翌日7:00 a.m.;消灯時間帯)での摂取回数の減少によるものであった。同様の減少傾向はほかの1例の1.0 mg/kg処置1および2日にも認められた。

このようにオンダンセトロンは軽度ながらもコカイン摂取を減少する傾向を示唆した。しかし、減少効果をより明らかなものにするためにはさらに詳細な検討が必要と考える。

## 3. アザセトロン

生理食塩液の1日平均摂取回数は5.3~11.3であるのに対し、無処置期間のコカイン(0.05 mg/kg/inj.)摂取回数は41.3~69.8と高い値を認め、いずれの4頭も生理食塩液とコカインの薬物弁別学習が形成されていた。

無処置期間とアザセトロン4.0あるいは16.0 mg/kgを処置した期間のコカイン(0.05 mg/kg/inj.)の1日平均摂取回数に明らかな差は認められなかった。しかし、4頭いずれにおいてもコカインの1日平均摂取回数は無処置期間に比べアザセトロン処置期間の方がわずかながら高い値を示した。特に、1例では4.0および16.0 mg/kg処置により処置期間前半に1日のコカイン摂取回数は1日の上限である90回あるいはそれに近い摂取が認められ明らかな増加を認めた。

一方、アザセトロン非処置下でコカインの単位用量を半減(0.025 mg/kg/inj.)した実験では、明らかにコカインの1日摂取回数の増加が認められた。これはコカインの効果の減弱を補うための現象と思われる。今回、アザセトロンの前処置により同様の

コカイン摂取回数の増加傾向が認められたことより、アザセトロンの前処置によるコカインの効果の減少の可能性が考えられた。

## 〔結語〕

静脈内薬物自己投与方法を用いて、コカインと生理食塩液に対する薬物弁別学習が形成されたサルにおけるブプレノルフィン(オピオイドアゴニスト-アンタゴニスト)、オンダンセトロン(セロトニン(5-HT<sub>2</sub>)アンタゴニスト)およびアザセトロン(セロトニン(5-HT<sub>2</sub>)アンタゴニスト)のコカイン摂取に及ぼす影響について検討した。

1. ブプレノルフィンの0.06, 0.24および0.72 mg/kgを1日のコカイン摂取可能時間前に1日1回、4日間、皮下投与した。ブプレノルフィン処置はコカイン摂取を減少した。摂取の減少は処置1日で最も強く、その後急速あるいは漸次弱まり処置4日までに消失した。また、減少効果に用量反応関係も認められなかった。コカイン摂取の強い減少が見られた例では生理食塩液の摂取回数を下回ることや全くコカインの摂取が見られない日が観察され、オペラント(レバー押し)行動そのものが抑制されている可能性も考えられた。

2. オンダンセトロン1.0あるいは4.0 mg/kgを1日のコカイン摂取可能時間前に1日1回、5日間皮下投与した。オンダンセトロン処置はコカイン摂取を減少する傾向を示した。しかし、その程度は弱く、オンダンセトロンのコカイン摂取減少効果についてはさらに詳細な検討が必要と考える。

3. アザセトロン4.0 mgあるいは16.0 mg/kgを1日のコカイン摂取可能時間前に1日1回、4日間、静脈内投与した。アザセトロン処置によりコカイン摂取の減少は認められず、むしろ増加傾向を認めた。一方、アザセトロン無処置の状態ではコカインの単位用量を半減した0.025 mg/kg/inj.の摂取ではコカインの1日摂取回数に明らかな増加が認められた。このことは、アザセトロン投与期間内に見られたコカイン(0.05 mg/kg/inj.)摂取回数の増加がアザセトロン処置によるコカインの効果の減弱により引き起こされた可能性を示唆した。

## 多剤乱用の化学的証明

薬品部 高橋一徳, 木倉瑠理  
中原雄二, 小嶋茂雄

**Keywords:** poly drug abuse, hair analysis, drug history

90年代に入り, わが国に流入してくる乱用薬物の種類が多彩になり, 従来覚せい剤一辺倒であったわが国の薬物乱用社会にも多剤乱用が急増する兆しが見られている。この様な薬物汚染の進行を抑制するためにも, 多剤乱用者の早期発見とケアが必要である。正しい薬物歴の情報を医療に反映させるとともに, 取締現場での実用化を目的とした科学的手法の開発を試みた。

### 1. 毛髪分析によるアルコールとコカイン併用の推定

コカイン乱用者は, しばしば乱用時にアルコールを併用することが知られている。アルコールとコカインを併用した場合, 体内でコカインとアルコールが反応し, コカエチレンが生成することが知られている。生体試料からコカエチレンを検出することにより, 両者の併用が証明できる。今回, 動物にアルコールとコカインを同時に投与し, 血中および毛髪中のコカエチレンを分析した。

DA系雄性ラットに毎日1回5日間, 25%アルコール10 ml/kgを経口投与後, 塩酸コカインを腹腔内投与し, 経時的に採血し, 毛髪は, 初回投与後4週間目に採取した。

血漿中のコカイン, 代謝物およびコカエチレンは, 固相抽出後, また, 毛髪中の濃度は, 毛髪をMeOH-5N塩酸(20:1)で抽出し, GC/MSで定量した。

エタノール-コカイン投与群のすべてのラットの血液, 毛髪中にコカエチレンが検出された。特に, 長期の過去に遡り, 両者の併用を証明できる毛髪の有用性が確かめられた。また, 血中主代謝物のベンゾイルエクゴニンとエタノールの併用実験ではコカエチレンが生成しない事から, コカエチレンの生成はコカインとエタノールのエステル交換により生成することを確認した。

### 2. ヘロインと覚せい剤の乱用の証明

患者ST-5は採取2年前より海外でヘロインを連日使用し, 約1年前に帰国して, 覚せい剤の乱用に切り替えたと推定されていた。分析の結果, 30cmの毛髪試料の第8分画(約1年前に相当)から末端

までまんべんなくアセチルモルヒネが検出され, 第1~8分画に15~60 ng/mgのメタンフェタミンを検出した。1年前にヘロインから覚せい剤にスイッチしたことを明確にすることができた。

### 3. コカインとヘロインの併用証明

患者ST-12は32歳の女性で26歳からコカインとヘロインを併用していたと疑われた。18cmの毛髪試料を2cmに9分画し, それぞれの分画を分析した結果, 7, 8ヶ月前(7ヶ月前入院)までに相当する1~4分画には検出されなかった。しかし, 第5から10分画には1~5 ng/mgのアセチルモルヒネが検出され, 同時に5~13 ng/mgのコカインが第4~9分画に検出された。毛髪中のアセチルモルヒネおよびコカインの分布状態からヘロインとコカインの併用状態が証明できた。

### 4. 過去1年間に覚せい剤, コカインおよび大麻を乱用した患者の毛髪分析

過去1年間に覚せい剤, コカイン, 大麻, シンナー等の多剤を乱用したとされる患者の頭髪を分析した。この毛髪分析の結果を解析するとともに, 精神科医の臨床所見および中毒症状と乱用歴を対比した。

この患者は19歳の女性で, 14歳のときシンナー乱用を始め, 17歳から覚せい剤の乱用を開始し, 18歳からコカインも乱用を開始した。マリファナは15歳の時1度, 18歳の時2度使用した。覚せい剤は静注で1回約0.2gを6~7回/日, コカインは初めは経鼻, 以後静注で1回0.2~0.3gを20~30回/日使用した。1度, 量を間違えて多量に注射し, 気を失ったことがある。また, 覚せい剤により幻聴が現れ, コカインでは地震を疑似体験している。

本試料は約40cmで, その約20本の毛髪を切断し, 23分画とした。抽出後, 誘導化体としてGC/MSで測定した。

メタンフェタミンは第12から第1分画にかけて徐々にメタンフェタミン濃度は上昇し, 第1分画は異常に高い濃度(118 ng/mg)を示した。この分画は患者が流産した時期に対応している。代謝物アンフェタミンのメタンフェタミンに対する比率は急激な上昇が見られた。これは依存状態の急速な進行を示唆している。コカインは1年前に相当する第8分画から第1分画に検出されており, 第2分画に対応する期間に, 量を間違えて多量のコカインを注射して, 気を失い, 痙攣を起こした。この分画のコカイン濃度は46 ng/mgまでに上昇した。また, 大麻の成分も約1年前の分画に検出され, わが国における



多剤乱用の数少ない例として、注目すべき症例であった。

この患者は薬物精神障害の兆候が現れており、コカインと覚せい剤との複合精神障害も危惧されている。

#### 5. 毛髪中薬物（覚せい剤，コカイン，ヘロイン他）のGC/MSによるスクリーニング法の検討

近年わが国でも覚せい剤以外の乱用薬物流入の増加に伴い、多剤乱用が増加していることが推測される。また、同時併用でなくとも、過去数年以内に国内外で様々な薬物を経験している乱用者も多く、尿試料では発見しにくい多剤乱用歴を明らかにできる生体試料として、毛髪試料が期待されている。そのため、まずスクリーニング試験により毛髪に含有される薬物の種類を特定することが重要となるので、代表的3種の乱用薬物（覚せい剤，コカイン，ヘロイン）の一斉分析方法の開発を試みた。

DA系雄性ラットにメタンフェタミン，コカイン，ヘロイン（各5mg/kg）を個々に投与し、初回投与後4週間目に毛髪を採取した。多剤乱用者の頭髪も本実験に用いた。

メタノール-塩酸による抽出物をPFP誘導化体として、安定同位体希釈GC/MS-SIMで分析した。

本法を用いて、3種の薬物を投与したラット毛髪を分析したところ、3者を同時に検出でき、毛髪中薬物のスクリーニング法として有効であることを確認した。

また、1種類の薬物のみ使用していたと思われた数多くの患者の毛髪に、それ以外に覚せい剤やコカインやモルヒネが同時に検出され、毛髪分析のスクリーニング試験の重要性が実証された。

### モルヒネ含有生体試料の直接注入分析法の開発 およびオピオイド結合タンパクの性質に関する研究

機能生化学部 蜂須賀暁子，和田幾江  
山崎 壮，澤田純一

**Keywords** : capillary electrophoresis, morphine, OBCAM

#### 1. モルヒネ含有生体試料の直接注入分析法の開発

##### [目的]

抗モルヒネ抗体を固定化した担体を前処理充填剤として利用するキャピラリー電気泳動法を、尿や血

清等の生体試料中の乱用薬物を直接分析する方法へ応用することを目的として、以下の検討を試みた。

##### [方法]

抗モルヒネモノクローナル抗体（MOR131）をトレンシル基で活性化した担体（TSKgel Tresyl-5PW）に固定化し、得られたゲル（i.d.=100 $\mu$ m，2mm長）を先端に封入したキャピラリーを作成した。これを、2本のキャピラリー（ドレイン用および分離用；i.d.=50 $\mu$ m）へと分岐させた。このゲル封入分岐キャピラリーを用いて、リン酸緩衝液（pH7.0，50mM）をキャリアーとするゾーン電気泳動法で分析を行った。この方法では、モルヒネ含有試料中の目的物質のみが担体に吸着され、夾雑成分はドレイン用キャピラリーへと導かれる。このようにして濃縮および除タンパクされた目的物質は、酸性水溶液を少量注入することにより担体より遊離され、分離用キャピラリーへと導かれる。分離された目的物質の検出は205nmの紫外吸収により行った。

##### [結果および考察]

キャピラリー先端部に封入した抗体固定化ゲル（2mm）は60~70ngのモルヒネを吸着することが可能であった。通常のゾーン電気泳動では試料注入量が10nl以下であるのに対し、このゲルでは1 $\mu$ lの試料の注入が可能になり、目的物質の濃縮に伴い、検出限界濃度を100倍以上改善することができた。

このオンライン前処理キャピラリーを組み込んだキャピラリー電気泳動を用いる方法で、生体試料中のモルヒネの分析を試みたところ、妨害成分の影響を受けることなくモルヒネの検出が可能であることが示された。

本方法は、カラムスイッチングHPLCのキャピラリー電気泳動版ともいえるものであるが、極めて微量の試料の直接分析が可能である点、抗体を代えることにより他の物質への応用も可能である点等から、将来性の高い方法と考えられた。

#### 2. オピオイド結合タンパクの性質に関する研究

##### [目的]

モルヒネ受容体である $\mu$ 型受容体関連タンパクとして、Lohらのグループはウシ線条体から精製した58kDaの糖タンパク opioid binding cell adhesion molecule (OBCAM) の一次構造を1989年に発表している。そのアミノ酸配列よりOBCAMの構造は、免疫グロブリンスーパーファミリーに属し、膜貫通部分を持たない膜表面型タンパクと推定される。したがって、それのみでレセプターの機能

を発現するとは考えにくい。オピオイドリガンド結合能を示すこと、antisense DNA を transfection することにより結合活性が低下することなどが、同グループより報告されており、 $\mu$  型受容体の構成要素、または、会合タンパクである可能性も考えられている。しかし、その機能については未だ不明な点が多い。我々は、このタンパクのアミノ酸配列の一部 (185-202 残基) を化学合成し、抗ペプチドマウスモノクローナル抗体 (OBC53) を調製し、この抗体を用いて OBCAM の発現量の変化をウェスタンブロット法および免疫組織化学染色を用いて検討した。

#### [結果および考察]

抗 OBCAM 抗体が認識するタンパクは、58 および 51 kDa で、ウシ、マウス、ラット、モルモットおよびウサギの脳に存在し、脳内部位による局在が認められた。ラットにおいて、OBCAM の中枢神経での発現が認められるが、胸腺、副腎、心臓、肺臓、胃、肝臓、小腸、腎臓および筋肉では検出されないこと、また、脾臓では低レベルであるがその発現が確認されることがウェスタンブロット法を用いて示された。オピオイドは、NK 細胞の活性低下、リンパ球の増殖亢進など、免疫系の細胞に作用し、オピオイド受容体が、脾細胞、リンパ球に存在することが知られている。神経系と免疫系のオピオイド受容体が同じものであるか否かは、未だ明らかにされていないが、今回、抗ペプチド抗体で脾細胞の P2 膜に神経系と同じ分子量のタンパクが検出されたことから、OBCAM は、神経系、免疫系両方の系でオピオイド受容体に関与している可能性も考えられる。

また、免疫組織化学染色により OBCAM の発現部位はニューロン膜であり、シナプトフィジンの発現部位と一致したことから、OBCAM はシナプス部分に局在するタンパクであることがわかった。オピオイド受容体の脳内分布については、脳の凍結切片に放射性リガンドを結合させる実験系で多数の報告があるが、線条体、扁桃体、視床で高く、小脳では低く、大脳皮質、海馬では様々な報告がなされている。今回の OBC53 の染色結果は従来のオピオイド受容体の分布と大きな相違は認められない。また、OBCAM の発現部位はニューロン膜であり、シナプス部分に局在するタンパクであることがわかり、受容体関連タンパクである可能性を必ずしも否定しない結果が得られた。

一方、OBCAM は PI-PLC で可溶化されることが明らかにされ、このことより、GPI アンカー型タンパクであることが示された。しかし、PI-PLC 処理前後の P2 膜に対して、オピオイドアンタゴニストであるディプレノルフィンの結合に有意な差が認められなかったことから、少なくとも *in vitro* におけるオピオイド受容体の結合活性に対する OBCAM の寄与は少ないことが示された。

オピオイド耐性と OBCAM の関連の有無を検討する目的で、ラット (SD, 7 週令, 雄) に塩酸モルヒネ (10~100 mg/kg) を 1 日 2 回、2 週間連続皮下投与してモルヒネ耐性ラットを作成した。このラットを用いて、OBCAM の発現量の変化を脳切片の免疫組織化学染色、P2 膜のウェスタンブロット法によって調べたが、対照との有意な差は認められなかった。オピオイドリガンドであるナロキソンおよびディプレノルフィンに対する P2 膜の結合実験においても変化は認められなかった。

一般に、オピオイドアゴニストにより、 $\delta$  型を有する NG108-15 細胞では受容体数が減少することが知られているが、*in vivo* の耐性発現時の脳では有意に減少しないという報告が多く、オピオイドを反復投与することにより現われる耐性と受容体数との関係は必ずしも明確にはされていない。OBCAM に関する今回の結果では、耐性獲得後の P2 膜のウェスタンブロット法による脳での OBCAM の総量、脳切片の免疫組織化学染色法による脳の部位における分布については、いずれも明らかな変化は認められず、耐性と OBCAM の関連を明らかにすることはできなかった。

#### オピオイド受容体に選択的に作用する化合物の合成と薬理作用の解析

有機化学部 宮田直樹, 末吉祥子, 丹野雅幸

**Keywords :** opioid receptor, morphine

#### [目的]

精神依存性を有する薬物について、薬物とレセプターとの相互作用を分子レベルで解析することは、依存性発現機序の解明や、より依存性の少ない新薬を開発するための重要な研究課題の一つであり、また、薬物乱用を未然に防ぐための予防的役割も担っている。本研究では、研究対象化合物として、麻薬性を有しながら現在も鎮痛薬として臨床に頻用され

ているモルヒネ類を選んだ。第1次の研究では、オピオイドレセプターと特異的な親和性を有する新規化合物の合成を目的とし、モルヒネ骨格のC環に化学反応性の高い官能基を導入した誘導体の合成法を確立した。今回、第2次の研究では、本法を活用して各種の新規化合物の合成を行うとともに、*in vitro* 薬理実験を行った。

#### [実験・結果]

モルヒネ骨格に化学反応性の高い化学官能基を導入したモルヒネ誘導体は、モルヒネレセプターを特異的に化学修飾し、選択的な薬理作用を発現することが期待される。誘導体合成は、ジヒドロコデインを出発原料として行った。ジヒドロコデインをメタンスルホニル化し、6 $\alpha$ -メタンスルフォニル誘導体(1, mp. 178°C)を得た(収率74%)。化合物(1)をアジド化し、6 $\beta$ -アジド誘導体(2, mp. 139°C)を合成し(収率90%)。さらに、化合物(2)を還元して6 $\beta$ -アミノ誘導体(3, mp. 132°C)を合成した(収率64%)。化合物(4)は、種々のイソシアネートあるいは、イソチオシアネートと反応させることにより、6 $\beta$ -メチル尿素誘導体(4, mp. 196°C)、6 $\beta$ -フェニル尿素誘導体(5, mp. 148°C)、6 $\beta$ -*N*-ニトロソメチル尿素誘導体(6, oil)、6 $\beta$ -パラトリル尿素誘導体(7, mp. 108°C)、6 $\beta$ -2,3,4,6-*O*-アセチル- $\beta$ -*D*-グルコピラノシルチオ尿素誘導体(8, mp. 132°C)等を新規に合成した。これらの化合物の構造は、赤外吸収スペクトル、核磁気共鳴スペクトルおよび質量分析スペクトル等により決定した。

オピオイドレセプターに対する作用はモルモット回腸縦走筋を用いて調べた。化合物(1~6)は、い

ずれもモルヒネ様の作用を示し、最大反応は、モルヒネと同程度(93~139%)であった。また、その効力をpD<sub>2</sub>値を用いて比較すると、化合物(2)がもっとも強く、その強さはジヒドロコデインと同程度(モルヒネの約1/3)であった。この作用はナロキソンによりモルヒネと同様に阻害されることから、 $\mu$ レセプターに作用していると判断できる。

#### [考察]

6 $\alpha$ 位メタンスルフォニル誘導体(1)を経由する合成ルートを用いることにより、一連のジヒドロコデインの6位誘導体の合成が可能であることを明らかにした。また、モルモット回腸縦走筋を用いた*in vitro* 薬理実験により、これらの化合物が $\mu$ レセプターに作用していることを明らかにした。一般に、アルキル置換尿素類は脂溶性が高く、血液-脳関門を通過しやすいことが知られている。今回新規に合成したジヒドロコデインのアルキル置換尿素誘導体が母化合物よりも脂溶性が向上することは、別途高速液体クロマトグラフィーにより確認しており、今回合成した誘導体は血液-脳関門を容易に通過すると予測される。また、化合物(2, 6)は、生体内に投与した場合、置換基として導入したアジド基や、*N*-ニトロソ基の分解により活性中間体が生成し、これがオピオイドレセプター部位を不可逆的に化学修飾し特異的な薬理作用を示すことが期待される。今後は、一連の*N*-ニトロソ誘導体を大量合成し、*in vivo* 薬理試験、あるいは、レセプターとの反応性の生化学的解析が必要と考える。最後に、モルモット回腸縦走筋を用いた*in vitro* 薬理実験を行って下さいました東邦大学薬学部薬理学教室高柳一成教授に感謝いたします。

Aoyagi, N., Kaniwa, N. and Uchiyama, M.: **Inter-laboratory reproducibility of release tests for suppositories**

*Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 21, 175~183 (1995)

インドメタシン水溶性および油脂性坐剤を試料とし、代表的な3種の放出試験法(パドル、村西、透析チューブ法)の施設間再現性について検討した。水溶性坐剤に関しては、パドル、村西法共、放出率の施設間変動係数は6%以下で再現性は優れており、品質管理試験として有用であることが明らかとなった。これに対し、油脂性坐剤の場合、村西、透析チューブ法の施設間変動係数はそれぞれ約50%、60%で再現性は極めて悪かった。原因について検討した結果、村西法では、内筒の固定位置の数ミリのずれ、透析チューブ法ではチューブ内に残存する水分量の僅かな増減が放出に大きな影響を与えることが判明した。これら変動要因を厳密に制御することは難しく、現状のままでは両法は品質管理試験に適していないと判断される。

**Keywords** : suppository, dissolution, reproducibility

Kaniwa, N., Shameem, M., Katori, N. and Kojima, S.: **The suitable temperature specifications for the evaluation of controlled release products *in vitro***

*Pharmazie*, 50, 53~55 (1995)

局方では、溶出試験または放出試験の試験温度を $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ と規定している。市販硝酸イソソルビッド徐放性カプセルおよび錠剤の放出速度に及ぼす、規定された試験温度内での小さな温度変化の影響を、回転バスケット法で検討した。カプセルからの硝酸イソソルビッドの放出速度は、試験温度の上昇とともに大きくなった。特に $37^\circ\text{C}$ 以上での変化が顕著であり、 $37.0^\circ\text{C}$ と $37.5^\circ\text{C}$ における放出率の差は有意であった。一方、錠剤からの硝酸イソソルビッドの放出に及ぼす温度の影響は、試験時間により異なったが、規定された試験温度の上限と下限で行われた放出試験では、放出率に有意の差が観測された。OC曲線より、このような放出速度の変化は、品質管理における製品の試験合格率に大きな影響を及ぼすことが判明した。以上のことより、徐放性製剤の放出試験では、試験温度の範囲を $\pm 0.5^\circ\text{C}$ よりも狭い範囲に規定する必要があるか、または、放出率の規格を見直す必要があることが、示唆された。

**Keywords** : release test, temperature, controlled release product

Katori, N., Aoyagi, N. and Terao, T.: **Estimation of agitation intensity in the GI tract in humans and dogs based on *in vitro/in vivo* correlation**

*Pharm. Res.* 12, 237~243 (1994)

製剤の開発および評価にあたっては、*in vivo*で

の薬物溶出をよりの確に予測できる *in vitro* 試験法の確立が重要である。我々は、2種の異なった溶出特性を示すアセトアミノフェン徐放錠をモデル薬物とし、*in vitro/in vivo* 相関性から、ヒトおよびビーグル犬の消化管内攪拌力を推定することを試みた。その結果、deconvolutionにより求めたヒト ( $n=6$ ) での初期の薬物放出曲線は、パドル法では10 rpm、フローセル法では1~2 ml/minに相当した。この値は通常、局方等で用いられている試験条件(パドル法50~100 rpm、フローセル法8~15 ml/min) よりもかなり緩和な条件である。また犬 ( $n=6$ ) での消化管内攪拌力はパドル法では100 rpm、フローセル法では50 ml/min以上と推定され、その消化管運動は人と大きく異なることが示唆された。薬剤の吸収実験に犬を使用する際には、特に消化管内の機械的破壊力の影響を受け易い崩壊型の薬剤の場合には、このヒトと犬との消化管内運動の差を考慮することが重要であると考えられる。

**Keywords** : GI tract, dissolution tests, hydrodynamic flow

Yoshioka, S., Aso, Y., Izutsu, K. and Terao, T.: **Application of accelerated testing to shelf-life prediction of commercial protein preparations**

*J. Pharm. Sci.*, 83, 454~456 (1994)

タンパク質製剤の有効期間の予測に加速試験をどの程度適用できるかどうかを、数種の市販の酵素製剤をモデルとして検討した。 $\alpha$ -キモトリプシン錠剤、 $\alpha$ -キモトリプシントローチ剤、カルクレインカプセル、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ散剤、および2種類のプロメライン錠剤の各製剤について、数水準の温度条件で酵素活性の経時的変化を測定した。6種類の製剤は、いずれも複雑な速度論の失活を示したが、10%失活するのに要する時間 ( $t_{90}$ ) の逆数のアレニウスプロットはほぼ直線的であり、みかけの活性化エネルギーは11.6~17.9 kcal/molの範囲内であった。またアレニウスプロットにみられる変動は、不均一系製剤における低分子量薬物の分解において通常みられる変動と同程度であった。これらの結果は、タンパク質製剤についても加速試験によって有効期間を大まかに予測できることを示すものと考えられる。

**Keywords** : accelerated testing, shelf-life, protein preparation

Yoshioka, S., Tsunakawa, N.\*<sup>1</sup>, Matsuo, M.\*<sup>2</sup>, Aso, Y., Kojima, S., Takeda, Y. and Terao, T.: **Quinine actinometry as a method for calibrating ultraviolet radiation intensity in light-stability testing of pharmaceuticals**

*Drug Develop. Ind. Pharm.*, 20, 2049~2062 (1994)

医薬品の光安定性試験で用いられる光源について、

紫外線強度を測定するための普遍的な標準方法として塩酸キニーネを用いたアクチノメトリーを検討した。塩酸キニーネ水溶液の400 nmにおける吸光度は、近紫外蛍光灯、白色蛍光灯、メタルハライドランプおよびキセノンランプなどの光源から発する紫外線の総エネルギー量に比例して増大することが示され、キニーネアクチノメトリーは、330 nm付近の紫外線の強度を簡便にしかも精度よく測定できることが明らかになった。しかし、ニフェジピンなどキニーネと異なる吸収スペクトルを示す薬物の光分解をキニーネアクチノメトリーを用いて量的に評価することはできず、また波長分布の異なる光源間の光量の比較を行うこともできない問題点が明らかにされた。光安定性試験に用いる光源の波長分布が国際的に調和された場合には、キニーネアクチノメトリーが標準方法として有用であることが示された。

**Keywords** : quinine actinometry, light-stability, ultraviolet radiation

\*<sup>1</sup> 東薬工

\*<sup>2</sup> 大薬協

Su, X. Y.\*, Li Wan Po, A.\* and Yoshioka, S.: **Predicting shelf-lives of pharmaceutical products, Monte Carlo simulation using the simulation package SIMAN**

*J. Therm. Anal.*, **41**, 713~724 (1994)

医薬品の有効期間は、ある一つの加速温度条件に、ある期間おかれた医薬品が示す分解率の一つのデータだけに基づいても、活性化エネルギーが既知であれば推定することができるが、その推定値は通常非常に大きな誤差を含む。少数の測定データから信頼性の高い有効期間を推定する方法として、少数の分解率のデータから計算した分解速度の分散を用いて多数の分解率データをシミュレーションするモンテカルロ法を検討した。モンテカルロ法では95%信頼限界の中が小さい推定値を得ることができ、有効期間を小さく見積もりすぎるリスクを少なくできることが示され、医薬品の有効期間の推定法として有用であることが明らかになった。

**Keywords** : prediction, shelf-life, monte carlo simulation

\* The University of Nottingham, UK

Yoshioka, S., Aso, Y., Izutsu, K. and Kojima, S.: **Is stability prediction possible for protein drugs? Denaturation kinetics of  $\beta$ -Galactosidase in Solution**

*Pharm. Res.*, **11**, 1721~1725 (1994)

水溶液中における $\beta$ -ガラクトシダーゼの変性および凝集の速度論を検討した。変性は1次式に従うのに対し、凝集は1より大きい反応次数を示した。変性は不可逆であり、2種類のアイソエンザイムがそれぞれ異なった速度で変性する速度論モデルにフィットした。速度定数はアレニウスプロットで直線を与え、アイリング式によって推定した活性化エンタルピーは通常の低分子量薬物の分解より著しく大

きな値を示した。タンパク質医薬品の変性は速度論的解析が不可能であると考えられてきたが、それは活性化エンタルピーが高いためであり、本質的にはアイリング式に基づく速度論的解析が可能であることが明らかになった。

**Keywords** : stability prediction, denaturation,  $\beta$ -galactosidase.

Su, X. Y.\*, Li Wan Po, A.\* and Yoshioka, S.: **Bayesian Approach to Arrhenius Prediction of Shelf-life**

*Pharm. Res.*, **11**, 1462~1466 (1994)

タンパク質製剤やDDSの化学的あるいは物理的な変化に関しては、加速試験において大きな誤差を含んだデータが得られることがしばしばあり、これらの製剤の有効期間を最小二乗法によって予測すると、信頼限界が非常に広い推定値が得られることが多い。このような場合に適用できる信頼性の高い推定法としてベイズ法を検討した。ビタミンAおよびインドメタシンの分解データに基づいてベイズ法による有効期間の推定を行った結果、誤差が正規分布を示さない加速試験データから有効期間を予測する場合には、最小二乗法よりベイズ法の方が、信頼限界の狭い推定値を与えることが示された。ベイズ法は最小二乗法に比較して煩雑な計算を要するが、歪んだ誤差分布を示す製剤の有効期間の予測には有用であることが明らかになった。

**Keywords** : shelf-life, prediction, monte carlo simulation.

\* The University of Nottingham, UK

Aso, Y., Yoshioka, S., LiWanPo A.\* and Terao, T.: **Effect of temperature on mechanism of drug release and matrix degradation of poly (D, L-lactide) microspheres**

*J. Controlled Rel.*, **31**, 33~39 (1994)

ガラス転移温度 (Tg) の異なるポリ (D, L-) 乳酸を用いて調製したマイクロスフェアからの薬物放出特性とマイクロスフェアを構成する高分子の分解を種々の温度において検討した。マトリックスのTg以上の温度条件では高分子の分解はマトリックス全体で起こり、薬物放出速度はマトリックス内の薬物の拡散が支配するのに対して、Tg以下においては分解は主にマトリックス表面に限定され、マトリックス表面での高分子の分解溶出に伴って薬物が放出されることが明らかとなり、マトリックスのTgがポリ (D, L-) 乳酸マイクロスフェアの放出制御機能を支配する重要な因子であることが明らかとなった。

**Keywords** : glass transition temperature, release rate, degradation

\* The Queen's University of Nottingham, UK

Aso, Y., Yoshioka, S. and Terao, T.: **Effect of storage on the physicochemical properties and release characteristics of progesterone-loaded**

**poly (l-lactide) microspheres II***Int. J. Pharm.*, 115, 133~134 (1995)

プロゲステロンを内包したポリ (L-) 乳酸マイクロスフェアをマトリックスのガラス転移温度 (T<sub>g</sub>) 以下の温度条件で保存した場合の薬物放出速度の上昇が放出試験液中の T<sub>g</sub> の低下に相関することを明らかにした。

**Keywords** : stability, glass transition temperature, release rate

Aso, Y., Yoshioka, S., Otsuka T. and Kojima S.: **The physical stability of amorphous nifedipine determined by isothermal microcalorimetry**

*Chem. Pharm. Bull.*, 43, 300~303 (1995)

融解後液体窒素中で急冷することにより調製したニフェジピンの非晶質体の結晶化速度を等温マイクロ熱量計により観測される発熱の時間変化から算出し、結晶化速度に及ぼす温度および湿度の影響を検討した。結晶化速度は温度が高いほど大きく、湿度が高いほど大きかった。ガラス転移温度 (T<sub>g</sub>) は湿度が高いほど低下した。温度を変えて測定した結晶化速度を Williams, Landel, Ferry の式 (WLF 式) にしたがってプロットすると直線が得られ、結晶化速度が WLF 式にフィットすることが明らかとなった。湿度を変えて測定した結晶化速度も T<sub>g</sub> を変数とすることにより WLF 式にフィットした。結晶化速度に及ぼす温度および湿度の影響を解析する上で WLF 式が有用であることが示された。

**Keywords** : glass transition temperature, nifedipine, crystallization

Izutsu, K., Yoshioka, S. and Terao, T.: **Stabilizing effect of amphiphilic excipients on the freeze-thawing and freeze-drying of lactate dehydrogenase**

*Biotechnol. Bioeng.*, 43, 1102~1107 (1994)

乳酸脱水素酵素 (LDH) 凍結融解および凍結乾燥時の失活が低濃度の非イオン性界面活性剤やポリエチレングリコール等両親媒性物質で抑制された。これらの添加剤が変性したタンパク質のリフォールディングを促進するとの報告があること、安定化作用が糖類などに比べ低い濃度から見られることから、一般の保護剤とは異なる安定化メカニズムが考えられる。

**Keywords** : freeze-drying, stabilization, excipients

Izutsu, K., Yoshioka, S. and Kojima, S.: **Physical stability and protein stability of freeze-dried cakes during storage at elevated temperatures**

*Pharm. Res.*, 11, 995~999 (1994)

タンパク質凍結乾燥品の物理的状態の安定性とタンパク質の安定性の関係を明らかにする目的で、モデルタンパク質 ( $\beta$ -galactosidase) と保護剤 (イノシトール) を含む凍結乾燥品を作成し、高温保存

前後の試料について外観観察、熱分析と粉末 X 線回折によるイノシトール結晶性の検討、酵素活性の測定を行った。40~70°C で保存では保存温度の上昇とともに凍結乾燥 cake 構造の崩壊とアモルファス状態であったイノシトールの結晶化が観察された。構造の崩壊のみが酵素活性に与えた影響は少なかったが、イノシトールが結晶化した試料では活性の大幅な減少がみられ、結晶化による保護作用の消失が示された。凍結乾燥前のイノシトールや緩衝液濃度の調整、または水溶性高分子の添加によりイノシトール結晶化が抑制され酵素活性も保持されることから、物理的安定性の制御がタンパク質安定化につながることを示された。

**Keywords** : freeze-drying, stabilization, excipients

石橋無味雄, 小松祐明, 岡田敏史, 寺尾允男: **赤外吸収スペクトル測定法への参照スペクトル法の応用 (I)**

*医薬品研究*, 25(4), 291~294 (1994)

日局各条の確認試験に赤外吸収スペクトル法を用いるとき、従来は 4~5 点の特定波数を各条に記載しておき、試料を測定して得たスペクトルにそれらの波数の吸収があれば確認試験が成立した。しかし、この方法の信頼性と確実性は標準品のスペクトルまたは参照赤外スペクトルと試料のスペクトルを比較して確認する方法に比べて劣る。そこで日本薬局方においても参照赤外スペクトルを示し、試料のスペクトルと比較して確認する方法を採用することを検討した。まず始めにスペクトルデータが繰り返して将来に渡り使用できるようにデータ処理方法を検討し、JCAMP を用いて、ディスクに格納する方法を確立した。これにより測定に用いた赤外分光光度計と異なる赤外分光光度計でディスクのデータを読み込んでスペクトルを書き出すことや、ディスクに格納されたデータを標準として確認試験を行うことも可能になった。次に、このデータ処理に基づき第 12 改正日局およびその通補の各条で確認試験に用いる医薬品の参照赤外吸収スペクトルを作成した。

**Keywords** : IR, JP, JCAMP

最所和宏, 長谷川康行\*, 佐伯政信\*, 豊田正武, 斎藤行生: **低沸点有機塩素化合物のムラサキガイおよびヒメダカへの蓄積**

*衛生化学*, 40(3), 274~278 (1994)

低沸点有機塩素化合物 (VCHs) である 1,1,1-トリクロロエタン (MC), 四塩化炭素 (CTC), トリクロロエチレン (TCE), テトラクロロエチレン (PCE) に対する環境指標生物を検索する目的で、海水産生物としてムラサキガイ, 淡水産生物としてヒメダカにおける生物濃縮について検討した。ムラサキガイ中の VCHs は考案した簡易パーティラップ装置にて測定した。VCHs の濃度は ECD-GC にて定量した。ヒメダカ中の VCHs の添加回収実験を行い、81.1% (MC), 72.7% (CTC), 80.1% (TCE), 75.8% (PCE) の回収率で良好に測定

できた。ムラサキイガイとヒメダカはそれぞれ8日間と21日間のVCHs (5~100 ppb) 暴露を行った。ムラサキイガイの生物濃縮係数はMC 2.95, TCE 4.52, PCE 25.7となりまた、ヒメダカの生物濃縮係数はMC 2.54, CTC 3.49, TCE 2.71, PCE 13.42となった。ムラサキイガイとヒメダカ両生物ともにPCEを蓄積すると考えられる。両生物中のVCHs濃度をモニターすればVCHsによる水の環境汚染の情報が簡便に得られるであろう。

**Keywords:** bioaccumulation, mytilus edulis, oryzias latipes

\* 千葉県衛生研究所

Nakahara, Y., Kikura, R. and Takahashi, K.: **Hair analysis for drug abuse: VIII. Effective extraction and determination of 6-acetylmorphine and morphine in hair with trifluoroacetic acid-methanol for the confirmation of retrospective heroin use by GC/MS**

*J. Chromatogr.*, B657, 93~101 (1994)

ラットとヒトの毛髪中の6-アセチルモルヒネとモルヒネの検出・定量法を報告した。毛髪からの6-アセチルモルヒネとモルヒネの抽出効率を5種の方法、メタノール、0.1 N 塩酸、メタノール-5 N 塩酸 (20:1)、ヘリカーゼ処理およびメタノール-トリフルオロ酢酸 (TFA) (9:1)、で検討した。その結果、メタノール-TFAが6-アセチルモルヒネの加水分解を最小限に抑え、最高の抽出効率をもたらした。毛髪試料をメタノール-TFA抽出後、抽出物は固相カラムで精製し、更にシリル化して、GC/MSで定量・確認した。本法の検量線は0.1から50 ng/mgの範囲で良好な直線性を示した。毛髪からの回収率は6-アセチルモルヒネで95%、モルヒネで97%であった。確認限界はいずれも0.2 ng/mgであり、相対標準偏差は8%以下であった。本法をヘロイン乱用者の毛髪分析に応用し、過去の乱用の実態を明らかにした。

**Keywords:** heroin, morphine, hair analysis

Kikura, R. and Nakahara, Y.: **Hair analysis for drug abuse: IX. Comparison between deprenyl use and methamphetamine use by hair analysis**

*Biol. Pharm. Bull.*, 18, 267~272 (1995)

ラットおよびヒトの毛髪中のデプレニール (DPN) とその代謝物、デスマチルデプレニール (DM-DPN)、メタンフェタミン (MA) およびアンフェタミン (AP)、をGC/MS-SIMで分析した。塩酸DPNをラットに10日間腹腔内投与し、個々の薬物の血漿中AUC値と4週間で新たに生えた毛髪中の個々の薬物濃度との比を求めたところ、DPN:DM-DPN:MA:AP=0.05:0.02:0.3:0.2であった。この結果からDPNとDM-DPNの血中から毛髪への取込率はMA、APに比べ著しく低く、約1/10程度であることが示唆された。本法を用いて塩酸DPNを毎日15 mgを5日間摂取した

ヒトの頭髪および尿中の代謝物を測定した。初回投与3週間後に採取した頭髪中には、DPN (trace level)、DM-DPN (0.17~0.29 ng/mg)、MA (1.30~2.25 ng/mg) およびAP (0.42~0.99 ng/mg) が検出された。一方、尿中には24時間以内ではDPNおよびDM-DPNは検出されたが、消失が速く、24時間以後は検出不能であった。頭髪中のDPNとDM-DPNを検出することにより、過去に遡ってDPN使用とMA使用の識別が可能であることが実証された。

**Keywords:** deprenyl, methamphetamine, hair analysis

Nakahara, Y., Kikura, R., Takahashi, K. and Konuma, K.\*: **GC/MS analysis of drugs and metabolites in hair for diagnosis of chronic methamphetamine abuse**

*Adv. in Chem. Diagn. Treat. of Met. Diseases.*, 2, 187~199 (1994)

26名の覚せい剤乱用者の毛髪を根元側から1 cm毎の分画にして、各分画中のメタンフェタミン (MA) および代謝物のアンフェタミン (AP) を定量し、その比 (AP/MA) を求めたところ、連用の期間が長くなるに従いその比の値が上昇することを見出した。特に、根元の分画のAP/MA比は医師の覚せい剤依存症の診断 (重症、中間、軽症) と関連があることを見いだした。医師の診断が重症の場合、AP/MA比は12%以上、中間の場合は8~12%、軽症の場合は8%以下の分類と多くの場合一致し、その一致率は85%を超えた。毛髪による覚せい剤依存症の診断の可能性を提示した。

**Keywords:** hair analysis, methamphetamine dependency, diagnosis of drug dependence

\* 国立下総療養所

Nakahara, Y.: **Detection and diagnostic interpretation of amphetamines in Hair**

*Forensic Sci. Inter.*, 70, 135~153 (1995)

毛髪中のアンフェタミン類の検出と分布について検討した結果を述べた。検出対象薬物は主に、アンフェタミンおよびメタンフェタミンで、その他に、メトキシフェタミン、メチレンジオキシメタンフェタミン、プロモメタンフェタミン、デプレニール、ベンツフェタミン、フェンプロボレックス、メフェノレックスなどを含んでいる。最初に、毛髪中のアンフェタミン類の検出法を詳細に述べ、次に動物実験、毛髪への薬物の取込の規則性、毛髪中の薬物分布パターンからの薬物歴の解明を解説した。最後に、毛髪分析による覚せい剤依存症の診断法を示し、日本で初めての覚せい剤ベイビーの発生を毛髪分析により確認した。

**Keywords:** hair analysis, amphetamines, drug abuse

Sekine, H.\*, Nagao, S. and Nakahara, Y.: **Abuse of Smoking Methamphetamine Mixed**

**with Tobacco:III. Urinary metabolites of CMMA, a pyrolysis product by smoking methamphetamine in tobacco, and species difference between Rat and Mice**

*Xenobiotica*, 25, 49~58 (1995)

N-シアノメチルメタンフェタミン (CMMA) はメタンフェタミン (MA) をラットおよびマウスに腹腔内投与 (1, 3, 10 mg/kg) し, CMMA の尿中代謝物を GC/MS で分析するとともに, MA の代謝物と比較した。N-フォルミルメタンフェタミン (FMA) が CMMA に特異的な代謝物として, ラットおよびマウス尿中に検出されたが, ラット尿中の FMA はマウス尿中のそれより 4 倍以上高く, ラット尿中の主代謝物であった。FMA を除く CMMA 他の塩基性代謝物は, MA, アンフェタミン (AP), *p*-ヒドロキシメタンフェタミンおよび *p*-ヒドロキシアンフェタミンであった。両動物ともに, CMMA の尿中代謝物排泄パターンは FMA を除き MA のそれと類似していたが, FMA と水酸化代謝物の排泄量に関してはラットとマウスで種差が見られた。覚せい剤をたばこに混ぜて乱用していた被疑者の尿に微量ながら FMA を検出した。

**Keywords**: hair analysis, methamphetamine abuse, excretion into beard

\* 埼玉県警科捜研

**Said, A. A., Morimoto, K., Uchida, E., Kawasaki, N., Hibi, K., Izaki, Y. and Hayakawa, T.: The loss of in vivo activity of recombinant human erythropoietin by active oxygen species**

*Free Rad. Res.*, 22, 229~238 (1995)

生理活性糖タンパク質に及ぼす活性酸素の影響を検討する目的で, ヒト組換え型エリスロポエチン (rhEPO) を活性酸素で処理したところ *in vivo* 生物活性が処理濃度に依存して低下した。ヒドロキシルラジカルを生成させる Fenton 系で処理すると,  $H_2O_2$  の濃度 (0.0016~0.16 mM) に依存して活性が低下し, 0.16 mM  $H_2O_2$  では, EPO 活性は 80% 以上失われた。またスーパーオキシドアニオンを産生するキサンチン-キサンチンオキシダーゼ (XO) 処理においても, EPO 活性が低下した。一方, 種々の濃度の  $H_2O_2$  のみにて EPO を処理し, *in vivo* 活性を測定すると, 1.6 mM でようやく約 20% の活性が失われ, 活性酸素に比して EPO の失活の程度は弱かった。活性酸素の処理濃度に依存して, SDS-PAGE における EPO バンドは減少した。また, rhEPO に最も多く含まれる N-アセチルラクトサミン型 4 本鎖糖鎖のピリジルアミノ (PA) 誘導体を活性酸素で処理すると,  $H_2O_2$  や XO の濃度に依存して PA-糖鎖の HPLC 上でのピークの残存率が低下することを見いだした。活性酸素は糖鎖よりはピリジルアミノ基と反応して蛍光を消失したものと考えられ, タンパク質の芳香族基が反応の標的分子であることが示唆された。

**Keywords**: erythropoietin, active oxygen spec-

ies, pyridylamino sugar chain

**Kawasaki, N., Tanimoto, T., Tanaka, A., Hayakawa, T. and Miyasaka, N.\*: Determination of non-protein-bound iron in human synovial fluid by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection**

*J. Chromatogr. B*, 656, 436~440 (1994)

電気化学検出器を用いた HPLC 法により, リウマチ患者の関節液中に, 生体に障害を与えるヒドロキシルラジカル生成に関与するタンパク質非結合鉄が存在することを明らかにした。さらに, 関節液中の鉄の動態について検討し, 鉄は, 低 pH 下,  $O_2^{2-}$  によってフェリチンまたはトランスフェリンから遊離されることが示唆された。また, 消炎酵素であるスーパーオキシドジスムターゼは, 関節液中の鉄の遊離を抑制することが見いだされた。

**Keywords**: non-protein-bound iron, synovial fluid, HPLC-EC

\* 東京医科歯科大学

**Asakura, A.\*, Kikuchi, M.\*, Uchida, E., Hayakawa, T. and Ota, Y.\*: The enhancement of the extracellular carboxyl-terminal domain of human growth hormone receptor on growth hormone dependent responses of 3T3-F442A cells**

*Biomed. & Pharmacother.*, 48, 35~39 (1994)

サイトカイン受容体との相同領域である, ヒト成長ホルモン受容体の細胞外領域 C 末端側ドメイン (C ドメイン) を, マルトース結合蛋白との融合蛋白として大腸菌で発現させた。第 Xa 因子で切断後, C ドメインを単量体として精製した。得られた C ドメインは NMR スペクトルおよび遠紫外 CD スペクトルにより正しく folding していることを確認した。この C ドメインはリガンド結合活性は示さなかった。しかし, C ドメインには成長ホルモンにより誘導される 3T3-F442A 細胞の脂肪細胞への分化と 34 kDa の膜蛋白質のリン酸化に対して促進的作用を有することが見いだされた。

**Keywords**: human growth hormone receptor, extracellular domain, adipose conversion assay

\* 蛋白質工学研究所

**谷本 剛, 横田 椅江, 早川 堯夫: 日局「トロンピン」の定量法の改良に関する研究**

医薬品研究, 25, 988~991 (1994)

現行の日局「トロンピン」の定量法はフィブリノーゲンからのフィブリンの生成を凝固時間として測定するものであるが, 操作が煩雑であり, 測定値のバラツキが大きく, 精度が悪い。そこで, これらの問題点を解決する目的で以下について検討した。(1) 測定に用いるガラス容器へのトロンピンの吸着を防ぐためにシリコン処理をしたガラス容器を用いたところ, 凝固時間が 2/3 に短縮した。(2) トロンピン



を生理食塩液に溶かした試料溶液について、安定性の検討のため25℃保存と5℃保存を比べたところ、時間経過に応じた凝固時間延長は5℃保存が小さかった。(3)試料溶液の安定性を増す目的で試料溶液を0.1%牛血清アルブミン含有生理食塩液で調製したところ、25℃保存でも5℃保存でも同様に長時間安定であった。以上の結果に基づいて、ガラス容器のシリコン皮膜処理、および牛血清アルブミン含有生理食塩液の使用の2点を盛り込んだトロンビン定量法改正試案を提示した。

**Keywords** : japanese pharmacopeia, thrombin

Fukuoka, M., Kobayashi, T. and Hayakawa, T.: **Mechanism of testicular atrophy induced by di-n-butyl phthalate in rats. VI. A possible origin of testicular iron depletion**

*Biol. Pharm. Bull.*, 17, 1609~1612 (1994)

本研究は、フタル酸ジブチルエステルによる精巣中の鉄の減少を引き起こす原因を究明する目的で、血液中の鉄の変動を調べた。その結果、赤血球中のグルタチオンおよびメトヘモグロビン還元酵素活性の減少とHeinz小体の形成および鉄の遊離が観察され、赤血球が減少することが判明した。

**Keywords** : testicular iron, dibutyl phthalate, GSH, erythrocyte

Fukuoka, M., Kobayashi, T., Zhou, Y.\*<sup>1</sup>, Ike-moto, I.\*<sup>2</sup>, Niimi, S., Tanaka, A.\*<sup>3</sup> and Hayakawa, T.: **Mechanism of testicular damage by phthalic acid esters**

*Jpn. J. Toxicol. Environ. Health.*, 41, p. 34 (1994)

本研究では、フタル酸エステルによる精巣障害のメカニズムを精巣構成成分の変化、精子細胞の運動性、精子形成に関する酵素活性とエネルギー源およびそれに関する代謝酵素の活性等から検討し、また、精巣中の鉄欠乏とフタル酸エステル処理赤血球と肝非実質細胞による除去との関係を報告している。

**Keywords** : phthalates, enzyme activity, sloughing

\*<sup>1</sup> 現在、静岡県立大学

\*<sup>2</sup> 東京慈恵会医科大学

\*<sup>3</sup> 現在、昭和薬科大学

Fukuoka, M., Kiyohara, T.\*<sup>1</sup>, Kobayashi, T., Kojima, S., Tanaka, A. and Kubodera, A.\*<sup>2</sup>: **Synthesis and preclinical evaluation of technetium-<sup>99m</sup>-labeled hippurate analogues**

*Nucl. Med. Biol.*, 22, 181~191 (1995)

本研究は、腎シンチグラム診断薬の安全性評価の観点から腎臓に高い集積性を持ち、しかも蓄積性のない診断薬を開発する目的で、7種類の<sup>99m</sup>Tc標識馬尿酸誘導体を合成し、<sup>99m</sup>Tc-ジメルカプトコハク酸(DMSA)および<sup>99m</sup>Tc-メルカプトアセチルトリグルシン(MAG3)との比較を動物実験で行った。<sup>99m</sup>Tc-サリチルグルシンは本研究の目的に合致した化合物で、腎形態学および腎血流量の測

定等に有望視されることが判明した。

**Keywords** : DMSA, MAG3, renal scintigraph

\* 東京理科大学

尾寄 誠\*<sup>1</sup>, 岡本誉充\*<sup>1</sup>, 奈良良昭\*<sup>1</sup>, 神田博史\*<sup>1</sup>, 藤野広春\*<sup>2</sup>, 鈴木正一\*<sup>2</sup>, 吉崎正雄\*<sup>2</sup>, 佐竹元吉: **イトヒメハギ (*Polygala tenuifolia*) の多芽体誘導による大量増殖**

植物組織培養, 12(1), 97~98 (1995)

去痰作用のある遠志の基原植物イトヒメハギ(*Polygala tenuifolia*)の種子の採取は完熟時期が不揃いのため困難である。今回、少数の種子から多数の苗を作ることに成功した。種子から無菌的に発芽させた植物の葉を切断し、培養して不定芽を誘導した。この不定芽から多芽を形成する培地条件を検討したところ、NAAとBAの組み合わせで、多芽形成がみられた。この芽を発根させ、土壌に植え付け、生育させることができた。

**Keywords** : *polygala tenuifolia*, tissue culture, polygalaceae

\*<sup>1</sup> 広島大学医学部附属薬草園

\*<sup>2</sup> 富山医科薬科大学附属薬草園

Okuyama, E.\*, Umeyama, K.\*, Higueru Ohmori, S.\*, Yamazaki, M.\* and Satake, M.: **Pharmacologically active components from Peruvian medicinal plant, Huira-Huira (*Cylcitium canescens* H. & B.)**

*Chem. Pharm. Bull.*, 42(10), 2183~2186 (1994)

“ウイラ-ウイラ”はキク科の植物*Cylcitium canescens* H. & B.の全草で、ペルーの伝統生薬である。この生薬の鎮静作用および無痛作用を試験したところ、作用物質としてdehydrocacalohastine, cacalohastineおよびcacalonolであることが証明された。

**Keywords** : *cylcitium canescens*, dehydrocacalohastine, huira-huira

\* 千葉大学薬学部

Ozaki, Y., Ohno, A.\*, Saito, Y.\* and Satake, M.: **Accelerative effects of shikonin, alkannin and acetylshikonin on the proliferation of granulation tissue in rats**

*Biol. Pharm. Bull.*, 17, 1075~1077 (1994)

臨床で切り傷、火傷、しもやけ等の治療によく用いられている漢方薬の紫雲膏の構成生薬である紫根に含まれる成分でnaphthoquinone誘導体であり、さらに、光学異性体であるshikonin, alkaninおよびこれら化合物の水酸基がアセチル化したacetylshikoninの肉芽組織形成促進作用の効力比較をラットでの綿球法を用いて検討した。これら化合物の局所投与はほぼ同程度の効力で肉芽組織形成を促進させた。これらのことから、肉芽組織形成促進作用の発現には光学異性体の相違、また、化学構造における水酸基のアセチル化はあまり影響しないことが明らかとなった。

**Keywords** : shikonin, alkannin, granulation tissue proliferation

\* 鐘紡漢方研究所

Ozaki, Y.: **Studies on antiinflammatory effect of Japanese oriental medicines (Kampo Medicines) used to treat inflammatory diseases**  
*Biol. Pharm. Bull.*, 18, 559~562 (1995)

漢方薬で種々炎症の治療に用いられている処方を選び(葛根湯, 葛根黄連黄芩湯, 桔梗湯, 排膿湯, 排膿散, 千金鶏鳴散), マウスでの酢酸誘発色素透過性亢進に対する作用, ラットでのカラゲニン誘発浮腫および綿球誘発肉芽組織形成に対する作用などの抗炎症作用を検討した。これら漢方薬の中で, 桔梗湯, 排膿湯および排膿散が比較的強い抗炎症作用を示した。この抗炎症作用は, 炎症過程での比較的早い過程, さらに, 遅い過程で抑制作用を発現していることが考えられた。また, 桔梗湯, 排膿湯および排膿散はその処方の構成生薬として桔梗を含むことから, 抗炎症作用の発現には桔梗が重要な役割を演じていることが考えられた。

**Keywords** : kampo medicine, antiinflammatory effect, platycodon root

Ono, K., Tsujimoto, G.\*<sup>1</sup>, Sakamoto, A.\*<sup>1</sup>, Eto, K.\*<sup>1</sup>, Masaki, T.\*<sup>2</sup>, Ozaki, Y. and Satake, M.: **Endothelin-A receptor mediates cardiac inhibition by regulating calcium and potassium currents**

*Nature*, 370, 301~304 (1994)

エンドセリンがET<sub>A</sub>受容体を介した心拍数抑制作用を有すること, それには膜電位依存性カルシウム電流の抑制およびアセチルコリン性カリウム電流の活性化が関与することを発見し, さらにそれらに関わる細胞内情報伝達機序を明らかにした。培養血管内皮細胞より発見された生理活性ペプチド, エンドセリンはこれまで心臓に対して強力な心拍数増大, 心収縮力増大作用を持つことが数多く報告されてきたが, その詳細なイオン機序は不明であった。また, エンドセリン受容体にはET<sub>A</sub>およびET<sub>B</sub>の2種のサブタイプの存在が知られているが, エンドセリンの心臓作用にどちらの受容体サブタイプが関与するのかが不明であった。本研究では, エンドセリン-A受容体がこれまで知られていたのとは逆の心拍抑制作用をmediateすることを初めて明らかにし, 心機能調節におけるエンドセリンの生理的役割を明確にした。

**Keywords** : endothelin, calcium channel, potassium channel

\*<sup>1</sup> 国立小児病院小児薬理

\*<sup>2</sup> 京都大学医学部

Ono, K., Eto, K.\*<sup>1</sup>, Sakamoto, A.\*<sup>2</sup>, Masaki, T.\*<sup>3</sup>, Shibata, K.\*<sup>2</sup>, Sada, T.\*<sup>2</sup>, Hashimoto, K.\*<sup>1</sup> and Tsujimoto, G.\*<sup>2</sup>: **Negative chronotropic effect of endothelin 1 mediated through ET<sub>A</sub>**

**receptors in guinea pig atria**

*Circulation Research*, 76, 284~292 (1995)

エンドセリン-1 (ET-1) がET<sub>A</sub>受容体を介して強力な心拍数抑制作用を現すことを発見し, その詳細な細胞内情報伝達機序をモルモット心房筋標本を用いて薬理学的および生化学的に明らかにした。まず, 結合実験によりモルモット心房筋各部位におけるエンドセリン A, B 各受容体の存在比を明らかにした (ET<sub>A</sub>:ET<sub>B</sub>=1:1 (右心房, 左心房), 1:2 (心室))。次に, ET-1, ET-3, Sarafotoxin S6CのうちET-1のみが比較的高濃度域で強力な心拍数抑制作用を有することを見出し, 定量的解析を行った。また, 同じくET-1のみが交感神経β受容体刺激薬 isoproterenolにより増大した心拍数を有意に減少させた。このときET-1は組織cAMP含量の増大を有意に抑制した。この心拍抑制作用およびcAMP産生抑制作用はともにET<sub>A</sub>受容体選択的阻害薬 BQ 123 (1 μM)により完全に遮断された。PTX処置 (5 μg/100 body wt., 60-72 hours)により40 kDa相当の膜蛋白が特異的にADPリボシル化され, この条件下, ET-1による心拍数減少作用, cAMP減少作用はともに消失した。これらの事実より, ET-1の心拍数抑制作用がET<sub>A</sub>受容体を介し, PTX感受性のG蛋白質を介してcAMP産生の抑制を起こすことにより発現することが明らかとなった。

**Keywords** : endothelin, heart rate, ET<sub>A</sub> receptor

\*<sup>1</sup> 山梨医科大学

\*<sup>2</sup> 国立小児病院小児薬理

\*<sup>3</sup> 京都大学医学部

鈴木英世, 佐竹元吉: **医薬品添加物と抽出溶媒の種類が漢方製剤のエキス含量に及ぼす影響**

*医薬品研究*, 25, 868~873 (1994)

漢方製剤のエキス含量試験について, 分析法バリデーションの考え方を導入した。まず, 製剤からエキスの平均抽出率 (MER) というパラメーターを設定し, 市販製剤50種を調べた。その結果, MERが100%を大きく超える時には, 医薬品添加物を多く含むエキスを測定していること, およびMERが低い時には, エキス含量の規格の維持が困難であることを明らかにした。特に, 医薬品添加物と抽出溶媒の種類がMERや溶出性に及ぼす影響を検討し, 以下の結論を得た。1) 試験溶媒として, 製剤に配合されるすべての医薬品添加物の混合物について溶解性の試験を実施し, 溶出の少ないものから選ぶべきである。2) 製剤および製剤に配合する原エキスの乾燥物について同じエキス含量の試験を行い, 両者の値が大きく異なる試験法の設定は好ましくない。

**Keywords** : extract content, mean extraction rate, kampo-medicine preparation

Kawahara, N., Sekita, S. and Satake, M.: **Steroids from *Calvatia cyathiformis***  
*Phytochemistry*, 37, 213~215 (1994)

中国で用いられている菌類生薬の一種である紫色

馬勃 *Calvatia cyathiformis* の成分検索を行った。既に報告しているように、乾燥子実体塩化メチレン抽出エキスはステロイド成分を多く含有しており、新規ステロイド二量体 calvasterone を単離し構造決定している。さらに、エキス中に共存する化合物について LCLP を用いて精査したところ、構造既知の2種類のエルゴステロール誘導体の他に、新たに cyathisterrone, cyathisterol と名付けた2種類のステロイドを見出した。これらの化合物は二次元 NMR を中心とする各スペクトルデータの検討および化学変換反応から立体構造を含めてそれぞれ、ergosta-7,22-diene-3,6-dione, 8 $\beta$ -hydroxyergosta-4,6,22-trien-3-one と決定した。

**Keywords:** cyathisterrone, cyathisterol, *calvatia cyathiformis*

Kawahara, N., Sekita, S., Satake, M., Udagawa, S.\*<sup>1</sup> and Kawai, K.\*<sup>2</sup>: Structures of a new dihydroxanthone derivative, nidulalin A, and a new benzophenone derivative, nidulalin B, from *Emericella nidulans*

*Chem. Pharm. Bull.*, 42, 1720~1723 (1994)

マイコトキシン検索の一環としてインドネシア産生薬コロハに付着する真菌 *Emericella nidulans* の代謝産物について検討した。同菌株の塩化メチレン抽出エキスは M1 細胞に対し強い毒性を示したことから含有成分の分離、精製を行ったところ、発癌物質として知られている sterigmatocystin, emestrin を単離同定するとともに、nidulalin A, B と命名した新規化合物を得た。二次元 NMR により前者はジヒドロキサンチン骨格を有する化合物であり、Mosher 変法を用いた CD 測定、X 線構造解析から絶対構造を含めた化学構造を決定した。後者については、二次元 NMR ならびに化学変換反応によりベンゾフェノン骨格を有する化学構造を明らかにした。この変換反応は両者の生合性を考える上で重要な役割を示すものである。

**Keywords:** nidulalin A, nidulalin B, *mericella nidulans*

\*<sup>1</sup> 東京農業大学

\*<sup>2</sup> 星薬科大学

Mizuno, R.\*<sup>1</sup>, Kawahara, N., Nozawa, K.\*<sup>1</sup>, Yamazaki, M.\*<sup>2</sup>, Nakajima, S.\*<sup>1</sup> and Kawai, K.\*<sup>1</sup>: Stereochemistry of an 8,22-cyclosterol, mer-nf8054x, from *Emericella heterothallica* and *Aspergillus ustus*

*Chem. Pharm. Bull.*, 43, 9~11 (1995)

*Aspergillus ustus* の代謝産物である mer-nf8054x は、*Aspergillus fumigatus* に対して抗菌活性を示し、その平面構造は 8,22-cyclosterol であると報告されている。*Emericella heterothallica* はヒスタミン遊離抑制活性を示す数種のエピジチオジオキシピペラジン類を生産しているが、この菌株から同時に mer-nf8054x が得られたので、二次元 NMR, CD スペクトル, X 線構造解析を行い、その絶対構造

を 11-oxo-18,22-cycloergosta-6,8(14)-diene-3 $\beta$ ,5 $\beta$ ,9 $\beta$ ,23S-tetraol と決定した。

**Keywords:** *mericella heterothallica*, histamine, release

\*<sup>1</sup> 星薬科大学

\*<sup>2</sup> 千葉大学薬学部

Hayashi, Y. and Matsuda, R.: Influence of integration domain on precision of measurements in liquid chromatography

*Anal. Sci.*, 10, 553~559 (1994)

クロマトグラフィでは、ピークシグナルの積分を測定値としている。ピークを幅(標準偏差)  $s$  のガウス型とすると、通常は、 $\pm 3s$  の範囲を積分する。この測定をくり返したときの測定値のバラツキ(標準偏差)は、ピークの全面積の積分( $\pm 3s$ )よりもピークの最高点の周辺、 $\pm 1.4s$  の方が小さいことを示した。つまり、広い範囲の全面積のピーク積分よりも、ピークの最高点を中心にした狭い範囲の積分の方が測定値の精度が高い。この論文では、積分区間と測定値の精度の関係を調べた。

**Keywords:** integration, precision, chromatography

Hayashi, Y. and Matsuda, R.: Deductive prediction of measurement precision from signal and noise in liquid chromatography

*Anal. Chem.*, 66, 2874~2881 (1994)

ほとんどの分析機器では、サンプルの濃度が低いと、繰り返し測定から得られる測定値の誤差の主な原因は測定装置のベースラインの揺らぎと考えることができる。この論文では、測定値の誤差(標準偏差)をベースライン揺らぎの確率論的性質から予測出来ることを示した。この研究の新規性は、 $1/f$  揺らぎであると考えられているベースライン揺らぎをホワイトノイズとマルコフ過程の和で近似したことにある。同じサンプルでも、測定機器によりまた測定条件により測定精度はことなる。しかし、この理論に依れば、対象になっている測定機器のベースラインをその測定条件で記録しフーリエ変換すれば、測定値の標準偏差をかなり正確に予測できる。

**Keywords:** precision, chromatography

Hayashi, Y. and Matsuda, R.: Deductive prediction of measurement precision from signal and noise in photomultiplier and photodiode detector of liquid chromatography

*Anal. Sci.*, 10, 725~730 (1994)

このシリーズの最初の論文 (*Anal. Chem.*, 66, 2874 (1994)) の理論を液体クロマトグラフィの光電子増倍管とフォトダイオード検出器の比較に応用した。どちらの場合も、繰り返し測定から得られる測定値の標準偏差は、ベースラインの揺らぎから計算されたものとよく一致した。つまり、機器分析の測定精度は繰り返し実験無しに、ベースラインを観測し数学的処理を行うだけで予測できる。光電子増

倍管の精度はフォトダイオードよりもよかった。この論文は、多くの異なった機器分析の測定精度を理論的に予測できる事を示唆する。

**Keywords** : precision, chromatography

Hayashi, Y. and Matsuda, R.: **Uncertainty structure of dilution with pipette and volumetric flask**

*Anal. Sci.*, **10**, 881~888 (1994)

サンプルをピペットで採取し、ピペットまたはメスフラスコで希釈した場合のサンプル溶液の濃度の標準偏差を予測する理論を提出し、理論の正当性を実験で確認した。理論では、濃度の標準偏差は、ピペットまたはメスフラスコの容量誤差から計算する。理論と実験の一致はよかった。希釈後の溶液の濃度の標準偏差は、ピペット・メスフラスコの希釈では希釈の度合いに無関係に一定であるが、ピペット・ピペットの希釈ではこれは希釈の度合いに依存して変わる。この理論は、内部標準法の精度を予測するときにも重要である。

**Keywords** : precision, dilution error

Yagami, T., Sato, M., Nakamura, A. and Shono, M.\*: **One of the rubber latex allergens has lysozyme activity**

*Int. Arch. Allergy Immunol.*, **104**, 307 (1994)

家庭用ゴム手袋の抽出液からリゾチーム活性を有する蛋白質を分離した。この蛋白質は、果物に含まれるリゾチームに類似した分子量および酵素活性の特徴を有していた。また、天然ゴム製品に対してI型アレルギーを示す患者の血清を用いたイムノブロッティングの結果から、このリゾチームがIgE結合性蛋白質の一つであることがわかった。速報。

**Keywords** : lysozyme, latex allergy, cross-reaction

\* しょうの皮膚科

Ikarashi, Y., Ohno, K., Momma, J., Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: **Assessment of contact sensitivity of four thiourea rubber accelerators: comparison of two mouse lymph node assays with the guinea pig maximization test**

*Fd. Chem. Toxic.*, **32**, 1067~1072 (1994)

チオウレア系ゴム加硫促進剤4種 (DETU, DBTU, DLTU および DPTU) の皮膚感作性を新たに開発した sensitive mouse lymph node assay (SLNA) と従来の murine local lymph node assay (LLNA) を用いて評価し、その結果をモルモット maximization test (GPMT) のデータと比較した。LLNA では3種の物質の感作性を検出できなかったが、SLNA ではすべてを感作性物質として評価できた。SLNA でのこれらの物質の感作性強度の順序は、DPTU が最も強く、以下 DLTU > DBTU > DETU となった。SLNA での結果は GPMT での予測とよく一致した。

**Keywords** : thiourea, contact sensitivity, mouse

Ikarashi, Y., Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: **Cytotoxicity of medical materials sterilized with vapour-phase hydrogen peroxide**

*Biomaterials*, **16**, 177~183 (1995)

過酸化水素蒸気を用いる滅菌法によって処理すると、一部の医用高分子材料で強い細胞毒性が現れた。材料上に残存した過酸化水素量を定量したところ、強い細胞毒性を示した材料に残存量が多いことがわかった。細胞毒性はエアレーション時間の延長およびカタラーゼの添加により減少するが、その程度は材料によって異なった。よって、滅菌した材料の細胞毒性は、材料に残存した過酸化水素によるものと結論した。この滅菌法を広く用いるには、エアレーションなどの洗浄条件などを十分検討することが重要である。

**Keywords** : hydrogen peroxide, sterilization, cytotoxicity

Nakamura, A., Momma, A., Sekiguchi, H.\*<sup>1</sup>, Noda, T.\*<sup>2</sup>, Yamano, T.\*<sup>2</sup>, Kaniwa, M.-A., Kojima, S., Tsuda, M. and Kurokawa, Y.: **A new protocol and criteria for quantitative determination of sensitization potencies of chemicals by guinea maximization test**

*Contact Dermatitis*, **31**, 72~85 (1994)

化学物質の感作性強度の定量的評価を目的として、モルモットを用いたマキシミゼーション法により評価法を検討した。評価パラメーターとして、1) 最低感作濃度、および2) 皮膚平均評価点が1.0を示す惹起濃度を求めた。15の化学物質につき検討した結果、2) の値は1) の値の1オーダーの範囲内であった。また、感作濃度、惹起濃度および皮膚平均評価点との間に用量相関性が認められた。さらに、1) の値は1~10<sup>4</sup>までの開きがあり、化学物質の種類によって感作性の強さに著しい差のあることが明らかとなった。また、ヒトでアレルギー性接触皮膚炎を引き起こした製品中の原因物質の残留値と評価パラメーターとの間に相関性が認められた。すなわち、症例報告のケースはいずれも残留値のオーダーは1) あるいは2) のオーダーと同等か、それよりも大であった。以上のことから、1) 最低感作濃度、2) 皮膚平均評価点が1.0を示す惹起濃度、および製品中の原因物質の残留値を求めることによって、化学物質あるいは製品におけるヒトでの接触アレルギーのリスクをある程度予測出来、適切な対策をとることが可能であることが示唆された。

**Keywords** : quantitative evaluation, guinea pig maximization test, allergic contact dermatitis

\*<sup>1</sup> 民生科学協会研究所

\*<sup>2</sup> 大阪市環境科学研究所

Shintani, H.: **Selection of columns for analysis of blood urea**

*J. Liquid Chromatogr.*, **17**, 1737~1742 (1994)

血中尿素の分析には種々の方法が報告されているが、従来報告されている方法には選択分析が不完全

であったり、煩雑な操作を必要としたり、内因性アンモニウムと尿素との分別に手間がかかったりして改良の余地があった。そこでC-18と陽イオン交換樹脂を連結した固相抽出法で疎水性の血中夾雑成分を除去し、血中尿素を陽イオン交換樹脂に保持させた後、1 M 塩酸で溶出させた。その後、従来の陽イオン交換樹脂分析カラムで分離し210 nmで尿素を検出した。分析カラムとして用いた陽イオン交換樹脂カラムの交換容量によって血中尿素と血中夾雑成分との分離が異なるので、分離に最も適したカラムの選択について検討した。

**Keywords** : SPE, column selection, blood urea

**Shintani, H.: Comparison of D value accuracy by LSKP, SMCP and EN by experimental and simulation procedure**

*Biomedical Industrial Technology*, 29, 113~124 (1995)

LSKP, SMCPならびにEN法でのD値の比較をシミュレーションならびに実験で行った。その結果、LSKPとSMCPとの間には有意差は無く、生残曲線法であるENとLSKPならびにSMCPとの間には有意差があることが分かった。

**Keywords** : LSKP, SMCP, EN

**新谷英晴 : Comparison of accuracy of D value determined by Limited Spearman Karber Procedure (LSKP) and Stumbo Murphy Cochran Procedure (SMCP) using experimental as well as simulation procedure**

防菌防霉, 22, 475~483 (1994)

Most Probable Number (MPN) 法でのD値測定においてはLimited Spearman Karber Procedure (LSKP), Fraction Negative法ならびにStumbo Murphy Cochran Procedure (SMCP) があり、その他のD値測定方法としては生残曲線法 (Survival Curve Method, EN) がある。その内International Organization for Standardization (国際標準化機構, ISO) や米国薬局方 (USP) で採用されているのはLSKPで日本やドイツ等ではSMCPならびに生残曲線法が採用されている。ISOの議論の途上でSMCP法はLSKP法に比べ精度の点で悪いという理由で削除された。それゆえその真偽を科学的に確認するため両者をシミュレーションならびにBIER (Biological indicator evaluator resistometer) を用いての精度の比較実験を行った。その結果、両者に有意差はなくむしろSMCPの方がLSKPより精度の点で優れているという結論が得られた。

**Keywords** : D value, limited spearman karber procedure, limited stumbo murphy cochran procedure

**Shintani, H.: HPLC analysis of toxic additives and residual monomer from dental plate**

*Journal of Liquid Chromatography Clinical*

*Analysis*, 18, 613~626 (1995)

歯科材料に含まれる添加剤ならびに残留モノマーの血液ならびに唾液中への溶出を逆相系の固相抽出で前処理後高速液体クロマトグラフィーで分析した。  
**Keywords** : dental material, HPLC, toxic compound original

**新谷英晴 : Most Probable Number (MPN) 法でのD値測定における Limited Spearman Karber Procedure (LSKP) ならびに Stumbo Murphy Cochran Procedure (SMCP) の実験およびシミュレーションによる精度の比較**

医科器械学会誌, 64, 231~236 (1994)

MPNでのD値測定に於てはLSKPならびにSMCP等がある。その他に生残曲線法 (EN) がある。一般的には一暴露でD値を測定するSMCPの方が多くの点で暴露してD値を測定するLSKPより精度が悪いとされている。しかしながらその科学的根拠は明確ではない。それゆえ実験およびシミュレーションでLSKPならびにSMCPのD値の精度を比較した。同時にENとの比較も行った。

**Keywords** : LSKP, SMCP, D value

**新谷英晴 : 歯科用義歯床材料ならびにコンポジットレジンよりの毒性化合物の溶出について**

医科器械, 64, 345~349 (1994)

歯科用材料に使用される種々の高分子に残留する毒性化合物を水、血清ならびに極性の異なる有機溶媒で抽出し、経時変化を定量した。

**Keywords** : dental material, composite resin, toxic compounds elution

**新谷英晴 : 陽イオン交換樹脂を用いた血中尿素の固相抽出ならびに高速液体クロマトグラフィー分析化学, 805~807 (1994)**

血中尿素の分析のための前処理に陽イオン交換樹脂担体の固相抽出法を用い陽イオン交換樹脂カラムで分析した。分析カラムとしてイオンクロマトグラフィー用の交換容量の少ないものと従来から用いられている高交換容量のカラムを比較した結果後者の方が分離に優れていることが判明した。

**Keywords** : blood urea, solid phase extraction, conventional cation exchange chromatography

**新谷英晴 : 歯科材料からの溶出物試験に使用される高速液体クロマトグラフィー用カラムの比較**

医科器械, 65, 249~250 (1995)

ポリメチルメタクリレート系歯科材料に含まれるN,N-ジメチル-P-トルイジンのピーク形状ならびに溶出挙動について市販のC-18カラムを比較した。その結果ベガシル、カプセルバック、L-カラムが優れていることが分かった。テーリングの甚だしいカラムや溶出されないカラムも見られた。

**Keywords** : dental material, N,N-dimethyl-p-toluidine, C-18 columns

土屋利江: ラット, マウス胎仔の肢芽および脳細胞

組織培養, 20(10), 369~372 (1994)

ラットやマウス胎仔の肢芽および脳細胞の micromass culture 法を用いて実際に発生毒性研究に役に立つ例を明らかにした。すなわち、開発した血清試料中の催奇形性活性測定法を用いて、催奇形性発現種差の解明に応用した例を中心に報告し、最後に全胚培養法との催奇形性活性の検出感度を比較した。肢芽細胞の micromass culture 法を用いて軟骨分化阻害活性で評価する方法は、全胚培養法での形態異常よりも高感度でレチノイドの催奇形性活性を検出できる事を明らかにした。

**Keywords:** micromass culture, limb bud, mid-brain

Tsuchiya, T., Ikarashi, Y., Arai, T.\*, Ohhashi, J.\* and Nakamura, A.: **Improved sensitivity and decreased sample size in a cytotoxicity test for biomaterials: A modified colony microassay using a microplate and crystal violet staining**

*J. Applied Biomaterials*, 5, 361~367 (1994)

培地を改変し、化学物質やバイオマテリアルの抽出液に対する細胞毒性感度が高く、かつ対照培地でのコロニーが大きい培地を明らかにした。この培地を用いて V79 細胞や Balb/3T3 細胞を用いて低密度に 96 穴のマイクロプレートに播種し、判定はクリスタルバイオレット染色の吸光度によるマイクロコロニー法を開発した。本法は、従来の伝統的な細胞毒性試験法に比べて、定量的に高感度で細胞毒性を検出できる優れた方法である。

**Keywords:** microcolony assay, cytotoxicity, biomaterials

\* メニコン(株)生物研究部

Tsuchiya, T.: **Studies on the standardization of cytotoxicity tests and new standard reference materials useful for evaluating the safety of biomaterials**

*J. Biomaterials Applications*, 9, 138~157 (1994)

バイオマテリアルの安全性評価のための細胞毒性試験法に必要な基本的な考え方を実験データを基に示した。即ち新しい 2 種の標準材料を導入したコロニー法による細胞毒性試験法は、伝統的に用いられている寒天重層法等よりもバイオマテリアルの細胞毒性を評価する上で如何に有用であるかを実験結果を基に示した。これらの結果から、医療用具および医用材料の細胞毒性試験法の日本案を提示した。

**Keywords:** standard reference materials, cytotoxicity, biomaterials

Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: **Studies on the causes of tumorigenesis induced by the biomaterials**

*Materials Science and Engineering, C*, 2, 73~75

(1994)

バイオマテリアルによるガン発生率を増加させる原因として、材料から溶出される構成成分による発癌プロモーション作用と、バイオマテリアル材料の劣化防止の目的で添加される抗酸化剤による発癌プロモーション作用の 2 つの可能性のある事を *in vitro* 実験から明らかにした。

**Keywords:** biomaterials, tumorigenesis, tumor-promotion

Tsuchiya, T., Hata, H.\* and Nakamura, A.: **Studies on the tumor-promoting activity of biomaterials: Inhibition of metabolic cooperation by polyetherurethane and silicone**

*J. Biomed. Mater. Res.*, 29, 113~119 (1995)

ポリエーテルウレタンの発癌性において、ラットでの腫瘍発生率の差は、発癌プロモーション活性強度の違いに起因していると仮定した。さらに、その発癌プロモーション作用として細胞膜機能に関係している細胞間のギャップ連絡機能に着目した。V79 代謝協同阻害試験法を用いて、ポリエーテルウレタンのメタノール抽出物について試験した結果、細胞間連絡阻害活性を検出した。構成モノマーについて阻害活性を検索した結果、ソフトセグメント構成ポリオールであるポリテトラメチレングリコール鎖が高い阻害活性を示す事が明らかになった。本研究の結果から、材料の発癌機構として新しい概念を示した。

**Keywords:** tumor-promotion, gap-junction, polyetherurethane

\* 民生科学協会総合研究所

Tsuchiya, T., Fukuhara, K., Hata, H.\*<sup>1</sup>, Ikarashi, Y., Miyata, N., Katoh, F.\*<sup>2</sup>, Yamasaki, H.\*<sup>2</sup> and Nakamura, A.: **Studies on the tumor-promoting activity of additives in biomaterials: Inhibition of metabolic cooperation by phenolic antioxidants involved in rubber materials**

*J. Biomed. Mater. Res.*, 29, 121~126 (1995)

ゴム製品や高分子の医用材料の劣化を防ぐ目的で添加されるフェノール系抗酸化剤の発癌プロモーター作用の可能性を明らかにするために、V79 代謝協同阻害試験法を用いて 8 種の抗酸化剤について試験した。3 種の抗酸化剤は既知発癌プロモーターであるリトコール酸よりも低濃度で、細胞間連絡阻害活性を示すことが明らかになった。1 種の抗酸化剤については、発癌プロモーター作用を Balb/3T3 2 段階トランスフォーメーション試験法を用いて確認した。抗酸化剤の電気化学的特性と細胞間連絡阻害活性との関係を調べた結果、相関性を認めなかったが、細胞毒性強度と酸化還元電位との間には相関性 ( $r=0.88$ ) があることが明らかになった。

**Keywords:** phenolic antioxidants, electrochemical oxidation potentials, metabolic cooperation

\*<sup>1</sup> 民生科学協会総合研究所

\*<sup>2</sup> IARC Lyon France

Tsuchiya, T., Miyata, N., Kamiya, S., Ikarashi, Y., Nakamura, A. and Takahashi, A.: **Developmental toxicity of butylated hydroxytoluene using rat and human embryonic cell assays** *AATEX*, 3, 1~8 (1995)

BHTの発生毒性について、*in vitro*手法を用いてリスク評価した。用いた試験系は、ラット胎仔の中脳および肢芽細胞の分化および増殖機能試験、さらにヒト胎児細胞の増殖機能試験を用いて評価した。また、BHTの投与量に関するリスク評価を行うために、妊娠ラットでの宿主経路試験も実施した。その結果、BHTはBHAよりも発生毒性に関するリスクは低く、妊娠動物に単回1g/kg投与量では胎仔に対する影響は少ないことが明らかになった。

**Keywords**: BHT, developmental toxicity, micro-mass culture

Tsuchiya, T., Nakajima-Yamakoshi, Y. and Miyata, N.: **A novel promoting action of fullerene C60 on the chondrogenesis in rat embryonic limb bud cell culture system**

*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 206, 885~894 (1995)

ポリビニルピロリドンで水溶化したフラーレンをラット肢芽細胞培養系に添加し、培養した結果、フラーレンに起因する著しい軟骨分化促進作用を明らかにした。未置換型フラーレンの新しい有用な分化促進機能を初めて明らかにした。

**Keywords**: fullerene, chondrogenesis, rat limb bud

Hayakawa, R.\*, Ogino, Y.\*, Suzuki, M.\* and Kaniwa, M.: **Allergic contact dermatitis from para-tertiary butylphenol formaldehyde resin (PTBP-FR)**

名古屋大学付属病院分院年報, 27, 63~66(1993)

装具のパッドおよび雨具によるアレルギー性接触皮膚炎について検討した。患者が使用していた膝の装具のパッド、および雨具からpara-tertiary butylphenol formaldehyde resin (PTBP-FR)を検出するとともに、患者でのパッチテストにおいてPTBP-FRが陽性反応を示したことから、PTBP-FRが原因化学物質となったことを明らかにできた。

**Keywords**: allergic contact dermatitis, brace, para-tertiary butylphenol formaldehyde resin

\* 名古屋大学医学部付属病院分院

Hayakawa, R.\*, Ogino, Y.\*, Suzuki, M.\* and Kaniwa, M.: **Allergic contact dermatitis from para-tertiary butylphenol formaldehyde resin (PTBP-FR)**

*Contact Dermatitis*, 30, 187~188 (1994)

装具のパッドおよび雨具によるアレルギー性接触皮膚炎事例において、患者が使用していた膝の装具

のパッド、雨具から検出されたpara-tertiary butylphenol formaldehyde resin (PTBP-FR)が原因化学物質となっていたことを明らかにできた。

**Keywords**: allergic contact dermatitis, orthopedic knee brace, para-tertiary butylphenol formaldehyde resin

\* 名古屋大学医学部付属病院分院

Hayakawa, R.\*, Suzuki, M.\* and Kaniwa, M.: **A case of allergic contact dermatitis due to para-tertiary butylphenol formaldehyde resin** *Environmental Dermatology*, 1, 171~178 (1994)

膝の装具のアンダークッションおよび皮革製サンダルによるアレルギー性接触皮膚炎について検討した。患者が使用していた装具のアンダークッション、および皮革製サンダルから、使用した接着剤に配合されていたと考えられるpara-tertiary butylphenol formaldehyde resin (PTBP-FR)が原因化学物質となっていたことを明らかにできた。

**Keywords**: allergic contact dermatitis, brace, para-tertiary butylphenol formaldehyde resin

\* 名古屋大学医学部付属病院分院

鹿庭正昭, 伊佐間和郎, 中村晃忠, 都 深\*<sup>1</sup>, 地土井襄聖\*<sup>1</sup>, 西岡和恵\*<sup>2</sup>: **農作業用ゴム長靴によるアレルギー性接触皮膚炎の原因究明**

*Environmental Dermatology*, 1(Suppl.1), 45 (1994)

農作業用ゴム長靴によるアレルギー性接触皮膚炎の原因化学物質について検討した。市販の農作業用ゴム長靴を分析調査した結果、アミン系老化防止剤のN-1,3-dimethylbutyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine (DMBPPD), 6-ethoxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline (ETMDQ)が使用されていることを確認できた。これらのアミン系老化防止剤はいずれも接触皮膚炎事例が報告されており、またDMBPPDについては動物実験においてアレルギー性が確認されていることから、今回の事例の原因化学物質となりうる化合物である。

**Keywords**: allergic contact dermatitis, rubber boot for farmer, amine-type antioxidant

\*<sup>1</sup> 島根医科大学

\*<sup>2</sup> 山口赤十字病院

上田恵一\*<sup>1</sup>, 山本由美子\*<sup>1</sup>, 天井 周\*<sup>1</sup>, 鹿庭正昭, 小嶋茂雄, 高石公子\*<sup>2</sup>: **ネル寝間着または半纏による色素沈着性接触皮膚炎の2例**

*Environmental Dermatology*, 1(Suppl.1), 60 (1994)

ネル寝間着または半纏による色素沈着性接触皮膚炎の2例について検討した。いずれの患者もパッチテストにおいてnaphthol ASに陽性反応を示した。ネル寝間着による事例については、naphthol ASと交差反応を示すことが確認されているnaphthol AS-Dをネル寝間着から検出したことから、naphthol AS-Dが原因化学物質となったことを明らかに

できた。一方、半纏による事例については、半纏を分析調査できなかったため、原因化学物質の特定はできていない。

**Keywords**: allergic contact dermatitis, cotton flannel, naphthol AS-D

\*1 福井医科大学

\*2 交野市

山崎玲子\*, 山崎正博\*, 鹿庭正昭, 伊佐間和郎, 中村晃忠: キャンバス・スニーカーによる接触皮膚炎

皮膚科の臨床, 36, 705~708 (1994)

キャンバススニーカーによるアレルギー性接触皮膚炎について検討した。患者でのパッチテストでチウラム系加硫促進剤の tetramethylthiuram monosulfide (TMTM) が陽性反応を示した。一方、スニーカーの製造時に使用されたゴム系接着剤を入手し、分析調査したところ、TMTMを検出した。しかし、スニーカーからは TMTM は検出されず、dimethylamine (DMA) のみが検出された。したがって、今回の事例の原因化学物質は、スニーカーに使用された接着剤に配合された加硫促進剤の TMTM そのものではなく、その分解生成物である DMA であったことを明らかにできた。

**Keywords**: allergic contact dermatitis, canvas sneaker, rubber accelerator

\* 山崎医院

Kaniwa, M., Isama, K., Nakamura, A., Kantoh, H.\*<sup>1</sup>, Hosono, K.\*<sup>1</sup>, Itoh, M.\*<sup>1</sup>, Shibata, K.\*<sup>2</sup>, Usuda, T.\*<sup>2</sup>, Asahi, K.\*<sup>3</sup>, Osada, T.\*<sup>3</sup>, Matsunaga, K.\*<sup>3</sup> and Ueda, H.\*<sup>3</sup>: Identification of causative chemicals of allergic contact dermatitis using a combination of patch testing in patients and chemical analysis. Application to cases from rubber gloves

Contact Dermatitis, 31, 65~71 (1994)

ゴム手袋によるアレルギー性接触皮膚炎 5 例について、患者でのパッチテストおよびガスクロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー、マススペクトロメトリー、高速液体クロマトグラフィーを用いた原因ゴム製品の化学分析を併用して検討した。その結果、作業用ゴム手袋による事例においてジチオカーバメート系加硫促進剤の zinc ethylphenyldithiocarbamate (ZEPC) が、手術用ゴム手袋による事例においてジチオカーバメート系加硫促進剤の zinc dimethyldithiocarbamate (ZDMC), zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC), zinc dibutyldithiocarbamate (ZDBC), アミンの dimethylamine (DMA), diethylamine (DEA), piperidine (PIP) が原因化学物質となっていたことを明らかにできた。

**Keywords**: allergic contact dermatitis, rubber glove, dithiocarbamate-type accelerator

\*1 東邦大学医学部

\*2 社会保険中京病院

\*3 藤田保健衛生大学医学部

早川律子\*, 鈴木真理\*, 鹿庭正昭: p-tert-butylphenol formaldehyde resin による接触皮膚炎

日本皮膚アレルギー学会雑誌, 2, 56 (1994)

装具のアンダークッションおよび皮革製サンダルによるアレルギー性接触皮膚炎について検討した結果、para-tertiary butylphenol formaldehyde resin (PTBP-FR) を原因化学物質として特定できた。

**Keywords**: allergic contact dermatitis, brace, para-tertiary butylphenol formaldehyde resin

\* 名古屋大学医学部付属病院分院

松永佳世子\*, 大島隆夫\*, 河島利華\*, 鹿庭正昭: 嫌気性封着剤に含まれた 2-ヒドロキシエチルメタクリレートによるアレルギー性接触皮膚炎

日本皮膚アレルギー学会雑誌, 2(2), 113 (1994)

電気工具製作会社で発生した嫌気性封着剤によるアレルギー性接触皮膚炎 11 例について検討した。嫌気性封着剤、および患者が使用していた軍手から 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) を検出した。いずれの患者も HEMA に陽性反応を示した。したがって、今回の事例はいずれも、嫌気性封着剤の主成分であった HEMA が原因化学物質となっていたことを明らかにできた。

**Keywords**: allergic contact dermatitis, anaerobic sealant, 2-hydroxyethyl methacrylate

\* 藤田保健衛生大学医学部付属病院

Kaniwa, M.: Allergen explanation. thiuram mix, tetramethylthiuram disulfide (TMTD), tetramethylthiuram monosulfide (TMTM), tetraethylthiuram disulfide (TETD), tetra-butylthiuram disulfide (TBTD), dipentamethylenethiuram tetrasulfide (DPTT), dipentamethylenethiuram disulfide (DPTD)

Environmental Dermatology, 2, 63~70 (1994)

日本接触皮膚炎学会では、日本において注目すべき接触アレルギーについて、物性、化学的性状、分析法、ヒトにおける事例報告、動物を用いたアレルギー試験の結果などについて、文献情報などをもとにしてまとめた解説書の作成を行っている。今回、ゴムアレルギーのうち、チウラム系加硫促進剤について解説した。

**Keywords**: explanation, rubber allergen, thiuram-type accelerator

生野麻美子\*, 鹿庭正昭, 日本化粧品工業連合会色素専門委員会: タール系色素赤色 202 号によるアレルギー性接触口唇炎

アレルギーの臨床, 14, 501~506 (1994)

口紅による口唇の色素沈着性皮膚炎の事例について検討した結果、口紅に配合されていた赤色 202 号に不純物として含まれていた副色素が原因化学物質となっていたことを明らかにできた。

**Keywords**: allergic contact dermatitis, lipstick, Red 202



## \* しょうの皮膚科

鹿庭正昭：健康リビング実践ガイドライン3 家庭用化学製品編

公衆衛生情報, 24, 18~19 (1994)

健康リビング実践ガイドライン作成の一環として、家庭用化学製品のうち、不害虫用殺虫剤、カビ取り・防カビ剤、芳香・消臭・脱臭剤、塗料について、製造実態調査の結果などをもとに、製造者が製造時に、また消費者が使用時に安全指針として利用できることをめざしてガイドラインの作成を実施した。

**Keywords**: household chemical product, safety management, guideline for household products

鹿庭正昭：健康リビング推進対策について：実践ガイドライン・家庭用化学製品部会

生活と環境, 39(No. 7), 25~29 (1994)

家庭内で使用される化学物質を含有する製品を安全に使用するための手引書として必要な情報を提供し、より快適で、健康的な日常生活を送ることができるよう、健康リビング実践ガイドライン作成の一環として、家庭用化学製品部会においては、不害虫用殺虫剤、カビ取り・防カビ剤、芳香・消臭・脱臭剤、塗料を対象製品としてガイドライン作成を進めた。すなわち、製造実態調査の結果などをもとにして、製造者、消費者ともに安全指針として利用できるような内容をガイドラインに盛り込んだ。

**Keywords**: household chemical product, safety management, guideline for household product

石川 寛<sup>\*1</sup>、吉沢 晋<sup>\*2</sup>、松村年郎、池田耕一<sup>\*3</sup>：パッシブサンプラーを用いた換気量測定法に関する研究-住宅内空気汚染濃度の実態と換気量測定方法について-

日本建築学会計画系論文集, 467, 47~54 (1995)

化学物質のヒトに対する健康影響を考えた場合、生活様式を含めた種々の要因によって変化する換気量を平均的に測定する必要がある。本研究においては著者らが開発した拡散型のサンプラー (HCHO測定用) を用いて、一般住宅内の平均換気量を算出するための基礎的検討を行った。その結果、平均換気量予測式を提案することができた。しかし、予測値と実測値との間の相関に若干バラツキが認められ、改良の余地が残された。一方、新築住宅内におけるシロアリ駆除剤等の化学物質汚染の調査を行い、その実態を明らかにした。

**Keywords**: ventilation measurement method, passive sampler, indoor air pollution

\*1 榎森村

\*2 東京理科大学

\*3 国立公衆衛生院

木嶋敬二、鈴木助治\*、山越葉子、中村 弘\*、小嶋茂雄：高速液体クロマトグラフィーによる化粧品中の塩酸ピリドキシン、アスコルビン酸およびその誘導体の分析法 (化粧品の迅速簡易分析法第

## 6報)

日本化粧品科学会誌, 18, 53~59 (1994)

育毛・養毛剤および化粧品中の塩酸ピリドキシン (Py-Cl)、パウダー中のアスコルビン酸 (VC)、化粧水およびクリーム中のリン酸L-アスコルビルマグネシウム (VC-PMg)、パウダー中のパルミチン酸アスコルビル (VC-PA) およびステアリン酸アスコルビル (VC-ST) について、高速液体クロマトグラフィーを用いる簡易迅速分析法を確立した。Py-ClについてはODCカラム、移動相に1.5 mM *n*-ヘプタンスルホン酸ナトリウム/アセトニトリル・水 (10:90) (pH 2.5に調整)、検出波長285 nm、VCについてはODSカラム、移動相に0.01 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH 2.5に調整) などを、VC-PMgはODCカラム、移動相にトリ-*n*-オクチルアミン-酢酸/アセトニトリル・EDTA-2Na/水の系を、検出波長はいずれも254 nmを用いる。VC-PA、VC-STはODSカラム、移動相は0.01 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ・アセトニトリル (1:9)、検出波長は245 nmを用いる。添加回収率も良好であった。

**Keywords**: pyridoxine hydrochloride, ascorbic acid derivatives, cosmetics

\* 東京都立衛生研究所

徳永裕司、木嶋敬二、安藤正典：アニオン性およびカチオン性界面活性剤によるメチルパラベン<sup>1</sup>のモルモットの剥離皮膚への影響

日本化粧品科学会誌, 18(3), 127~132 (1994)

モルモットの剥離皮膚に対するアニオン性 (5種類) およびカチオン性界面活性剤 (6種類) の影響をメチルパラベン (MPB) を透過指標物質として、Franz型拡散セルを用いて検討した。各種界面活性剤の10 mMを用い、37°Cで2時間剥離皮膚を処理した後、0.05%メチルパラベン溶液0.5 mlをdonor側に入れ、2~6時間後にreceiver側に透過するメチルパラベンをHPLC法で測定した。剥離皮膚をアニオン性界面活性剤のsodium dodecylsulfate (SDS) の1.7~34.7 mMあるいはカチオン性界面活性剤のbenzalkonium chloride (BAC) の2.5~10 mMで処理した時の各界面活性剤の使用濃度とメチルパラベンの透過速度の間には良好な直線関係が成立し、皮膚角質層のバリア機能は使用された界面活性剤の濃度に影響を受けることが示唆された。SDS, sodium lauroyl glutamate, sodium dodecansulfonate, sodium tetradecyl sulfate およびBACは、特に、MPBの透過速度を増強した。皮膚への界面活性剤の影響は界面活性剤の脂肪族炭化水素の炭素数に依存し、アニオン性界面活性剤では炭素数12と14、カチオン性界面活性剤では炭素数14の場合が大きかった。

**Keywords**: surfactant, excised skin, methylparaben

内野 正、木嶋敬二、安藤正典：ヘマトポルフィリン等のUVA増感による過酸化脂質生成と赤血球の溶血反応との関連

衛生化学, 40(6), 550~557 (1994)

UVAの生体影響を把握するために、ヘマトポルフィリン (HP), リボフラビン (RF) のUVA増感が、ウサギ赤血球の過酸化脂質含量および溶血に与える影響を検討した。室温下UVA (365 nm) を一定時間照射し、照射終了後室温および0°Cで放置し、溶血率を測定したところ、室温放置時ではほぼ100%溶血したが、0°C放置時ではほとんど溶血しなかった。また、HPはRFより著しく増感が強いことが明らかとなった。さらに、UVA照射前後の細胞膜脂質の主要成分であるホスファチジルコリン (PC), ホスファチジルエタノールアミン (PE) の過酸化物の含量を化学発光-HPLC法で測定したところ、溶血に先だって脂質当たりの含量が有意に増加した。このことより、UVA増感によって発生した一重項酸素によって生成した膜脂質の過酸化物が溶血に寄与していることが示唆された。

**Keywords**: UVA, lipid hydroperoxide, hemato-phyrin

Nishimura, T., Hanada, K., Maeda, Y., Song, C. Z., Hisatake, K., Muramatsu, M.: **Regulation of mouse UBF gene by multiple growth-related control elements**

*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 205, 1217~1225 (1995)

マウスのリボソームRNAの転写を調節する因子の一つであるUBFの遺伝子を単離した。その遺伝子の上流域の塩基配列を決定し、遺伝子の転写調節を制御する構造を解析した。転写はAGAAAGの6点から同程度の頻度で開始していた。開始点の上流には、典型的なTATA-boxもCCAAT-boxも存在していない。制御領域には、8個のGC-boxと8個のAP-2結合配列が存在する。さらに、4個のcAMP認識配列と数個の血清因子認識配列が存在する。この上流領域の一部をクロラムフェニコールアセチル転移酵素 (CAT) の上流に組み込んだ組み替えDNAを作製し、誘導されたCATの活性を指標として転写制御活性を比較した。その結果、すべての特異的塩基配列が総合的に働いてUBFの転写を制御していることがわかった。中では血清因子認識配列が重要な働きをしており、細胞増殖が活発な条件下でのUBFの転写の増加を制御していることがわかった。UBFの転写とその蛋白質の量の増加が、間接的にリボソームRNAの転写の増加をうながし、細胞が増殖するために必要な蛋白質の合成の引き金になっていると考えられる。

**Keywords**: up stream binding protein (UBF), promotor region, serum response

Hanioka, N., Jinno, H., Toyo'oka, T.\*<sup>1</sup>, Sekita, H., Ando, M., Kojima, S. and Takeda, M.\*<sup>2</sup>: **Effect of subchronic oral treatment with terbium on gastrointestinal uptake of calcium and phosphorus**

*Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 53, 663~668

(1994)

希土類金属テルビウム (Tb) の生体影響を明らかにするため、TbCl<sub>3</sub>を4週間連続投与したラットに<sup>45</sup>Caおよび<sup>32</sup>Pを経口投与し、その後10日間のそれらの排泄率および放射活性の生体分布について検討した。<sup>45</sup>Caおよび<sup>32</sup>Pの尿中への排泄率は、対照群では0.9%および13.3%であったのに対し、TbCl<sub>3</sub>前投与群では0.2%および1.8%であった。一方、糞中への排泄率は、TbCl<sub>3</sub>前投与により顕著に増加した(<sup>45</sup>Ca: 15.1%→47.4%, <sup>32</sup>P: 10.9%→64.8%)。また、生体内に残存した<sup>45</sup>Caおよび<sup>32</sup>Pのほとんどは、骨から検出されたが、TbCl<sub>3</sub>前投与群のこれらの放射活性は、対照群の約1/2であった。肝臓においても、わずかの<sup>45</sup>Caおよび<sup>32</sup>Pの放射活性が検出され、骨と同様の傾向が認められた。以上の結果より、Tbは、<sup>45</sup>Caおよび<sup>32</sup>Pの吸収を阻害する希土類金属であることが示唆された。

**Keywords**: terbium chloride, calcium, phosphorus

\*<sup>1</sup> 現在静岡県立大学薬学部

\*<sup>2</sup> 現在日本大学農獣医学部

Hanioka, N., Jinno, H., Toyo'oka, T.\* and Ando M.: **Effect of chlorinated dibenzo-*p*-dioxins on 7-ethoxycoumarin *O*-deethylase activity in rat liver microsomes**

*Chemosphere*, 28, 1589~1598 (1994)

ダイオキシン類化合物の毒性評価法を確立するための一環として、ラット肝ミクロソーム (Ms) のチトクロームP450 (P450) 依存性酵素7-ethoxycoumarin *O*-deethylase (ECOD) 活性に及ぼす低塩素化・低毒性ダイオキシン化合物の影響について *in vitro* 系で検討した。ECOD活性は、3-methylchlo-ranthrene (MC) およびphenobarbital (PB) により、それぞれ21.9倍および5.8倍誘導され、抗ラットCYP1A1抗体添加による阻害実験から、それぞれのMsのECODを触媒するP450分子種は異なることが示唆された。MC前処理MsのECOD活性は、100 μM dibenzo-*p*-dioxin, 1-monochlorodibenzo-*p*-dioxin, 2-monochlorodibenzo-*p*-dioxin, 2,3-dichlorodibenzo-*p*-dioxin, 1,2,4-trichlorodibenzo-*p*-dioxin および1,2,3,4-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxinによりそれぞれ59, 69, 51, 82および54%阻害された。一方、PB前処理Msのそれらの阻害率は、66, 62, 69, 32および9%であった。また、Lineweaver-Burk Plotより、これらの阻害はいずれも競合的であることが明らかとなり、MC前処理MsとPB前処理Msのそれぞれの阻害定数の比(PB<sub>Ki</sub>/MC<sub>Ki</sub>)は、化合物間で大きく異なっていた。これらの結果より、ダイオキシン化合物は塩素の数および位置により、影響を与えるP450分子種は異なる可能性が示唆された。

**Keywords**: chlorinated dibenzo-*p*-dioxin, 7-ethoxycoumarin *O*-deethylase, cytochrom P450

\* 現在静岡県立大学薬学部

Hanioka, N., Jinno, H., Toyo'oka, T.\* and Ando, M.: **Effect of 1,2,4-trichloro dibenzo-*p*-dioxin on drug-metabolizing enzymes in rat liver**

*Chemosphere*, 29, 1313~1324 (1994)

1,2,4-trichloro dibenzo-*p*-dioxin (1,2,4-TrCDD) を雄性ラットに投与し (0.1 mmol/kg×3), 肝薬物代謝酵素に及ぼすその影響を検討した。1,2,4-TrCDD を投与することにより, CYP1A 依存性酵素である 7-ethoxyresorfin, 7-ethoxycoumarin および 7-methoxyresorfin の *O*-脱アルキル化活性はそれぞれ 32.9, 4.2 および 5.7 倍増加した。また, 抗ラット CYP1A1/2 抗体を用いて免疫化学的検討を行ったところ, CYP1A1 および 1A2 いずれの蛋白も, 1,2,4-TrCDD 投与ラット肝ミクロゾームで認識され, 特に, CYP1A2 のバンドが強く検出された。また, 他の P450 依存性酵素 (7-pentoxoresorfin *O*-depentylase, aniline 4-hydroxylase, nitrosodimethylamine *N*-demethylase および erythromycin *N*-demethylase) 活性も, 1,2,4-TrCDD 投与により 1.3~2.6 倍誘導されたが, その誘導率は CYP1A 依存性酵素のようなものではなかった。一方, 薬物代謝第二相反応酵素である DT-diaphorase, glutathione *S*-transferase および UDP-glucuronyltransferase 活性も, 1,2,4-TrCDD により 1.4~2.7 倍誘導され, 1,2,4-TrCDD は肝薬物代謝の第一相および第二相反応酵素を誘導し, 特に, CYP1A サブファミリー P450 分子種を強く誘導する化合物であることが示唆された。

**Keywords** : 1,2,4-trichloro dibenzo-*p*-dioxin, drug-metabolizing enzymes, cytochrom P450

\* 現在, 静岡県立大学薬学部

Hanioka, N., Jinno, H., Toyo'oka, T.\* and Ando, M.: **The Effect of 1,2,3,4-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on drug-metabolizing enzymes in rat liver**

*Chemosphere*, 29, 2477~2491 (1994)

1,2,3,4-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (1,2,3,4-TCDD) を雌雄ラットに投与し (25, 50, 100 および 200 μmol/kg×1), 肝薬物代謝酵素に及ぼすその影響を検討した。CYP1A1 依存性酵素である 7-ethoxyresorfin *O*-deethylase は, 1,2,3,4-TCDD 投与により雌雄ラットともに用量依存的に顕著な活性増加が認められた。その相対的誘導率は, 雄性ラットでは 3.0~24.5 倍であり, 雌性ラットでは 2.2~16.5 倍であった。また, 抗ラット CYP1A1/2 抗体を用いたウェスタンブロットングからも, 雌雄ラットの CYP1A1/2 蛋白の顕著な増加が認められた。一方, 他の P450 依存性酵素 (7-pentoxoresorfin *O*-depentylase, 7-benzoyloxyresorfin *O*-debenzylase, aminopyrine *N*-demethylase および nitrosodimethylamine *N*-demethylase) 活性も, 1,2,3,4-TCDD 投与 (≥50 μmol/kg) により誘導されたが, その誘導率は CYP1A1 依存性酵素のようなものではなかった。また, 1,2,3,4-TCDD による薬

物代謝第二相反応酵素 (DT-diaphorase, glutathione *S*-transferase および UDP-glucuronyltransferase) 活性の増加もわずかに認められ, 1,2,3,4-TCDD は雌雄ラット肝薬物代謝の第一相および第二相反応酵素を誘導し, 特に, CYP1A サブファミリー P450 分子種を強く誘導する化合物であることが示唆された。

**Keywords** : 1,2,3,4-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin, drug-metabolizing enzymes, cytochrom P450

\* 現在, 静岡県立大学薬学部

Hanioka, N., Jinno, H., Toyo'oka, T.\*, Nishimura, T. and Ando, M.: **Induction of rat liver drug-metabolizing enzymes by tetrachloroethylene**

*Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 28, 273~280 (1995)

Tetrachloroethylene (PCE) の毒性発現には P450 を含む薬物代謝酵素が何らかの形で関わっている可能性が考えられ, PCE の毒性発現機構を解明するための一環として, ラット肝薬物代謝酵素に及ぼす PCE の影響について検討した。雄性ラットに PCE (125, 250, 500, 1000 および 2000 mg/kg) を 1 日 1 回 5 日間経口投与し, 肝薬物代謝酵素に及ぼすその影響について検討した。CYP2B1/2 依存性酵素である 7-pentoxoresorfin および 7-benzoyloxyresorfin の脱アルキル化酵素活性は, PCE 投与により用量依存的に増加し, 最も増加した 2000 mg/kg 投与群におけるそれらは対照群のそれぞれ 4.6 および 6.1 倍であった。また, 抗 CYP2B1/2 抗体を用いてウェスタンブロットングを行ったところ, 対照群では認められなかった 2 本の強いバンドが 1000 および 2000 mg/kg の PCE 投与群で認識された。一方, DT-diaphorase, glutathione *S*-transferase および UDP-glucuronyltransferase 活性も高用量の PCE で有意に増加し, それらの誘導率は 1.4~3.9 倍であった。以上の結果より, ラットにおいて PCE は, 薬物代謝の第一相および第二相反応酵素の両方を誘導し, 特に, CYP2B サブファミリー P450 分子種を強く誘導する化合物であることが示唆された。

**Keywords** : tetrachloroethylene, drug-metabolizing enzymes, cytochrom P450

\* 現在, 静岡県立大学薬学部

神野透人, 鈴木敏男<sup>\*1</sup>, 加藤寛久<sup>\*2</sup>, 羽生 努, 埴岡伸光, 豊岡利正<sup>\*3</sup>, 安藤正典 : **60 種類の揮発性有機化合物の相対保持値と保持指標**  
水道協会誌, 63, 29~37 (1994)

ページ・トラップ-ガスクロマトグラフィー/質量分析法で揮発性有機化合物を分析し, 保持時間の標準化について検討を行った。U. S. EPA Method 524.2 revision 3.0 で分析対象とされている 60 化合物について, 水質基準の検査方法で内部標準物質として用いられている 4-プロモフルオロベンゼンを基準物質とする相対保持値と n-アルカン類を基

準物質とする保持指標 ( $I_{TP}$ ) を算出した。また、1,1-ジクロロエチレン、トリハロメタン類および1,4-ジクロロベンゼンを基準物質とする保持指標 ( $I_H$ ) を新たに定義し、47化合物の  $I_H$  値を求めた。この  $I_H$  値は、分析対象化合物を基準物質として用いるために、検査方法に則った分析操作のみで指標値を算出できる簡便な保持指標である。また、有機ハロゲン化合物を基準物質として用いるために、検出器として電子捕獲型検出器 (ECD) を用いる場合にも  $I_H$  値を利用することが可能である。

**Keywords:** volatile organic compounds (VOC), GC/MS, retention index

\*1 福島県郡山市水道局

\*2 東京都水道局

\*3 現在、静岡県立大学薬学部

佐々木久美子, 松田りえ子, 斎藤行生: とうもろこしの保存およびコーンスターチ製造による収穫後使用農薬の減衰

食衛誌, 36, 89~92 (1995)

とうもろこしに散布した有機リン農薬の貯蔵による減衰およびコーンスターチ製造による有機リン農薬と臭素の減衰を検討した。10~18°で12週間保存した時、DDVPは25%に減少したが、クロルピリホスメチル、フェニトロチオン、ピリミホスメチルおよびマラチオンは約70%が残存した。

コーンスターチ製造時に、DDVPは亜硫酸浸漬処理中に大部分が消失し、スターチには0.1%しか残留しなかった。他の有機リン農薬は亜硫酸浸漬後も70~80%が残存したが、スターチに残留したのは2~13%であった。臭素は亜硫酸浸漬液および洗浄水中に移行し、スターチ中には1%しか残留しなかった。有機リン農薬は、スターチの原料になる胚乳よりも胚芽に高濃度に残留することが分かった。

**Keywords:** corn starch, pesticide residue, post harvest application

根本 了, 清水亮子\*1, 木川 寛\*2, 佐々木久美子, 斎藤行生: GC-FPD および GC/MS (SIM) による農産物中のホキシムの分析法

食衛誌, 36, 233~243 (1995)

ホキシムはGC測定で熱に不安定なことから、測定に適した注入口温度およびカラム温度について検討し、ホキシムの日常分析法として内径0.53 mmのキャピラリーカラムを使用したGC-FPD測定による迅速な分析方法を確立するとともに、妨害成分の影響によりGC-FPD測定が困難な場合には、GC/MS (SIM) 測定により定量する方法を設定した。農産物に残留基準濃度のホキシムを添加した場合の回収率は75.3~95.1%であった。また、マススペクトルを測定するのが困難な農産物中の低濃度のホキシムの確認法として、GC/MS (SIM) 測定によるフラグメントイオンの相対強度比を用いた方法について検討したところその有用性が示唆された。

**Keywords:** phoxim, gas chromatography-mass

spectrometry, selected ion monitoring

\*1 横浜市衛生研究所

\*2 瀬谷区保健所

Toyoda, M., Saito, Y., Uchiyama, M., Gendel, S.\*, Fry, F.\*, Trucksess, M.\* and Page, S.\*: **Chemometric Classification of L-tryptophan lots from genetically modified *Bacillus amyloliquefaciens* strains**

*J. Food Sci.*, 59, 1131~1134 (1994)

遺伝子組換えによる *B. amyloliquefaciens* 4株 (II, III, IV, V株) から製造されたL-トリプトファン製品38ロットについて、クラスター分析 (HCA)、主成分分析 (PCA)、ピーエルエス分析、K-最近隣法およびシムカ (SIMCA) の5種多変量解析 (ケモトリックス) による比較を試みた。III株およびV株からのロットはHCAおよびPCAでグループ分けが可能であり、II株およびIV株からのロットはIII株からのロットに近いことが分かった。SIMCAはケース関連ロットと対照ロットの識別に特に有用であった。

**Keywords:** chemometrics, L-tryptophan, *bacillus amyloliquefaciens*

\* FDA, USA

Toyoda, M., Saito, Y., Uchiyama, M., Troy, A.\*, Trucksess, M.\* and Page, S.\*: **Formation of a 3-(phenylamino) alanine contaminant in EMS-associated L-tryptophan**

*Biosci. Biotech. Biochem.*, 58, 1318~1320 (1994)

EMS (好塩基球増多筋肉痛症候群) 関連L-トリプトファン試料中の混入物3-(phenylamino) alanine (PAA) の成因について検討した。生合成前駆体であるアンスラニル酸を酸性下長時間加熱することにより、アンスラニル酸g当りアニリンが140  $\mu\text{g}$  生成されることがHPLC-UVおよびGC-MSにより判明した。またPAAはアニリンとセリンを塩基性下長時間加熱することにより、アニリンg当り160  $\mu\text{g}$  生成されることがHPLC-UVおよびLC-MSにより確認できた。この結果はPAAがトリプトファンの発酵製造および精製工程条件下でも生成し得ることを示している。

**Keywords:** tryptophan, eosinophilia-myalgia syndrome, 3-(phenylamino) alanine, aniline

\* CFSAN, FDA, USA

Kawasaki, M.\*, Toyoda M., Teshima, R., Sawada, J. and Saito, Y.: **Effect of  $\alpha$ -linolenic Acid on the metabolism of  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 polyunsaturated fatty acids and histamine release in RBL-2H3 cells**

*Biol. Pharm. Bull.*, 17, 1321~1325 (1994)

$\alpha$ -リノレン酸はコレステロールブルラン乳化物として培地に添加することによりRBL-2H3細胞に取り込まれた。さらに細胞のリン脂質画分にまで取り込まれていることが分かった。DNP-IgEで処

理細胞を感作後、DNP-BSA で刺激し、遊離ヒスタミン量を無処理細胞と比較した。処理細胞ではヒスタミン遊離量が有意に低下していた。

**Keywords:**  $\alpha$ -linolenic acid, fatty acid

\* 食品薬品安全センター秦野研究所

Kawasaki, M.\*<sup>1</sup>, Toyoda, M., Teshima, R., Sawada, J., Hayashi, T.\*<sup>2</sup>, Arisawa, M.\*<sup>2</sup>, Shimizu, M.\*<sup>2</sup>, Morita, N.\*<sup>2</sup>, Inoue, S.\*<sup>3</sup> and Saito, Y.: **In Vitro antiallergic activity of flavonoids in histamine release assay using rat basophilic leukemia (RBL-2H3) cells**

*J. Food Hyg. Soc. Japan*, 35, 497~503 (1994)

ラット好塩基球細胞 (RBL-2H3) を用いたヒスタミン遊離抑制活性および細胞毒性のアッセイ法を確立し、約 50 種のフラボノイドについて活性を調べた。配糖体よりもアグリコンで細胞毒性、ヒスタミン遊離抑制活性が概して強く、両者はおおむねパラレルであった。バイカレインと類似構造を有するスクテラレインは、細胞毒性が少なくヒスタミン遊離抑制活性が強いことが分かった。

**Keywords:** rat basophilic leukemia cell, antiallergy, flavonoid

\*<sup>1</sup> 食品薬品安全センター秦野研究所

\*<sup>2</sup> 富山医科薬科大学

\*<sup>3</sup> 日東電工

豊田正武: 食品の安全性評価に関する実質的同等コンセプトの応用に関する WHO・コペンハーゲン・ワークショップに参加して

バイオサイエンスとインダストリー, 53, 67~69 (1995)

平成 6 年 10 月末に開催されたワークショップの概要を紹介した。すなわち比較法による食品の安全性評価および実質的同等 (SE) の概念について報告があり、ついで各ケーススタディーにおける SE 適用と植物データベースの例が紹介された。最後に SE 確立に必要なパラメーターおよび比較に必要な基準について全体討議が行われた。

**Keywords:** biotechnology, substantial equivalence, genetically modified plants

Miyahara, M., Okada, Y.\*<sup>1</sup>, Takeda, H.\*<sup>2</sup>, Aoki, G.\*<sup>3</sup>, Kobayashi, A.\*<sup>3</sup> and Saito, Y.: **Multiresidue procedures for the determination of pesticides in food using capillary gas chromatographic, flame photometric, and mass spectrometric techniques**

*J. Agric. Food Chem.* 42, 2795~2802 (1994)

炎光光度検出器 (FPD) またはマススペクトロメーター検出器 (GC-MAS) 付きキャピラリーガスクロマトグラフィーを用いる食品中の残留農薬分析法を検討した。10 種類の有機燐系農薬を選び、キャピラリーカラムに DB-1, 5, 17, 210 を用い、分離と感度の点から分析法に検討を加えた。また、抽出精製法は回収率と操作性の簡便性から、Luke

法の改良法を用いた。グレープフルーツ、小麦、大豆などの作物について添加回収実験を試みたところ、138~10%の回収率を得た。また、GC-Mass 法の評価を行うため、各フラグメントの感度、フラグメントイオンの解析、フラグメントイオンの強度比の検討、実サンプルにおける定量、同定を試みたところ、定量は困難であったが、注意深く実験を行うと同定が可能であることを示した。

**Keywords:** pesticide residue analysis, FPD, GC-Mass

\*<sup>1</sup> 日本医療食協会

\*<sup>2</sup> 横浜検疫所

\*<sup>3</sup> 成田空港検疫所

Miyahara, M. and Saito, Y.: **Determination of bromide ions in food by unsuppressed ion chromatography with ultraviolet detection after microwave digestion in sealed PTFE vessel**

*J. Agric. Food Chem.* 42, 1126~1131 (1994)

電子レンジによる前処理法と UV 検出器付きアンサプレストイオンクロマトグラフィーを用いる食品中の臭素イオンの分析法を検討した。サンプルはアルカリ、過酸化水素と一緒にテフロン性の容器に密閉した後、電子レンジで数分加熱し、イオン交換樹脂で中性に戻し、分析した。30 分ほどで前処理は終了し、従来法の 10 分の 1 の時間で分析が始められる。分析は通常の高速度液体クロマトグラフに高性能のイオン交換樹脂を詰めたカラムを用いて分離、205 nm で定量を行った。味噌、トマトジュース、豚肉、パンそれぞれ 1 g あたり 25, 50  $\mu$ g の臭素イオンを添加し、分析したところ、87~119% 回収した。トータルダイエットの試料中の臭素を定量した。しかし、脂肪の多いサンプルは十分に分解されず、電気炉における従来の分解法が必要であった。

**Keywords:** bromide, unsuppressed ion chromatography, microwave digestion

Miyahara, M., Toyoda, M., Ushijima, K.\*<sup>1</sup>, Nose, N.\*<sup>2</sup> and Saito, Y.: **Volatile halogenated hydrocarbons in foods**

*J. Agric. Food Chem.* 43, 320~326 (1995)

種々の食品中の低沸点ハロゲン化炭化水素 13 種の定量分析とデータの統計解析により汚染源の推定を行った。試料は埼玉県衛生研究所の職員の方々の協力により県下 20 カ所で 13 種採取した。これを GC-ECD または、GC-Mass で定量し分析結果を得た。試料全体として高頻度で検出されたのはいわゆるトリハロメタン類と呼ばれるものであった。汚染源の推定には主成分分析とクラスター分析をおこなない、汚染源としては主に原料に用いた水と考えられる。しかし、モヤシについては製造方法に起因すると考えられた。さらに、これら 13 種の総摂取量についても計算し、食品を通じての摂取量は極めて少ないことが分かった。

**Keywords:** halogenated hydrocarbons, total diet

## study, multivariate analysis

\*1 日本食品分析センター

\*2 埼玉県衛生研究所

Miyahara, M., Kashiwada, Y.\*<sup>1</sup>, Xin Guo\*<sup>2</sup>, Houg-Xing Chen\*<sup>2</sup>, Yung-Chi Cheng\*<sup>2</sup> and Kuo-Hsiung Lee\*<sup>3</sup>: **Nitrosourea derivatives of 3', 4'-didemethoxy-3', 4'-dioxo-4-deoxypodophyllotoxin and urea derivatives of 4-O-demethoxypodophyllotoxin as potent inhibitors of human DNA topoisomerase II** *Heterocycles*, **39**, 1, 361~369 (1994)

ポドフィロトキシンの尿素誘導体とそのニトロソ尿素誘導体を合成し、ヒト由来のトポイソメラーゼ 2 への阻害活性、KB 細胞への細胞毒性等を調べた。もとの化合物よりも極めて活性の強いものもあった。  
**Keywords** : nitrosourea, podophyllotoxines topoisomerase 2

\*1 新潟薬科大学

\*2 エール大学医学部

\*3 ノースカロライナ大学薬学部天然物研究所

Akiyama, H., Miyahara, M., Toyoda, M. and Saito, Y.: **Liquid chromatographic determination of fumonisins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in corn by pre-column derivatization with 4-(N, N-dimethylaminosulphonyl)-7-fluoro-2, 1, 3-benzoxadiazole (DBD-F)**

*J. Food Hyg. Soc. Japan*, **36**(1), 77~81 (1995)

とうもろこし中フモニシン B<sub>1</sub>, フモニシン B<sub>2</sub> の新しい分析法を開発した。フモニシン B<sub>1</sub>, フモニシン B<sub>2</sub> は *Fusarium moniliforme* や *Fusarium proliferatum* などの真菌が産生する有毒代謝物で、馬の灰白質脳炎、豚の水胸症の原因物質されており、またヒトの食道癌とも関連があると報告されている。フモニシン B<sub>1</sub>, フモニシン B<sub>2</sub> はとうもろこしからメタノール-水 (3:1) で抽出し、強アニオン交換カラムカートリッジ (SAX) でクリーンナップした。その後、4-(N, N-dimethylaminosulphonyl)-7-fluoro-2, 1, 3-benzoxa-diazole (DBD-F) で誘導体化し、グラジェント HPLC により分析した。とうもろこし中の検出下限は 0.01 µg/g であった。とうもろこしにフモニシン B<sub>1</sub>, フモニシン B<sub>2</sub> を 0.5 µg/g の濃度で添加したときの平均回収率は各々 92%, 90% であった。

**Keywords** : fumonisin B<sub>1</sub>, HPLC, 4-(N, N-dimethylaminosulphonyl)-7-fluoro-2, 1, 3-benzoxadiazole (DBD-F)

Akiyama, H., Saito, M.\*<sup>2</sup>, Qiu, G.\*<sup>1</sup>, Toida, T.\*<sup>1</sup>, Imanari, T.\*<sup>1</sup>: **Analytical studies on hyaluronic acid synthesis by normal human epidermal keratinocytes cultures in a serum-free medium**

*Biol. Pharm. Bull.*, **17**(3), 361~364 (1994)

無血清培地条件で培養した標準ヒト表皮角化細胞

により産生されたヒアルロン酸 (HA) を、既に我々によって確立された高感度 HPLC 法により追跡した。表皮角化細胞の培養培地における主要 GAG は HA であった。HA 合成に対する細胞の能力は対数増殖期においては、細胞数の増加とともに増加する。そして細胞がコンフルエントになった後に、最大値に達した。表皮角化細胞による HA 合成は、培地へ塩化カルシウム添加することにより阻害されたが、レチノイン酸添加で強く促進した。更に dibutyryl cyclic AMP (dbcAMP) の添加によってわずかに HA 合成が促進された。培養培地における HA のタイムコース測定は、表皮角化細胞の増殖と分化のための活性物質の検索に役立つことが示された。

**Keywords** : hyaluronic acid, human epidermal keratinocytes, HPLC

\*1 千葉大学

\*2 野田産業科学研究所

Imanari, T.\*<sup>1</sup>, Saito, M.\*<sup>2</sup>, Qiu, G.\*<sup>1</sup>, Toida, T.\*<sup>1</sup> and Akiyama, H.: **Time-course Experiment involving glycosaminoglycan synthesis by normal human dermal fibroblasts culture in the presence of dibutyryl cyclic AMP and retinoic acid**

*Biol. Pharm. Bull.*, **17**(12), 1663~1665 (1994)

培養標準ヒト真皮線維芽細胞によるグリコサミノグリカン (GAG) 合成を分析した。ヒアルロン酸 (HA) 合成は培養 3 日目で最大を示し、その後、減少し一定のレベルを示した。細胞によるデルマトン硫酸 (DS) とコンドロイチン硫酸 (ChS) は、培養初期では、細胞数とともに増加し、細胞がコンフルエントになった後、一定のレベルに達した。更に細胞による GAG 合成に対する dibutyryl cyclic AMP (dbc AMP) や retinoic acid (RA) の影響を調べた結果、dbcAMP を含む培地で培養すると、細胞による HA と ChS の合成は、促進された。一方 DS 合成は、ほとんど影響しなかった。しかし、RA の添加は細胞による GAG 合成を抑制した。

**Keywords** : hyaluronic acid, human dermal fibroblast, dibutyryl cyclic AMP

\*1 千葉大学

\*2 野田産業科学研究所

Ishiwata, H., Sugita, T. and Yamada, T.: **Determination of tetramethylsuccinonitrile in foods by NPD-GC**

*J. Food Hyg. Soc. Japan*, **35**, 385~389 (1994)

テトラメチルサクシノニトリル (TMSN) はプラスチック添加剤の熱分解物である。プラスチックで包装された食品中の TMSN の分析法について検討した。包装食品 50 g または 50 ml を水蒸気蒸留し、留液に内部標準物質としてニトロベンゼンを添加する。塩化メチレンで抽出し、抽出液を 1 ml に濃縮した後、6 N 塩酸 1 ml で 3 回洗浄する。この液について、5%サーモン 1000+0.5%リン酸/クロ

モソルブWの1.8mのカラムを用いてNPD-GCを行う。本法をプラスチック製容器に包装あるいは充てんされた9種類の食品に適用したところ、妨害物は認められなかった。食品中のTMSNの検出限界は1ppb, 10~20ppbの添加時の回収率は94.0~104.2%であった。食品からはTMSNは検出されなかった。

**Keywords** : tetramethylsuccinonitrile, food, determination

Ishiwata, H., Takeda, Y., Yamada, T., Watanabe, Y.\*, Hosogai, T.\*, Ito, S.\*, Sakurai, H.\*, Aoki, G.\*, Ushiyama, N\* : **Determination and confirmation of methyl *p*-hydroxybenzoate in royal jelly and other foods produced by the Honey Bee**

*Fd. Addit. Contam.*, 12, 281~285 (1995)

パラオキシ安息香酸メチルは合成保存料の一種で、世界的に使用されているが、わが国では食品添加物として指定されていない。したがって、パラオキシ安息香酸メチルが検出された食品は違反品として扱われる。検疫所における輸入食品の検査において、ローヤルゼリーからしばしばパラオキシ安息香酸メチルが検出される。そこで輸入および国産の市販のローヤルゼリーについてパラオキシ安息香酸メチルを測定したところ、すべての試料から20~30ppm程度検出された。試料中の本物質が添加されたものか天然由来の成分かを明らかにする目的で、養蜂業者を通じて蜜蜂の巣箱から直接ローヤルゼリーを採取してパラオキシ安息香酸メチルを定量したところ、市販品とほぼ同等の濃度のパラオキシ安息香酸メチルが検出され、GC-MSにより確認された。食品中に天然成分としてパラオキシ安息香酸メチルが存在することが初めて明らかとなった。

**Keywords** : methyl *p*-hydroxybenzoate, royal jelly, natural component

\* 横浜検疫所輸入食品検査センター

武田由比子, 石綿 肇, 山田 隆 : **鉄強化食品中の二価および三価鉄の比色法による分別定量法の開発とその食品添加物の規格試験への応用**

*食衛誌*, 35, 538~542 (1994)

食品中の二価および三価鉄の分別定量法を開発し、その応用を試みた。試料を0.5N塩酸で超音波洗浄後、試験溶液とする。この液を試験管A, Bにとり、Aに塩酸ヒドロキシアミンを加え、次にA, Bにオルトフェナントロリン溶液を加え、波長510nmで吸光度を測定する。Aで無機鉄総量が得られ、Bで二価鉄、(A-B)で三価鉄含量が求められる。本法での定量下限は試験溶液中1μg/mlであった。二価鉄添加の回収率は清涼飲料、ビスケット、調製粉乳、ベビーフードで85%以上であった。調製粉乳、離乳食に添加した三価鉄は二価鉄として回収され、その回収率は90%以上であった。超音波抽出操作は簡便で酸化などのトラブルも少なく、食品中の二価、三価鉄の分別定量分析に適用できるもので

ある。この方法で市販品を分析したところ、アスコルビン酸添加の調製粉乳で、加えられた三価鉄が二価鉄として検出された。また本法は食品添加物の規格試験にも応用可能であった。

**Keywords** : iron enriched foods, ferrous ion, ferric ion

Kawasaki, Y., Goda, Y., Noguchi, H.\* and Yamada, T. : **Identification of adducts formed by reaction of purine bases with a mutagenic anthraquinone, lucidin: mechanism of mutagenicity by anthraquinones occurring in Rubiaceae plants**

*Chem. Pharm. Bull.*, 42, 1971~1973 (1994)

アカネ科植物由来のアントラキノン類の一つであるルシジンは、生理的条件下で核酸塩基と反応し、付加体を形成する。反応性はプリン塩基のアデニンが最も高く、ピリミジン塩基は殆ど付加体を形成しない。各種機器分析により、単離した二つのアデニン付加体と一つのグアニン付加体の構造決定を行った。その結果、いずれの付加体もルシジンのベンジル位とプリン塩基の窒素原子が結合した化合物であることが判明した。以上のことより、求電子性の中間体として、エキソメチレン体の形成が強く示唆された。

**Keywords** : lucidin, *rubia tinctorum*, adduct formation

\* 東京大学

米谷民雄, 邢大榮, 寺井里枝, 義平邦利 : **カラギナンの試験法への真空型ICP発光分光法の応用**

*食衛誌*, 35, 631~635 (1994)

天然添加物のカラギナンは硫酸基をもつガラクトンであり、JECFA等の規格では、硫酸基含量が規定されている。分析法としては、湿式分解後にバリウム塩を加えて、生成する硫酸バリウムの重量を測定する方法が採用されているが、操作に手数がかかる難点がある。一方、真空型ICP発光分光法では、イオウの分析が可能である。そこで、ICPにより測定したイオウ濃度から硫酸基含量を算出する方法を、カラギナン中の硫酸基の分析に応用した。市販5製品につき、硫酸バリウム重量法とICP法により硫酸基含量を分析したところ、R=0.99の相関が認められた。市販21製品につき、ICP法により硫酸基含量を分析したところ、14~34%という結果が得られた。カラギナン製剤ではゲル化度や粘度を調整するために、金属塩が添加されることも多い。そこで、金属塩添加が、カラギナン試料中の金属と硫酸基による電荷の比から判定できるかを、イオウと同時に分析したNa, K, Mg, Ca濃度を用いて検討した。電荷比は1付近のものが多かったが、原体として提出されたものでも比が1.5以上のものが7製品あり、この比のみで判定することは困難であった。

**Keywords** : carrageenan, ICP atomic emission spectrometry, sulfate content

Maitani, T., Kubota, H., Nakano, N. and Takeda, M.: **Organ distribution and urinary excretion of aluminum administered with food additives in mice and their relation to *in vitro* chemical state in serum**

*Jpn. J. Toxicol. Health*, **40**, 513~519 (1994)

アルミニウム (Al) の体内挙動に及ぼす食品添加物の影響を調べた。 *in vivo* で、Al を食品添加物とともにマウスに腹腔内投与し、Al の臓器分布と尿中排泄量を調べ、 *in vitro* で、Al と食品添加物の混合液をマウス血清に添加した時の Al の化学形を、ゲルろ過カラムを装着した HPLC-ICP 法により調べた。食品添加物としては、マルトール、コウジ酸、没食子酸を用い、没食子酸に構造類似の没食子酸メチルもあわせ検討した。Al をマルトールまたはコウジ酸と 1:1 のモル比で投与した時には、Al は主として肝と脾に移行し、尿中排泄量は少なかった。1:1 の比で血清に添加した時には、Al は高分子画分と低分子画分の両方に存在していた。一方、Al とマルトールを 1:3 の比で投与した時、および Al と没食子酸または没食子酸メチルを 1:1 の比で投与した時には、Al は腎にもかなり移行し、尿中排泄量も多かった。また、血清に添加した時には、Al は低分子画分のみを検出された。このように、食品添加物共存下における Al の *in vivo* と *in vitro* の挙動には相関が認められた。結果は、各食品添加物の Al に対する安定度定数の違いに基づいて、解釈された。

**Keywords** : aluminum, HPLC-ICP, food additive

米谷民雄, 岩崎京子, 久保田浩樹, 山田 隆: マルトールおよびコウジ酸の共存下におけるアルミニウムの体内挙動

*Biomed. Res. Trace Elements*, **5**, 149~150 (1994)

Al の体内挙動に及ぼすマルトールとコウジ酸の影響を比較する目的で、Al と両食品添加物を、1:1, 1:2, 1:4 のモル比で混合して、マウスに静脈内投与した。1:4 で投与した時には、1:1 や 1:2 で投与した時より、肝と脾の Al 濃度が低く、尿中排泄量は有意に多かった。臓器への影響を見るために、必須金属濃度の変化を調べたところ、Al:マルトール=1:4 の場合に、肝中 Ca 濃度の有意な上昇が認められた。Al 単独、マルトール単独、および他の混合比においては、肝中 Ca 濃度の有意な変化は認められず、また、コウジ酸の場合には、いずれの比においても、肝中 Ca 濃度の変化は認められなかった。このように、Al:マルトール=1:4 においては、肝中 Al 濃度が低いにもかかわらず、肝中 Ca 濃度の上昇が認められたことから、Al-マルトール錯体、特に 1:3 錯体が特異的に毒性を示す可能性が示唆された。Al-マルトール錯体には脳神経細胞毒性も報告されており、注目される。しかし、マルトールの使用量や体内での Al との結合の可能性を考えると、今回の結果が、すぐには食品添加物としてのマルトールの危険性には結びつかない

と考えられた。

**Keywords** : aluminum, maltol, kojic acid

Goda, Y., Sato, K., Hori, N., Takeda, M., Maitani, T.: **Liberation of halide ions from xanthene colors (Food Red Nos. 3, 104 and 105) by photo-irradiation**

*Chem. Pharm. Bull.*, **42**, 1510~1513 (1994)

光照射によるハロゲン置換基をもつキサンテン色素からのハロゲンイオンの遊離を、イオンクロマトグラフ法により分析した。波長依存性について検討するため、キサンテン色素水溶液を、各種光学フィルターを通して光照射した。その結果、キサンテン部からの、臭化物およびヨウ化物イオンの遊離は可視光の照射で、ベンゼン環からの塩化物イオンの遊離は UV 光の照射で生じることが示唆された。キサンテン色素は水溶液中で、光化学反応により、溶存酸素を一重項酸素に変換することが知られている。よって、一重項酸素の存在時間に影響を与える化合物の、ハロゲンイオン遊離に与える影響について検討した。その結果、光化学反応により生じた一重項酸素が、色素からのハロゲンイオン遊離において、なんらかの役割を果たしていることが明らかとなった。

**Keywords** : xanthene color, halide ion, photochemicals reaction

Kubota, H., Sato, K., Yamada, T. and Maitani, T.: **Phytochelatin (class III metallothioneins) and their desglycyl peptides induced by cadmium in normal root cultures of *Rubia tinctorum* L.**

*Plant Sci.*, **106**, 157~166 (1995)

セイヨウアカネ培養根にカドミウム (Cd) を添加し培養すると金属結合物質が誘導される。この物質の構造を明らかにするために、培養根上清を精製し、分画した金属結合物質画分の構造を ESI-MS およびアミノ酸分析で決定した。その結果、 $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}$  の  $n=2\sim 5$  のペプチドであるフィトケラチンと、その C 末端の Gly が欠損した  $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n$  であることが確認された。また、グルタチオンを Cd と同時に添加した時、これらペプチドの誘導はさらに高まった。

**Keywords** : phytochelatin, cadmium, metallothionein

Sakamoto, S., Goda, Y., Maitani, T., Yamada, T., Nunomura, O.\*<sup>1</sup> and Ishikawa, K.\*<sup>2</sup>: **High-performance liquid chromatographic analyses of capsaicinoids and their phenolic intermediates in *Capsicum annuum* to characterize their biosynthetic status**

*Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 1141~1142 (1994)

トウガラシ (*Capsicum annuum* L.) の 2 品種について、果実の成熟に伴う、胎座中のカプサイシノイドおよび非配糖化芳香族前駆体の含量変動を調べ



た。非配糖化芳香族前駆体の含量変動を検出したのは初めてである。辛味の強いジュラペノ種では、カプサイシノイドの含量は、常に前駆体の含量の15倍以上であった。また、カプサイシノイドと前駆体の蓄積は、開花後4週目にほぼ同時に開始された。さらに、辛味のない下総種からも、前駆体が検出された。しかし、ジュラペノ種の場合と比較して、その含量に大きな違いは見られなかった。上述の結果は、既に Sukrasno と Yeoman により報告されている *C. frutescens* を用いた結果と若干異なっていた。

**Keywords:** capsaicinoids, *capsicum annum*, phenolic intermediates

\*1 日本園芸生産研究所

\*2 千葉大学園芸学部

河村葉子, 小島佳奈\*, 杉田たき子, 山田 隆, 斎藤行生: 熱発光法による照射香辛料検知法の比較検討

食衛誌, 36, 55~61 (1995)

熱発光を用いた3種類の照射検知法について、市販香辛料に $\gamma$ 線を照射し、1年間保存した試料を用いて比較検討した。試料を前処理なしに測定する直接測定法では照射の有無の判別はほぼ困難であった。香辛料に付着する鉱物質を抽出する抽出測定法では、照射試料すべてで熱発光量が大幅に増加した。しかし変動も大きく30 kGy 照射試料の判別も十分ではなかった。そこで2次照射を行いその前後の熱発光比を求める標準化法を検討したところ、5 kGy 以上照射試料では100%、1 kGy 照射試料では約90%が照射と正しく判定され、照射香辛料の検知法として優れており、実用可能であると評価された。

**Keywords:** thermoluminescence, irradiated spices, identification method

\* 昭和女子大学

杉田たき子, 河村葉子, 山田 隆: 高速液体クロマトグラフィーによるポリカーボネート中の残存モノマーおよび重合調節剤の同時分析

食衛誌, 35, 510~516 (1994)

ポリカーボネートの原料であるビスフェノールAとジフェニールカーボネートおよび重合調節剤であるフェノール系化合物3種類について同時分析法を検討した。試料をジクロロメタンに溶解後、アセトンを加えて高分子化合物を沈殿させた。上澄液を濃縮しアセトニトリルに溶解後、さらに水を加えてオリゴマーを沈殿させクリーンアップした。HPLCはODSカラムを用い、アセトニトリル-水を移動相にしたグラジエント溶出で検出波長を217 nmに設定して測定した。材質試験の添加回収率はすべての化合物で90%以上で、定量限界は2 ppmであった。本法は低濃度の測定にも適用でき、溶出試験溶液での定量限界は0.005~0.01 ppmであった。

**Keywords:** polycarbonate, polymerization regulator, bisphenol A

杉田たき子, 石綿 肇, 河村葉子, 馬場二夫\*, 梅原龍海\*, 森田 茂\*, 山田 隆: ヘッドスペース-ガスクロマトグラフィーによるポリスチレン製食品用容器中の揮発性物質の分析

食衛誌, 36, 263~268 (1995)

食品用ポリスチレン(PS)中のスチレン等揮発性物質(トルエン, エチルベンゼン, イソプロピルベンゼン, *n*-プロピルベンゼンおよびスチレン)についてヘッドスペースGCによる分析法を検討した。試料2.0 gをバイアル瓶にはかり取り、ジメチルホルムアミド1.0 mlおよび内部標準物質として $\beta$ -ジエチルベンゼンを加え、90°Cで1時間加熱した後、気相0.5 mlをキャピラリーカラムGCに注入した。揮発性物質標準溶液の回収率は内部標準法で90~101%、絶対検量線法では94~106%であった。ヘッドスペース法と直接注入法との測定値は良く一致し、感度は前者が2倍から4倍優れていた。この分析法で発泡PS製品14試料を測定したところ、規制対象外のキシレン(*o*-, *m*-, *p*-)が11試料で検出された。

**Keywords:** polystyrene, food container, volatile substance

\* 大阪市立環境科学研究所

Tanno, M., Sueyoshi, S. and Miyata, N.: Transnitrosation by *N*-Aryl-*N*-nitrosoureas; NO-Carrying *O*-Nitrosoisourea

Chem. Pharm. Bull., 42, 1760~1767 (1994)

芳香族 *N*-ニトロソ尿素類, 芳香族 *N*-ニトロソアミド類, 芳香族 *N*-ニトロソアミン類と *N*-アルキルアニリン誘導体を室温付近で反応させると、ニトロ基の分子間移動反応(トランスニトロソ化反応)が起こる。また、芳香族 *N*-ニトロソ尿素類は、*N*-アルキル-*N*-アリール尿素に対してもトランスニトロソ化を行う。特に、立体障害の大きい三置換芳香族 *N*-ニトロソ尿素は、ジアルキルアニリンの脱アルキルのニトロソ化を速やかに起こすことや芳香族 *N*-ニトロソアミド類も *N*-アルキルアニリンをトランスニトロソ化することが明らかになった。反応機構はニトロソ化合物がNOを遊離した後、*O*-ニトロソイソ尿素になり、この中間体が *N*-アルキルアニリン類や尿素体を求核攻撃した結果、トランスニトロソ化を生ずると結論づけた。 *N*-アルキルアニリンのパラ置換基が電子供与基のとき反応は加速した。

**Keywords:** nitrosourea, nitosamine, nitric oxide

Kurihara, M. and Miyata, N.: Facile procedure for acetalization using diols, alkoxysilane and a catalytic amount of trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate

Chem. Lett., 1995, 263~264 (1995)

アセタール類はカルボニル基の保護基としてだけでなく、不斉誘起反応におけるキラル補助基としても有用である。野依らが開発したアルコキシランを用いたアセタール化反応は非常に有用であり、多

くの合成に使用されている。しかし、この方法には用いるアルコールそれぞれのアルコキシシランを合成しなければならないという煩雑な点もある。筆者らは、2級または3級のアルコキシシランを加えることによりシリル化していないジオールを用いて緩和な条件で収率良くアセタール化が進行することを見いだした。この方法は非常に簡便であり、しかも光学活性なジオールによるアセタール化や $\alpha, \beta$ -不飽和ケトンのアセタール化も行え、有機合成上有用な方法のひとつとなりえると考えられる。

**Keywords** : acetalization, alkoxysilane, diol

Fukuhara, K. and Miyata, N.: **Chemical oxidation of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons: Hydroxylation with superoxide anion radical**

*Chem. Res. Tox.*, 8, 27~39 (1995)

ニトロアレーンの代謝反応として母核の水酸化反応が知られている。しかし、ニトロアレーンは電子欠損構造を有しており、一般に種々の化学的酸化剤による酸化反応を受けにくい。どのような酸化活性種がニトロアレーンを酸化するかを調べ、その結果、 $\text{KO}_2$  から化学的に発生させたスーパーオキシドがニトロアレーンを速やかに酸化することを明らかにした。ニトロアレーンとして1-ニトロピレンを用いたときには、5-, 6-, 8-, 9-ヒドロキシニトロピレンおよび1-ヒドロキシピレンが生成する。ジニトロピレン、3-ニトロフルオランテン、6-ニトロベンゾ[a]ピレン、6-ニトロクリセンなども同様に水酸化体に酸化される。この反応でニトロアレーンの酸化代謝生成物と同一の酸化物が生成することから、本反応はニトロアレーン類の酸化代謝物の合成に有用である。また、生体内での酸化代謝反応における酸化活性種がスーパーオキシドである可能性も指摘される。

**Keywords** : nitorarene, superoxide, hydroxylation

Fukuhara, K., Takei, M., Kageyama, H. and Miyata, N.: **Di- and trinitrophenanthrenes: Synthesis, separation, and reduction property**

*Chem. Res. Tox.*, 8, 47~54 (1995)

ニトロアレーンは環境汚染物質として良く知られているが、ポリニトロフェナンスレン類に関する研究はほとんど行われていない。今回、フェナンスレンを条件をコントロールしながらニトロ化し、次いで、分取高速液体クロマトグラフィーを用いて精製することにより、11種類のジニトロフェナンスレンおよび9種類のトリニトロフェナンスレンを単離し、核磁気共鳴装置などを用いてこれらの構造を明らかにした。ジニトロ体およびトリニトロ体にモノニトロ体を加え、ニトロフェナンスレン類の還元され易さを電気化学的手法で解析した。また、AM1法を用いた半経験的分子軌道計算を用いることにより、LUMOエネルギーレベル、および、ニトロ基とフェナンスレン母核との二面角を求め、これらの

値を用いてニトロフェナンスレンの変異原性の予測を行った。

**Keywords** : nitroarene, phenanthrene, nitration

Sawada, J., Kikuchi, Y., Shibutani, M., Mitsumori, K., Inoue, K. and Kasahara, T.\*: **Induction of metallothionein in astrocytes by cytokines and heavy metals**

*Biol. Signals*, 3, 157~168 (1994)

メタロチオネインに対するモノクローナル抗体を用いて、ラットおよびヒト脳におけるメタロチオネインの分布を免疫組織化学的に検討し、主として星状膠細胞(アストロサイト)に存在することを明らかにした。また、ヒトアストロサイト-マ細胞株およびラット初代培養アストロサイトを用いて、重金属およびサイトカインによるメタロチオネインの誘導を検討し、インターロイキン-1(IL-1)、 $\text{ZnCl}_2$  および $\text{CdCl}_2$ による顕著なメタロチオネインの誘導を明らかにした。この結果は、IL-1によって脳内メタロチオネインが上昇する可能性が高いことを示すものである。さらに、IL-1等による脳内メタロチオネイン誘導の生物学的意味を、その脳内炎症における抗酸化作用や、 $\text{Zn}$ ニューロンとの関連、等の諸点から考察した。

**Keywords** : astrocytes, metallothionein, interleukin-1

\* 自治医科大学

Saito, Y., Teshima, R., Yamazaki, T., Ikebuchi, H. and Sawada, J.: **Ligand-induced internalization and phosphorylation-dependent degradation of growth hormone receptor in human IM-9 cells**

*Mol. Cell. Endocrinol.*, 106, 67~74 (1994)

ヒトIM-9細胞における成長ホルモン(hGH)刺激後のヒト成長ホルモン受容体(hGHR)の細胞内動態を検討した。イムノプロット法においてhGH刺激により、時間依存的にhGHRのバンドの著名な消失がみられた。膜画分以外の画分において検出されるバンドには変化が認められないことから、hGHRは分解されたと考えられた。またhGHRの分解には、リソソームやエンドソーム等の酸性オルガネラが関与していることが示唆された。hGH刺激によるhGHRのinternalizationおよび分解はhGH濃度依存的であり、ともにhGHが約10nMで最大となった。一方、スタウロスポリンにより、hGHRのinternalizationはほとんど阻害されなかったが、分解は濃度依存的に阻害された。分解を抑える濃度のスタウロスポリンにより、JAK-2を含む数種の蛋白質のリン酸化は完全に抑えられていた。これらの結果から、hGH刺激によるhGHRのinternalizationには、hGHRの2量体化が必要であり、リン酸化は関与していないが、分解過程には何らかの蛋白質のリン酸化が必要であることが示唆された。

**Keywords** : growth hormone receptor, internal-

ization, degradation

Saito, Y., Yamazaki, T., Suzuki, K., Ikebuchi, H., Asakura, A.\*, Ota, Y.\*, Sawada, J. and Terao, T.: **Preparation of monoclonal antibodies for immunoblotting human growth hormone receptor and growth hormone-binding protein**

*Biol. Pharm. Bull.*, **17**, 983~986 (1994)

4種のヒト成長ホルモン受容体細胞外ドメインペプチドに対するモノクローナル抗体を調製した。遺伝子工学的に調製した細胞外ドメイン蛋白と反応した4種の抗体中、GHRP 2-88抗体がIM-9細胞の成長ホルモン受容体に対し、イムノブロット法において最も高い反応性を示した。本イムノブロット法における検出限界は約0.2 ngであった。また、GHRP 2-88抗体は、tunicamycin処理により糖鎖を除去した受容体およびヒト血清中に存在する成長ホルモン結合蛋白とも反応性を示した。

**Keywords**: monoclonal antibody, immunoblotting, growth hormone receptor

\* 蛋白工学研究所

Tanaka, T., Teshima, R., Ikebuchi, H., Sawada, J. and Ichinoe, M.: **Sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for the mycotoxin zearalenone in barley and Job's-tears**

*J. Agric. Food Chem.*, **43**, 946~950 (1995)

大麦およびハト麦中におけるゼラレノンの高感度な酵素免疫測定法を開発した。まず固相抗原をMannich反応により調製したのち、高感度化のために affinity chromatographyにより精製固相抗原を得た。この抗原と5-アミノゼラレノン-ウシ血清アルブミン複合体を免疫抗原として得られた特異性の高い抗ゼラレノン抗体を用いて検量線を作成したところ、検出限界が0.2 ng/mL (10 ng/g 麦)に向上した。大麦およびハト麦の試料を粉碎後、水:メタノールにて抽出、ついでジクロロメタン抽出、水洗、溶媒留去後、リン酸緩衝液:メタノールに溶解し(A法)、ならびに試料を水:メタノールによる抽出液をトリス塩酸、グルタミンを含有するリン酸緩衝液で希釈し(B法)、それぞれの溶液をアッセイに供した。その結果A法およびB法によるゼラレノンの回収率は106%、98%であり、再現性も良好な値を示した。試料の前処理なく簡便なB法により2種穀類200検体中の測定を本法で行い、検出された54検体をHPLCにより測定比較したところ、 $r=0.971$ と良好な相関性が得られた。

**Keywords**: ELISA, zearalenone, barley and Job's-tears

Teshima, R., Ikebuchi, H., Nakanishi, M.\* and Sawada, J.: **Stimulatory effect of pervanadate on calcium signals and histamine secretion of RBL-2H3 cells**

*Biochem. J.*, **302**, 867~874 (1994)

ラット好塩基球細胞からの脱顆粒反応への蛋白質チロシンリン酸化反応の役割について解析を行うため、蛋白質チロシン脱リン酸化反応阻害作用を有し、種々の蛋白質チロシンリン酸化反応増強効果を有するpervanadateを用いて解析を行った。Pervanadateは、過酸化水素とバナジウム酸を1:1で反応させたものを用いた場合に、IgE受容体の架橋形成により引き起こされるものとほぼ同様のIP<sub>3</sub>産生、持続性のカルシウム濃度上昇および、ヒスタミン遊離能を示した。この反応は、外液カルシウム依存性の反応であったことより、細胞外からのカルシウム流入を伴う反応であり、細胞外からのカルシウム流入へのチロシンリン酸化反応の関与が示唆された。また、過酸化水素とバナジウム酸の比率を高めると、IP<sub>3</sub>の産生能は高まるが細胞内カルシウム濃度上昇は一過性となり、ヒスタミン遊離能も低下した。このことより、持続性のカルシウム濃度上昇が、この細胞からのヒスタミン遊離に必須であることが示唆された。

**Keywords**: pervanadate, calcium signal, histamine

\* 名古屋市立大学薬学部

Horikoshi, Y.\*, Furuno, T.\*, Teshima R., Sawada, J. and Nakanishi, M.\*: **Thapsigargin-induced nuclear calcium signals in rat basophilic leukemia cells**

*Biochem. J.*, **304**, 57~60 (1994)

ラット好塩基球(RBL-2H3)細胞におけるthapsigarginによる細胞内カルシウム濃度上昇を、488 nm 励起アルゴンイオンレーザーおよび325 nm 励起ヘリウムカドミウムレーザーを装備した共焦点レーザー走査顕微鏡を用いて観察を行った。細胞外カルシウムの存在下、非存在下とも細胞質ばかりでなく、核へもカルシウムシグナルの伝達が観察された。カルシウムシグナルは、細胞質よりも核の方が強かった。分葉核を持つようになったRBL-2H3細胞の変異株では、thapsigarginによる核へのシグナルが減弱していた。この分葉核を持つRBL-2H3細胞では、IgE受容体の架橋形成に伴う細胞質および核のカルシウムシグナルは、両方とも抑制されていた。この結果は、RBL-2H3細胞での核へのカルシウムシグナル伝達メカニズムを知るうえで新しい視点を導入しうるものと考えられる。

**Keywords**: thapsigargin, calcium signal, RBL-2H3

\* 名古屋市立大学薬学部

Tanamoto, K.: **Predominant role of the substituents on the hydroxyl groups of 3-hydroxy fatty acids of non-reducing glucosamine in lipid A for the endotoxic and antagonistic activity**

*FEBS. Lett.*, **351**, 325~329 (1994)

脂肪酸のアクセプターである内毒素活性中心リピドAの前駆体構造中の遊離水酸基にサクシニル基、

もしくはアセチル基を導入することにより内毒素活性が完全に喪失するとともに強力なアンタゴニストに変換することを見いだした。一方、完全構造であるサルモネラ、および大腸菌型のリピドAを同処理してもまったく活性が失われないことから、リピドA構造の非還元末端グルコサミンの3-ヒドロキシ脂肪酸の水酸基の置換基が内毒素活性を完全に支配していることを意味するとともに、この部位が内毒素アンタゴニスト活性発現にも重要な役割をはたしていることが示唆された。

**Keywords**: endotoxin, non-toxic lipid A, endotoxin antagonist

Tanamoto, K.: **Dissociation of endotoxic activities in a chemically synthesized lipid A precursor after acetylation**

*Infect. Immun.*, **63**, 690~692 (1995)

リムルステストは内毒素活性の代表的なものとしてとらえられ、したがって発熱試験の代替法の有力な候補であり、現在までそれに矛盾する結果は得られていない。しかし本研究でリピドAの前駆体をアセチル化する事によりすべての内毒素活性は10万倍以下と完全になくなったが、リムルス活性のみは完全に保持されることがわかった。サクシニル化ではリムルス活性も完全になくなることから置換基がリムルス凝固系のファクターCとの反応に影響を与えているものと思われる。この結果はリムルステストが必ずしもエンドトキシン活性の指標とはなり得ないことを示している。

**Keywords**: endotoxin, *limulus* test, pyrogen

Kumada, H.\*, Haishima, Y., Umemoto, T.\* and Tanamoto, K.: **Structural study on the free lipid A isolated from lipopolysaccharide of *Porphyromonas gingivalis***

*J. Bacteriol.*, **177**, 2098~2106 (1995)

*P. gingivalis* は歯周病の原因菌であり、その内毒素は重要な病原因子と考えられている。その活性中心リピドAの単離に初めて成功し、遊離リピドAの完全構造を同定した。このリピドAは $\beta$ 1,6結合ジグコサミン骨格を有し、その還元末端の2, 3位がそれぞれ (R)-3-hydroxy-15-methylhexadecanoic acid と (R)-3-hydroxyhexadecanoic acid で、また非還元末端の2', 3'位が (R)-3-O-(hexadecanoyl)-15-methylhexadecanoic acid と (R)-3-hydroxy-13-methyltetradecanoic acid で置換され、さらに1位が完全に、また4'位が部分的にリン酸で置換されている構造体であることが明らかになった。これにより今後の病因解明に有力な道が開けた。

**Keywords**: *P. gingivalis*, LPS, chemical structure

\* 神奈川歯科大学

Isshiki, Y.\*, Haishima, Y., Kondo, S.\* and Hisatsune, K.\*: **Immunochemistry of group A and Inaba C antigen factors constituting the**

**O antigen of O1 *Vibrio cholerae***

*Eur. J. Biochem.*, **229**, 583~588 (1995)

3-デオキシ-L-グリセロテロン酸でN-アシル化された $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 2) 結合ペロサミンホモポリマーを持つO1コレラ菌LPSのO-抗原特異性を、異なった置換基でN-アシル化された同ホモポリマーを持ち、かつ同コレラ菌と共通抗原性を有する数種の関連ビブリオLPSを用いて検討した。各LPSをN-アシル化すると各LPSのO-抗原特異性および共通抗原性が完全に消失した。遊離アミノ基にアセチル基、プロピオニル基およびブチル基を化学的に導入すると、O1コレラ菌イナバ抗原因子Cが復活し、各LPS間に交叉反応性が認められたことから、イナバ因子Cはその種類を問わず同ホモポリマーがN-アシル化されていれば発現することが示された。また、同化学処理によるN-置換基転換により、O1コレラ菌グループ抗原因子Aは還元しなかったことから、同因子の発現には3-デオキシ-L-グリセロテロン酸がN-アシル基として必須であることが明らかになった。

**Keywords**: O1 *V. cholerae*, LPS, O-polysaccharide

\*城西大学

宮原美知子, 島田俊雄\*, 三瀬勝利: ***Vibrio cholerae* non O1 における制限酵素の特徴**

食衛誌, **35**, 599~604 (1994)

*Vibrio cholerae* non O1 (ビブリオコレレ非O1) のO抗原標準株118株より14株の制限酵素産生菌を見だし、10種類の制限酵素の特徴付けを行った。このうち、*EcoRI* 制限酵素のアイソゾマーが *V. cholerae* O2 より発見されたが、その各種性状は *EcoRI* とよく似ていた。遺伝子操作に繁用される *EcoRI* の起源についても考察を加えた。本報告は *V. cholerae* における制限酵素の存在を実証した最初のものである。

**Keywords**: *vibrio cholerae* non O1, restriction endonuclease

\* 国立予防衛生研究所

宮原美知子, 藤原理恵\*1, 三瀬勝利, 島田俊雄\*2, 松下 秀\*3, 工藤泰雄\*3, 石渡尚子\*4, 谷村顕雄\*4: **腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) の制限酵素の特徴**

食衛誌, **35**, 605~609 (1994)

270株の腸炎ビブリオの制限酵素産生性を検索したところ、46株より同酵素が検出された。36株でその特異性が決定され、7種の特異性の異なる制限酵素に分類された。これらはすべて既知のアイソゾマー (*AvaiI*, *AsuI*, *PmaCI*, *PstI*, *Eco31I*, *EarI*, *SapI*) であった。腸炎ビブリオには非パ lindromic塩基配列を認識する制限酵素を産生する株が多くみられた。

**Keywords**: *vibrio parahaemolyticus*, restriction endonuclease, non-palindromic sequence

\*1 北里大学衛生学部

\*2 国立予防衛生研究所  
 \*3 東京都立衛生研究所  
 \*4 昭和女子大学

上田成子\*1, 桑原祥浩\*1, 安形則雄\*2, 小沼博隆,  
 品川邦汎\*3: *Bacillus thuringiensis* の土壤中での  
 消長と分布について  
 日食微誌, 11, 43~50 (1994)

平成4年7月に食中毒菌である *Bacillus cereus* (BC菌) と分類学上の区別が難しい *Bacillus thuringiensis* (BT菌) の生菌芽胞を食用野菜に散布することが許可された。そこで、本菌が畑地に散布された場合の消長ならびに国内における本菌の分布状況を調査し、以下の結果を得た。

1. BT菌生芽胞製剤およびこれら製剤から分離された *B. thuringiensis*, Aizawai と *B. thuringiensis*, Kurstaki の2菌種の芽胞を畑地土壤に散布 ( $10^5$  cfu/g) し、土壤中におけるBT菌の消長を観察したところ、散布直後はいずれの圃場においてもBT菌の増加が見られその後やや減少しがほとんど変化せず1年後でも  $10^4$  cfu/g を保持していた。

2. 日本全国257圃場から採取された土壤中のBC菌およびBT菌数は、 $10^4 \sim 10^6$  cfu/g の範囲にあった。

3. 圃場から分離したBC, BT菌1906菌株のうち40株がBT菌であった。また、BT菌が分離された圃場は、257圃場のうち14圃場であった。

**Keywords:** *B. thuringiensis*, anti H-sera, microbial pesticide

\*1 女子栄養大学  
 \*2 名古屋市衛生研究所  
 \*3 岩手大学

梅迫誠一\*1, 徳丸雅一\*2, 小沼博隆, 桑原祥浩\*3,  
 牛山政志\*4, 森田裕\*4: DNAハイブリダイゼーション法およびELISA法キットによる鶏肉および液卵からのサルモネラ検出

日本食品低温保蔵学会誌, 20, 67~72 (1994)  
 新開発された2種類のサルモネラ検出用検査キット(サルモネラアッセイならびにサルモネラテック)の検査精度を評価する目的で、サルモネラ汚染鶏肉37検体(生肉17, 冷凍肉20検体)および冷凍鶏卵10検体を用いて従来法と比較した。その結果、サルモネラアッセイでは生肉, 冷凍肉とも選択増菌培地にハーナテトラチオン酸塩培地(HTT)を用いた場合にのみ従来法と同様に100%の検出率が得られた。一方、サルモネラテックは生肉では従来法と同様に100%の検出率が得られたが、冷凍肉および冷凍鶏卵ではHTT培地を用いた場合でも93.3%の検出率であった。また、検査に要する時間は従来法が96時間以上を要すのに対し、両キットとも38~44時間と2日間短縮できた。

**Keywords:** salmonella, DNA hybridization, ELISA

\*1 奈良県衛生研究所  
 \*2 埼玉県衛生研究所

\*3 女子栄養大学  
 \*4 チッソ株式会社横浜研究所

安形則雄\*1, 森正司\*1, 小沼博隆, 品川邦汎\*2: 牛乳におけるセレウス菌の挙動に関する検討  
 食品と微生物, 10, 211~216 (1994)

牛乳中におけるセレウス菌の腐敗, 変敗および食中毒原性を調べることを目的に、市販牛乳中でのセレウス菌の増殖性, pHの変化と凝固および食中毒原性毒素(下痢毒:エンテロトキシンならびに嘔吐毒様物質:HEp-2細胞変性活性物質)の産生能について検討した。その結果、牛乳にセレウス菌を接種し  $10^7$  CFU/ml に達し、pHも菌の増殖に伴い低下し12時間後にはpH4.0になり、24時間後には凝固が見られた。下痢毒産生は、20°Cで16時間、30°Cで12時間保存後に認められ、保存時間の経過とともに生産量は増加したが、10°C保存では認められなかった。一方、嘔吐毒様物質産生は、20°Cで20時間、30°Cで12時間以後から生産しはじめ、保存時間の経過とともに生産量は増加したが、10°C保存では7日間まで認められなかった。以上の結果から、牛乳の菌の増殖, 腐敗, 変敗および食中毒等の防止を図る上において牛乳の保存基準である「10°C以下」は改めて有効であることが示唆された。

**Keywords:** *bacillus cereus*, milk, diarrheal enterotoxin

\*1 名古屋市衛生研究所  
 \*2 岩手大学

増田高志\*1, 小沼博隆, 品川邦汎\*2: タマゴの処理工場(GPセンター, 割卵工場)における細菌汚染とその防止対策

食品と微生物, 10, 203~210 (1994)

サルモネラ汚染防除対策, 特に鶏卵生産農場から鶏卵処理・加工, 流通に至る各過程での衛生管理ポイントを明らかにすることを目的にGPセンター(Grading and Packaging Center)および割卵工場の各処理行程のサルモネラを含む微生物汚染実態を調査し、以下の結論を得た。

1. GPセンターでは、農場から搬入され卵を温水洗浄—乾燥—検卵—計量—包装後、出荷されている。そこでの重要衛生管理ポイントは、①搬入時の破卵, 汚卵の排除, ②洗卵水の清浄度と温度管理, ③検卵行程での破卵, 汚卵, 不可食卵の排除, ④施設, 設備および器具機材の衛生管理, ⑤卵の保管, 流通における温度管理等である。

2. 割卵工場では、搬入された卵を洗浄・消毒—割卵—検卵—分離—ろ過—冷却貯蔵—(殺菌液卵は充填の前で行う)—充填後、出荷されている。そこでの重要衛生管理ポイントは、①搬入時の正常卵と破卵, 汚卵の分別処理, ②卵の十分な洗浄, 消毒, ③割卵後の不可食卵の排除, ④ろ過装置の定期的交換と洗浄消毒, ⑤液卵の保管, 流通における温度管

理 (8℃以下) 等である。しかし、サルモネラ汚染フリーの液卵を生産することが不可能に近い現状では、殺菌液卵の使用を推奨する。

**Keywords**: GP center, *salmonella enteritidis*, HACCP

\*1 静岡県衛生環境センター

\*2 岩手大学

梅迫誠一\*1, 小沼博隆, 品川邦汎\*2: 卵殻通過によるサルモネラ汚染とその防止

食品と微生物, 10, 195~202 (1994)

鶏卵のサルモネラ汚染には、産卵時に既に卵内へ菌が侵入している場合 (in-egg) と産卵後に卵殻表面から本菌が侵入する場合 (on-egg) の二通りが知られている。本研究は、GPセンター (Grading and Packaging Center) での処理方法によって、卵内へサルモネラが汚染 (on-egg による汚染) するのを防ぐことを目的に種々の実験を行い、以下の結果を得た。

1. 殻付卵をサルモネラエンテリティディス (SE) 菌液に浸漬し、25℃で保存すると SE は卵内へ侵入することが分かった。その侵入頻度は、正常卵より破卵が高く、破卵の程度が大きいと侵入頻度、菌数ともに高くなった。また、8℃保存した場合、正常卵は9週間まで SE の侵入は認められなかった。

2. 卵と浸漬液の温度差による SE 侵入性の比較では、卵の品温より低い温度の菌液に浸漬した場合に侵入頻度が高く、卵の品温より高い温度の菌液に浸漬した場合に低くなることを明らかにした。

3. 卵の保存環境 (乾燥, 湿潤) における SE 侵入性の比較では、湿潤状態 (保存温度 25℃, 湿度 90%以上) に保存すると乾燥状態に比べ、SE は短時間で卵内へ侵入することを明にした。

**Keywords**: *salmonella enteritidis*, egg, penetration

\*1 奈良県衛生研究所

\*2 岩手大学

Sakai, A., Miyata, N. and Takahashi, A.: Initiating activity of quinones in the two-stage transformation of BALB/3T3 cells

*Carcinogenesis*, 16, 477~481 (1995)

齧歯類の発癌物質である BHA の代謝物、2-*tert*-butyl-1,4-benzoquinone (BQ) は、細胞トランスフォーメーションのイニシエーターとして作用する。そこで、BQ の他、1,4-benzoquinone (pQ), phenyl-1,4-benzoquinone (PhQ), menadione, 2,5-di-*tert*-butyl-1,4-benzoquinone (DBQ) のイニシエーション作用を BALB/3T3 細胞 2 段階トランスフォーメーション試験によって調べた。試験したキノンは、いずれも TPA による細胞処理を追加することにより、弱いながらも統計学的に有意なトランスフォーメーションを誘発した。pQ は、benzene や phenacetin の、PhQ は、*o*-phenylphenol の代謝物であり、これらの物質による発癌にも、キノン代謝物が関与している可能性が示唆された。セミキノ

ラジカルからの活性酸素の産生を経て変異原性や細胞毒性を示すことが報告されている menadione や、嵩高な置換基が DNA との共有結合形成を妨害すると考えられる DBQ にイニシエーション作用が認められたことから、活性酸素の関与の可能性が考えられた。

**Keywords**: cell transformation, quinones, BALB/3T3 cells

Matsutani, S.: Genetic evidence for IS1 transposition regulated by InsA and the  $\Delta$  InsA-B'-InsB species, which is generated by translocation from two alternative internal initiation sites and frameshifting

*J. Mol. Biol.*, 240, 52~65 (1994)

細菌の挿入因子 IS1 の遺伝子 *insA* と B'-*insB* は、互いの 3' 端と 5' 端を一部重複して存在し、左端の逆位反復配列にあるプロモーターにより発現される。これまで、転移抑制機能を持つ InsA と、*insA* から読み始まり、重複部分でリボソームの読み枠がずれて、B'-*insB* へと翻訳される InsA-B'-InsB の二種の蛋白質の産生が確認されている。今回、遺伝学的解析により、IS1 は第三の  $\Delta$ InsA-B'-InsB 蛋白質を産生することが判明した。この蛋白質は *insA* の途中からフレームシフトを介して翻訳されていた。興味深いことに、 $\Delta$ InsA-B'-InsB は転移酵素様の機能を持ち、InsA は  $\Delta$ InsA-B'-InsB により行われる転移反応を促進した。その一方で  $\Delta$ InsA-B'-InsB は、過剰に存在すると、InsA が転移を抑制するのと同様に転移を阻害した。これらの結果は、IS1 の転移が、InsA と  $\Delta$ InsA-B'-InsB の二種の蛋白質の量比に依存していることを示唆している。IS1 と類似の遺伝子構造を持つ幾つかの IS は、 $\Delta$ InsA-B'-InsB 様の欠失した融合蛋白を産生しているが、その機能は不明である。IS1 で見つかった転移とその制御の複雑な現象は、様々な '動く遺伝子' において広く存在しているのかも知れない。

**Keywords**: transposition, translation initiation, frameshifting

成田紀子, 鈴木明子, 田中東一, 池淵秀治, 一戸正勝\*: *Fusarium graminearum* によるゼアラルレノンおよびゼアラルレノールの産生

マイコトキシン, 40, 56~59 (1994)

演者らはこれまでに麦類やハトムギなどのゼアラルレノン汚染や、分離菌株のゼアラルレノン産生能について報告してきたが、本文では麦類より分類した *F. graminearum* によるゼアラルレノンおよびゼアラルレノールの産生について経時的に検討したところ、ゼアラルレノンおよびゼアラルレノールの産生能は菌株によって多様であることが明らかになったので報告する。

**Keywords**: zearalenone, zearalenol, HPLC

\* 東京家政大学

Park, J.-C.\*1, Nemoto, Y.\*1, Homma, T.\*1,

Sato, R.\*<sup>1</sup>, Matsuoka, H.\*<sup>1</sup>, Ohno, H.\*<sup>2</sup>, Takatori, K. and Kurata, H.\*<sup>3</sup>: **Adaptation of *Aspergillus niger* to several antifungal agents** *Microbiology*, 140, 2409~2414 (1994)

*Aspergillus niger* におけるいくつかの薬剤に対するアダプテーションの確認を行った。胞子を poly-L-lysine でコーティングしたセルのガラス面に付着させた後、PDB を注ぎ、28℃で24時間培養した。それぞれの薬剤 (amphotericin B, AMPH; miconazole, MCZ; ketoconazole, KCZ) に対し前処理を行った後、新鮮な培地で洗浄し薬剤を除くことによって回復した菌糸に再び同濃度の薬剤を処理 (本処理) し、阻害されにくくなることからこの菌糸はアダプテーションされたと判断した。このようなアダプテーション現象はポリエン系薬剤 (AMPH) およびイミダゾール系薬剤 (MCZ, KCZ) とともに観察されたことから、ある薬剤に特異的に起こる現象ではなく、薬剤一般に見られる現象であると考えられた。また、イミダゾール系薬剤の場合、菌糸成長の回復は薬剤の濃度に依存した。

**Keywords**: adaptation, *aspergillus niger*, antifungal agents

\*<sup>1</sup> 東京農工大工学部

\*<sup>2</sup> (株)バイオ技研

\*<sup>3</sup> (財)東京顕微鏡院

Matsuoka, H.\*<sup>1</sup>, Park, J.-C.\*<sup>1</sup>, Nemoto, Y.\*<sup>1</sup>, Yamada, S.\*<sup>2</sup>, Jing, W.\*<sup>3</sup>, Chen, Y.\*<sup>3</sup>, Takatori, K. and Kurata, H.\*<sup>4</sup>: **Adaptation of *Aspergillus niger* to multiple agents whose action mechanisms are different**

*Jpn. J. Med. Mycol.*, 36, 19~44 (1995)

*Aspergillus niger* におけるポリエン系薬剤 (AMPH) およびイミダゾール系薬剤 (MCZ, KCZ) に対するアダプテーションを単一菌糸レベルで確認した。AMPH にアダプテーションされた菌糸は、他のイミダゾール系薬剤に対して何ら影響なかった。しかし、イミダゾール系薬剤にアダプテーションされた菌糸は、他のイミダゾール系薬剤のみでなく、ポリエン系薬剤である AMPH に対しても阻害されにくくなることが確認された。そして、各薬剤にアダプテーションされた菌糸に、エルゴステロールを外部から与えると、アダプテーションが起こらないことが確認され、このことからこれらの薬剤に対するアダプテーションは膜のエルゴステロール合成過程での変化によるものではないかと考えられた。

**Keywords**: *aspergillus niger*, adaptation, ergosterol

\*<sup>1</sup> 東京農工大工学部

\*<sup>2</sup> (株)バイオ技研

\*<sup>3</sup> (株)ヒダン

\*<sup>4</sup> (財)東京顕微鏡院

梁 馨哲\*<sup>1</sup>, 呉 基鳳\*<sup>1</sup>, 根本泰行\*<sup>1</sup>, 松岡英明\*<sup>1</sup>, 山田 暁\*<sup>2</sup>, 山本 彰\*<sup>3</sup>, 高鳥浩介, 倉田

浩\*<sup>4</sup>: **顕微蛍光指標の抗真菌活性評価への応用** 防菌防黴, 23, 3~7 (1995)

*Aspergillus niger* に対する抗真菌剤の活性評価に Congo red を適用した。成長している菌糸を 0.5 μM の Congo red で染色したところ、菌糸の形態および成長速度には何の影響も与えなかった。成長している菌糸の先端部分の蛍光強度は先端後部での蛍光強度より著しく弱かった。これに対して成長していない菌糸では全く異なる蛍光パターンを示した。すなわち、先端部分で蛍光が最も強かった。菌糸にそっての蛍光強度パターンにしたがって基準化蛍光強度 FN を算出した。この FN によって成長している菌糸と成長していない菌糸が区別できた。これによって amphotericin B, miconazole, ketoconazole の抗真菌活性を評価できることが示された。

**Keywords**: congo red, *aspergillus niger*, antifungal agents

\*<sup>1</sup> 東京農工大工学部

\*<sup>2</sup> (株)バイオ技研

\*<sup>3</sup> (株)ヒダン

\*<sup>4</sup> (財)東京顕微鏡院 学会発表

鈴木明子, 成田紀子, 菊池 裕, 一戸正勝: **輸入食品を対象にした *Aspergillus flavus* 選択・識別培地 (AFPA) の検討**

*食品衛生学雑誌*, 35, 319~322 (1994)

輸入食品, 食品原料などからアフラトキシン生産菌を含む *Aspergillus flavus* を選択的に識別, 計測し, 分離するための培地として *Aspergillus Flavus Parasiticus Agar* (AFPA) につき, 未加工の落花生, ピスタチオナッツ, トウモロコシ試料を用い, 市販の AFPA 培地と自家調製 AFPA 培地の性能を比較した。両者とも試料からの *A. flavus* は 30℃, 48 時間の培養条件で, 集落裏面に特徴的な橙黄色の色素生産がみられ, 迅速性, 簡便性にすぐれており, *A. flavus* の識別, 計測が可能であった。

粒状試料に対する直接培養法の *A. flavus* 検出率と AFPA 培地を用いた希釈平板法の検出菌量とは密接な関係がみられた。

**Keywords**: *aspergillus flavus*, aflatoxin, *aspergillus flavus parasiticus agar* (AFPA)

関沢 純: **化学品安全とリスクコミュニケーション**

*水環境学会誌*, 18(1), 7~10 (1995)

最近の米国研究審議会 (NRC) の報告を踏まえて, リスクコミュニケーションの基本として知らされるだけでなく, 主張し, 傾聴され, 選ぶ権利があるべきことを, 海外における先進例を基に具体的に示した。表示や, 製品安全性データシート, 事故対策マニュアルなどにおいては, 危険回避や, 応急処置に直接役立つ情報がわかりやすく提供されていること, 加えてこれらの情報を緊急時に活用できる体制が整備されているかどうかを鍵となることを, 特に次の例から分析し, 結論した。すなわち, 外国における消費者製品の表示, 米国労働安全衛生局の

「危険有害性周知指針 (HCS)」, 米国環境保護庁のリスクコミュニケーション 8 原則と「緊急時対策および地域社会の知る権利法」, 有害廃棄物物理め立て地付近の住民への情報提供の専門機関 (ATSDR) の設置とその活動内容などについての調査結果を用いた。

**Keywords** : risk communication, emergency planning, chemicals management

関沢 純, 大島輝夫<sup>\*1</sup>, 後藤京子<sup>\*2</sup>, 大竹千代子: 化学品の安全使用と管理のためのリスクコミュニケーション

日本リスク研究学会誌, 6(1), 23~29 (1994)

化学品の安全管理におけるコミュニケーションの現状を健康被害に係わる事故例と, その対応の分析を通して検討した。深夜の高速道路路上での交通事故による積み荷の劇物クロロピクリン流出事例を通して地域での対応について, 防水スプレーによる中毒事例を通して消費者製品における対応をそれぞれ考察した。分析の結果今後必要な改善について, 地域での対応については, 住民を対象とした情報サービスの整備および立地企業の自主管理推進のための情報支援が必要と考えられ, 消費者製品への対応としては, 製品における改善, 危険性についての周知と教育訓練および国際的なハーモニゼーションを踏まえた表示と危険性分類の標準化が必要と考えられた。

**Keywords** : risk communication, chemical safety, health effects

<sup>\*1</sup> 化学品安全管理研究所

<sup>\*2</sup> 日本中毒情報センター

Nakata, K.: Prediction of zinc finger DNA binding protein

CABIOS, 11, 125~131 (1995)

神経回路網理論を用いて zinc finger DNA 結合タンパク質のアミノ酸配列を解析し, 未知の配列が zinc finger DNA 結合タンパク質の配列か否かを予測する可能性を検討した。zinc finger としては TFIIIA 型 (Cys-X<sub>2-5</sub>-Cys-X<sub>12-13</sub>-His-X<sub>2-5</sub>-His) とステロイドホルモンレセプター型 (Cys-X<sub>2-5</sub>-Cys-X<sub>12-15</sub>-Cys-X<sub>2-5</sub>-Cys-X<sub>15-16</sub>-Cys-X<sub>4-5</sub>-Cys-X<sub>8-10</sub>-Cys-X<sub>2-3</sub>-Cys) に限った。前後を含み 31~37 または 64~77 のアミノ酸からなる配列の特徴として, アミノ酸パターン, 電荷と極性パターン, 側鎖の化学特性および詳細特性のパターン, 疎水性・親水性パターン, 二次構造パターンを考慮した。連続する二つのアミノ酸からなるパターンについても考慮した。個々のパターンは一層パーセプトロンで, また複合パターンを二層パーセプトロンで処理し, 更に統計的判別法も併せて解析した。解析結果を用いて未知の配列の予測を試みたところ, TFIIIA 型については 97%, ステロイドホルモンレセプター型では 96% の判別精度が得られた。

**Keywords** : zinc finger, neural network, prediction

Umemura, T., Sai, K., Takagi, A., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: A possible role for oxidative stress in potassium bromate (KBrO<sub>3</sub>) carcinogenesis

Carcinogenesis, 16, 593~597 (1995)

臭素酸カリウムの腎発癌機構における酸化ストレスの関与を検索する目的で, 腎および肝 DNA 中の 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) レベルまた腎尿細管上皮細胞および肝細胞の細胞増殖活性を雌の F 344 ラットに臭素酸カリウム 100, 200 および 400 mg/kg 単回強制経口投与し, 投与後の 48 時間目に動物を解剖し, 検討した。また, 雌の F 344 ラットに 0.05% の *N*-ethyl-*N*-hydroxyethyl-nitrosamine (EHEN) を飲水に混じて 2 週間自由に摂取させた後, 30 週間 0.05% の臭素酸カリウムを飲水に混じて投与し, 腎臓および肝臓について前癌病変および癌病変の発現率について検索した。その結果, 200 mg/kg 投与群以上で 8-OHdG レベルおよび細胞増殖活性の上昇が腎臓においてのみ観察され, 肝臓ではいずれの項目についても変化は認められなかった。また, EHEN 投与後臭素酸カリウムを投与した群で EHEN 投与後蒸留水で維持した群に比べて, 一匹当たりの前癌病変数および発癌数に有意の高い値を示した。一方, 肝臓においては 2 群間に差は認められなかった。このことから, 臭素酸カリウムの発癌機構に酸化ストレスの関与が示唆された。

**Keywords** : 8-hydroxydeoxyguanosine, cell proliferation, potassium bromate

小川幸男, 鈴木幸子, 内藤克司, 齊藤 実, 鎌田栄一, 広瀬明彦, 金子豊蔵, 千葉百子\*, 稲葉裕\*, 黒川雄二: イットリウム<sup>90</sup>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, 40(4), 374~382 (1994)

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ほとんど知られていない。そこで, ラットに塩化イットリウム 6 水和物を 0 (対照), 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, 毒性学的手法により生体に及ぼす影響を調べ, ランタン (La) との差異についても検討した。臓器中の Y 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) と誘導結合プラズマ質量分析機 (ICP-MS) を用いて行った。Y は雌雄の腎臓, 大腿骨, 肝臓および脾臓より用量に依存して検出された。La は主に肝臓に, Y は主に腎臓と大腿骨に蓄積し, 異なった蓄積パターンを示した。Y の投与量に対する生体への蓄積量は La より 50 倍多かった。La は AIT, AsT 活性を増加させ肝障害を示唆したが, Y では観察されなかった。La および Y により H 群の前胃に, 刺激による組織学的変化が観察された。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 La および Y ともに観察された。Y と La は性質が酷似すると言われる



てきたが、一部の生体影響が異なっていた。

**Keywords** : yttrium chloride, accumulation, stomach irritation

\* 順天堂大学医学部

Sai, K., Tyson, C. A.\*, Thomas, D. W.\*, Dabbs, J. E.\*, Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: **Oxidative DNA damage induced by potassium bromate in isolated rat renal proximal tubules and renal nuclei**

*Cancer Lett.*, 87, 1~7 (1994)

ラット腎発癌物質臭素酸カリウム ( $KBrO_3$ ) の、その発癌標的部位である近位尿細管に対する酸化的障害性を *in vitro* 系で解析した。ラット近位尿細管 (RPT) (1 mg protein/ml) に  $KBrO_3$  (0.5~5 mM) を 37°C で 8 時間インキュベーションした結果、RPT 内の GSH および非蛋白性 SH 基化合物レベルが濃度依存的に減少した。またアラキドン酸過酸化物の生成および核 DNA 酸化的損傷の指標である 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) レベルが、濃度およびインキュベーション時間に依存して増加した。なお、脂質過酸化物の生成はフリーラジカルの生成を介することが明らかとなった。さらに、この酸化的 DNA 損傷機構における脂質過酸化の関与を調べるため、ラット腎核画分に脂質過酸化系 (Fe-ascorbic acid-ADP) またはメチルリノレン酸の自動過酸化物を作用させた結果、核 DNA 中の 8-OHdG の生成が認められた。これらの結果から、 $KBrO_3$  は発癌標的部位の酸化的 DNA 損傷を引き起こすことが明らかとなり、この酸化的 DNA 損傷機構に脂質過酸化が関与している可能性が示唆された。

**Keywords** : oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, potassium bromate

\* SRI International (USA)

田中 悟：医薬品の生殖毒性検索のための試験法ガイドライン (薬審第 470 号通知) について

医薬品研究, 25(12), 1037~1048 (1994)

1994 年 7 月 7 日付で厚生省薬務局が薬審第 470 号審査課長通知として公表した「医薬品の生殖毒性検索のための試験法ガイドライン」は、1993 年 10 月にオーランドで開催された第 2 回 ICH において合意に達し承認された三極調整ガイドラインの日本語文である。三極調整ガイドラインの理解を深めるために、このガイドラインの基本的考え方、制定の意義、特徴、および試験の計画・実施上の留意事項等について解説を行った。科学的に有効な統一的手法は、安全性評価の完全性を保ちながら、試験を重複して実施する必要性を排除する。また、使用動物数の削減や試験期間の短縮になり、非臨床試験の効率を高め、真に有効な医薬品開発の促進につながる。三極調整ガイドライン制定の意義は大きいと考える。最も実地的な試験デザインとして三種試験デザインを示すと同時に、単一試験デザインおよび二種試験デザインの選択も可能としており、試験デザインの

科学的柔軟性が認められる。しかし一方、試験の計画・実施、結果の評価にあたっては、研究者の科学的判断が強く要求されると考える。

**Keywords** : ICH, reproductive and developmental toxicity, harmonized tripartite guideline

児玉幸夫：GLP と実験動物の適正な飼育管理

日本 QA 研究会, 4, 30~37 (1994)

GLP の目的は「試験の信頼性を確保」することである。すなわち「いつでも、誰が、どこで行っても再現性のある試験結果がえられること」である。「いつでも」とは、正確な記録を行い保管することができることであり、その結果、得られた成績が最終報告書に正確に反映されていることが証明される。「誰が」とは、適正な教育・訓練を受けた知識・技術を十分に備えたヒトにより試験が実施されていることである。「どこで」とは、整備された施設で、設備・機器が正常に機能していることである。さらに、試験の実施にあたって、定められた操作手順にしたがって正確に行われており、品質が確保された用品、動物、機器、試薬等を用いており、上記のことが査察によって確認されていることが重要である。QAU は、実験動物の適正な飼育管理のためには、各種動物に基づく正確な操作手順にしたがった作業、品質管理や環境統御更に廃棄物処理についてまで、それぞれの担当分野で行われている信頼性の確保を、ともに、総合的に確認することが最も重要かつ基本的な業務である。QA 活動は QAU のみでは不可能である。QA 活動は各分野の担当者と同様な幅広い知識と深い経験が必要であり、また、各分野の担当者の QA 活動に対する理解を得られるようにしなければならない。

**Keywords** : GLP, animal care, QA

Takagi, A., Takada, K., Sai, K., Ochiai, T., Matsumoto, K., Sekita, K., Momma, J., Aida, Y., Saitoh, M., Naitoh, K., Furuya, T., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: **Acute, subchronic and chronic toxicity studies of a synthetic antioxidant, 2,2'-methylenebis(4-methyl-6-tert-butylphenol) in rats**

*J. Toxicol. Sci.*, 19, 77~89 (1994)

2,2'-methylenebis(4-methyl-6-tert-butylphenol) (MBMBP) の急性、亜慢性および慢性毒性試験を雌雄ウイスターラットを用いて行った。単回経口投与による  $LD_{50}$  は雌雄とも 5 g/kg 以上であった。症状として投与 5 日目まで下痢が認められた。亜慢性試験では MBMBP を 0.12, 0.6 または 3% の濃度で飼料に添加し、12 週間投与した。著しい体重増加抑制が雌雄とも 0.6% 以上の群で認められた。鼻腔からの出血を伴う死亡が雄の 0.6% 以上、雌の 3.0% 群で認められた。肝毒性を示す血清生化学値の変化が用量相関を伴って雌雄ラットに認められた。雄ラットで組織学的に精巣萎縮と精子形成の減少が用量に相関して認められ、この変化は時間経過に伴って増強した。卵巣萎縮が 0.6 および 3.0%

群の雌で認められた。胸腺萎縮と骨髄細胞の減形成が雄雌0.6%以上の群で認められた。慢性試験ではMBMBPは0.01, 0.03または0.1%の濃度で飼料に添加され18カ月間投与された。体重増加抑制は雌雄0.1%群のみ認められた。組織学的に精巣萎縮と精子形成の減少が0.1%群の雄で認められた。MBMBP投与による腫瘍性変化は認められなかった。この実験結果からNOAELは0.03%と結論した(雄12.7 mg/kg/日, 雌15.1 mg/kg/日)。

**Keywords** : testicular toxicity, 2, 2'-methylenebis(4-methyl-6-tert-butylphenol), toxicity test

Takagi, A., Sai, K., Umemura, T., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: **Inhibitory effects of vitamin E and ellagic acid on 8-hydroxydeoxyguanosine formation in liver nuclear DNA of rats treated with 2-nitropropane**  
*Cancer Lett.*, 91, 139~144 (1995)

ラット肝発がん物質である2-ニトロプロパン(2-NP)投与によるラット肝DNA中の8-ヒドロキシデオキシグアノシン(8-OH-dG)の生成に対する天然抗酸化物質であるベータ-カロチン(BC), ビタミンC(VC), ビタミンE(VE), エラグ酸(EA), エピガロカテキンガレート(EGCG)の防御効果について検討した。4日間のVE(100 mg/kg/日)あるいはEA(100 mg/kg/日)の前投与により2-NP(100 mg/kg, i.p., 6時間後屠殺)による雄F-344ラット肝核DNA中の8-OH-dGの生成は有意に抑制された。同様にEGCG(100 mg/kg/日)の前投与は8-OH-dG生成に対して抑制傾向を示したが、有意差は認められなかった。一方、BC(100 mg/kg/日)とVC(300 mg/kg/日)は4日間の前投与あるいは3週間の混餌投与(それぞれ0.5%の濃度)でも8-OH-dGの生成に対して抑制作用を示さなかった。以上の結果、VEとEAが2-NPに対して抗発がん作用を有することが期待された。

**Keywords** : 2-nitropropane, 8-hydroxydeoxyguanosine, antioxidant

Haswell-Elkins, M.R.\*<sup>1,2</sup>, Satarug, S.\*<sup>1</sup>, Tsuda, M., Mairiang, E.\*<sup>1</sup>, Esumi, H.\*<sup>3</sup>, Sithithaworn, P.\*<sup>1</sup>, Mairiang, P.\*<sup>1</sup>, Saitoh, M., Yongvanit, P.\*<sup>1</sup> and Elkins, D. B.\*<sup>1,2</sup>: **Liver fluke infection and cholangiocarcinoma: model of endogenous nitric oxide and extragastric nitrosation in human carcinogenesis**  
*Mutation Res.*, 305, 241~252 (1994)

細菌、寄生虫感染等が原因しておこる癌は炎症と発がんとの関係を調べる上で良いモデル系となる。炎症要因がはっきりしているため、免疫応答、酸化窒素、活性酸素やニトロ化合物のようなDNA障害物質の生成と発がん頻度との相関の検討が容易だからである。本報は肝吸虫(*Opisthorchis viverrini*)感染とヒト胆管がん発生との相関について論じたものである。中等度および重度感染群における

唾液中亜硝酸塩、尿中および血漿中硝酸塩レベルは駆虫剤服用4カ月後の非感染対照群に比して上昇していた。被験者の選択ならびに食事管理に十分な配慮をしたことから、硝酸および亜硝酸レベルの上昇は肝吸虫感染に起因する一酸化窒素の体内生成によるものと結論した。感染組織におけるマクロファージの活性化による過剰のNO産生は体内ニトロ化合物生成を促進することを示した。

**Keywords** : liver fluke, nitric oxide, carcinogenesis

\*<sup>1</sup> Khon Kaen Univ., Thailand

\*<sup>2</sup> Queensland Inst. Medical Res., Australia

\*<sup>3</sup> 国立がんセンター研究所

Kisic, A.\*<sup>1</sup>, Tsuda, M., Kulmacz, R. J.\*<sup>2</sup>, Wilson, W. K.\*<sup>1</sup> and Schroepfer, G. J.\*<sup>1</sup>: **Sphingolipid bases. A revisit of the O-methyl derivatives of sphingosine. Isolation and characterization of diacetate derivatives, with revised <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance assignments for D-erythro-sphingosine**

*J. Lipid Res.*, 36(4), 787~803 (1995)

スフィンゴリピド塩基はスフィンゴミエリン、ガングリオシドおよびグリコスフィンゴリピドの形で広く生体組織中に存在し、毒素、ホルモン、ウイルスなどのレセプターなど、生体機能における重要な役割を担っている。本報告では、スフィンゴリピドのメタノール存在下での水解により生成した3-O-methyl体(2S, 3R; 2S, 3S)および5-O-methyl体(2R, 5R; 2R, 5S)ならびにそのN-Ac誘導体についてm.p., [ $\alpha$ ]<sub>D</sub>, TLC, HPLC, GC等の物性を明らかにした。さらに、<sup>1</sup>Hおよび<sup>13</sup>C-NMRスペクトルの解析を行った。また、従来の報告におけるオレフィン炭素の帰属の誤りを指摘した。

**Keywords** : sphingolipid, <sup>13</sup>C NMR, lanthanide-induced shift

\*<sup>1</sup> Rice Univ., Houston, Texas, USA

\*<sup>2</sup> Univ. of Texas Health Science Center, Houston, Texas, USA

Nakazawa, K.: **Modulation of the inhibitory action of ATP on acetylcholine-activated current by protein phosphorylation in rat sympathetic neurons**

*Pfluegers Arch., Eur. J. Physiol.*, 427, 129~135 (1994)

ラット交感神経節細胞においてアセチルコリンにより惹起されるイオン電流とATPにより惹起されるイオン電流との間には加算性が成り立たない。この非加算性に及ぼすタンパク質リン酸化の影響を種々の薬物を細胞内適用して検討した。タンパク質リン酸化を阻害するK-252 a, ATP $\gamma$ S,  $\alpha$ ,  $\beta$ -メチレンATPの適用により非加算性は消失した。タンパク質リン酸化酵素の活性化因子であるcAMP, cGMP, PMA存在下でも非加算性は観察されなかった。脱リン酸化酵素の阻害薬であるオカダ酸は

それ自身で非加算性を消失したが、cAMP、cGMPによる消失には拮抗した。PMAによる消失には影響しなかった。以上のことからこの非加算性がチャネルタンパク質のリン酸化により修飾されること、その修飾が単純な一部位でのリン酸化/脱リン酸化でないことが示唆された。

**Keywords** : ATP, protein phosphorylation, ion channels

Nakazawa, K., Inoue, K., Koizumi, S. and Inoue, K.: **Facilitation by 5-hydroxytryptamine of ATP-activated current in rat pheochromocytoma cells**

*Pflugers Arch., Eur. J. Physiol.*, **427**, 492~499 (1994)

ATPにより惹起されるイオン電流のセロトニンによる影響をラット副腎髄質由来PC12細胞で検討した。セロトニンは可逆的にATPによる電流を増強した。増強は電流活性化/脱活性化の促進を伴っていた。LY53857のようなセロトニン受容体拮抗薬は作動薬様作用、すなわち電流増強を惹起した。GTP結合タンパク質に影響するGDP $\beta$ S、GTP $\gamma$ S、あるいはタンパク質リン酸化阻害薬であるK-252aは電流増強を抑制しなかった。セロトニンの作用は電流をドパミンであらかじめ増強しておいた場合には減弱した。以上のことからセロトニンが通常のセロトニン受容体とは異なる結合部位を介してATP受容体チャネルに正の調節を行うこと、この調節はドパミンによる調節と何らかの共通の機序を経ることが示唆された。

**Keywords** : ATP, 5-hydroxytryptamine, ion channels

Nakazawa, K., Inoue, K., Koizumi, S., Ikeda, K. and Inoue, K.: **Inhibitory effects of capsaicin on acetylcholine-evoked responses in rat pheochromocytoma cells**

*Br. J. Pharmacol.*, **113**, 296~302 (1994)

強力な発痛物質でありペプチド含有神経を枯渇・遮断することが知られているトウガラシの辛辣成分カプサイシンの、アセチルコリンによる細胞応答への影響をラット副腎髄質由来PC12細胞を用いて検討した。カプサイシンはアセチルコリンによるドパミン遊離、細胞内カルシウム濃度上昇、イオン電流誘発を抑制した。この抑制は1 $\mu$ Mという低濃度より認められた。抑制の形式は可逆的であり非競合的であった。カプサイシンを神経ペプチド枯渇の目的で使用するにはこの抑制作用を考慮しなければならないと推察される。

**Keywords** : capsaicin, acetylcholine, nicotinic receptors

Inoue, K., Nakazawa, K., Inoue, K., Fujimori, K. and Takanaka, A.: **Modulation by alkyl p-hydroxybenzoates of voltage- and ligand-gated channels in peripheral neuronal cells**

*Neuropharmacology*, **33**, 891~896 (1994)

化粧品等の保存料として用いられているパラベン類のイオン・チャネルに対する影響をラット副腎髄質由来PC12細胞を用いて検討した。メチルパラベンおよびブチルパラベンは電位依存性のカリウム電流、カルシウム・チャネルを介するバリウム電流、およびニコチン受容体チャネルを介する電流を抑制した。いずれの場合もブチルパラベンの方がメチルパラベンより強い抑制を示した。一方、ATP受容体チャネルはブチルパラベンにより増強された。これらの作用はパラベンによる皮膚刺激の作用機序として寄与する可能性が考えられる。

**Keywords** : parabens, ion channels, pain-induction

Nakazawa, K., Inoue, K. and Inoue, K.: **ATP reduces voltage-activated K<sup>+</sup> current in cultured rat hippocampal neurons**

*Pflugers Arch., Eur. J. Physiol.*, **429**, 143~145 (1994)

ラット培養海馬神経における電位依存性カリウム電流に対する細胞外ATPの影響を検討した。ATP (3~300 $\mu$ M) は濃度依存的にカリウム電流を抑制した。UTPはATPと同程度、ADP、 $\alpha$ 、 $\beta$ -メチレンATPはそれよりも弱い作用を示した。AMP、アデノシンでは抑制は認められなかった。この抑制はGTP結合タンパク質の阻害薬であるGDP $\beta$ Sの細胞内適用により消失した。このカリウム電流抑制は海馬神経で観察されているATPの興奮性作用の機序として関与する可能性が考えられる。

**Keywords** : hippocampus, ATP, K<sup>+</sup> channels

Nakazawa, K., Akiyama, T. and Inoue, K.: **Block by apomorphine of acetylcholine receptor channels expressed in Xenopus oocytes**

*Eur. J. Pharmacol.*, **269**, 375~379 (1994)

アポモルフィンおよび他のドパミン関連化合物のニコチン受容体チャネルに対する作用をアフリカツメガエル卵母細胞発現系で検討した。ニコチン受容体を $\alpha$ 3、 $\beta$ 4サブユニットのcDNAを用いて発現させた場合、アポモルフィンはアセチルコリンにより惹起される電流を抑制し、そのIC<sub>50</sub>値は約3 $\mu$ Mであった。電流は他のドパミン受容体作動薬あるいは遮断薬でも抑制されたが、ドパミンそのものでは影響されなかった。 $\alpha$ 3サブユニットを $\alpha$ 2または $\alpha$ 4サブユニットに、あるいは $\beta$ 4サブユニットを $\beta$ 2サブユニットに替えてチャネルを発現させた場合でもアポモルフィンによる電流抑制は観察された。以上のことからアポモルフィンはドパミン受容体とは異なる結合部位を介してニコチン受容体チャネルを抑制すること、この結合部位は単一の特異的なサブユニットに起因しないことが示された。

**Keywords** : apomorphine, nicotinic receptors, functional expression

Nakazawa, K., Inoue, K., Ito, K., Koizumi, S.

and Inoue, K.: **Inhibition by suramin and reactive 2 of GABA and glutamate receptor channels in rat hippocampal neurons**

*Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **351**, 202~208 (1995)

ATP受容体 (P2プリン受容体) の遮断薬として知られているスラミンおよびリアクティブ・ブル-2 (RB2) の $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) およびグルタミン酸受容体チャネルに対する作用をラット培養海馬神経を用いて検討した。スラミン, RB2はGABAにより惹起されたクロライド電流を抑制した。また, この2種類の物質はグルタミン酸受容体の作動薬である *N*-メチル-D-アスパラギン酸およびカイニン酸によるカチオン電流をも抑制した。これらの抑制に要する濃度はATP受容体を抑制する濃度と同程度だった。以上のことは, 特にGABAあるいはグルタミン酸の生体応答への関与が考えられる系では, これらの物質をATP受容体の寄与を確認するための手段として用いることに限界があることを示している。

**Keywords**: ATP receptor antagonists, specificity, ligand-gated channels

Inoue, K., Nakazawa, K., Inoue, K. and Fujimori, K.: **Non-selective cation channels coupled with tachykinin receptors in rat sensory neurons**

*J. Neurophysiol.*, **73**, 736~742 (1995)

サブスタンス P (SP) および他のタキキニンペプチドの作用をラット培養知覚神経細胞を用いて検討した。SPはこの細胞において内向き電流を惹起した。この電流は細胞内にGTP結合タンパク質の阻害薬であるGDP $\beta$ Sを適用した場合には観察されなかった。同様の電流はニューロキニンA, Bによっても惹起された。細胞外液の組成を変化させイオン選択性を検討した結果, タキキニンは非選択的なカチオン・チャネルを活性化すると推察された。このチャネル活性化は知覚神経における興奮性伝達の機序として寄与するものと考えられる。

**Keywords**: tachykinins, sensory neurons, ion channels

Hiromatsu, S.\*<sup>1</sup>, Araie, M.\*<sup>1</sup> and Fujimori, K.: **Edogenous catecholamine concentrations in rat iris-ciliary body**

*Jpn. J. Ophthalmology*, **38**, 123~128 (1994)

虹彩毛様体中のカテコールアミンをマイクロ波照射したラットで測定した。マイクロ波は9.5 kW, 2450 MHz, 0.9秒間照射し, 10個の眼から得た毛様体を1サンプルとして処理した。ラット毛様体中の内因性ノルアドレナリンレベルは $19.5 \pm 2.5$  nmol/g 蛋白であり, ドパミンは $3.2 \pm 0.2$  nmol/g 蛋白であった。

**Keywords**: iris-ciliary body, noradrenaline, dopamine

\*<sup>1</sup> 東京大学医学部

Ikarashi, Y.\*<sup>1</sup>, Fujimori, K., Ohtake, K.\*<sup>1</sup>, Shiobara, T.\*<sup>1</sup> and Maruyama, Y.\*<sup>1</sup>: **Changes in the cholinergic neurochemical parameters in regional brain areas of Wistar rats aged 3 (weanling), 10 (mature) and 119 (old age) weeks**

*Laboratory Animal Science*, **44**, 393~396 (1994)

中枢のコリン神経系は様々な行動, 特に記憶機能に関与しており, アルツハイマー型痴呆では, コリン神経回路の障害が認められている。本研究では発達および老化に伴う中枢神経系, 特にコリン神経系の主要な神経化学的パラメーターの変化を検討するために, 成長過程のいくつかの時期でAcetylcholine (ACh), Choline (Ch), Cholineacetyltransferase (CAT), Acetylcholinesterase (AChE) を測定した。脳内AChとCATは発達期に急速な増加傾向を示した。高度の老齢期 (119週齢) でも海馬を含む脳各部位におけるAChとCATは増加傾向を示した。一方, 老齢期ではAChEとChは減少が認められた。老化に伴う変化がAChとCATよりもChおよびAChEにより明白に認めらるという結果は, アルツハイマー病の変化と正常な老化の差を示唆するものである。

**Keywords**: brain, cholinergic neurochemical parameters, aging

\*<sup>1</sup> 群馬大学医学部

Inoue, K., Watano, T., Koizumi, S., Nakazawa, K. and Burnstock, G.\*: **Dual modulation by adenosine of ATP-activated channels through GTP-binding proteins in rat pheochromocytoma PC12 cells**

*Eur. J. Pharmacol.*, **268**, 223~229 (1994)

PC12細胞をATPによって刺激すると内向き電流が発生するが, この電流はATP代謝物アデノシンによって両方向性に制御されることを明らかにした。すなわち, ATP 30  $\mu$ Mによって惹起される内向き電流は, アデノシン1  $\mu$ Mによって可逆的に抑制された。また, アデノシン10および100  $\mu$ Mの濃度では, 逆に可逆的に増強された。この両作用は, 百日咳毒素 (PTX) で細胞を前処理することにより, あるいは電極内にGDP $\beta$ Sを注入することにより, 完全に抑制された。したがって, 両作用はGTP結合蛋白を介する作用であると推察された。しかしながら, 両作用は異なるメカニズムで発現していることが次のことから明らかになった。非選択的な蛋白質リン酸化酵素阻害薬K 252-aによりアデノシン低濃度での抑制作用のみが消失した。

**Keywords**: ATP, adenosine, GTP-binding protein

\* ロンドン大学

Inoue, K., Koizumi, S., Nakajima, K.\*<sup>1</sup>, Hamanoue, M.\*<sup>1</sup> and Kohsaka, S.\*<sup>1</sup>: **Modulatory effect of plasminogen on NMDA-induced increase in intracellular free calcium concentration in rat**

**cultured hippocampal neurons***Neurosci. Lett.*, **179**, 87~90 (1994)

ラット海馬初代培養神経細胞を用いて、マイクログリアから放出されるプラスミノゲンの神経系における生理機能を明らかにした。培養海馬細胞はNMDAによる刺激に反応し細胞内Ca濃度を一過性に高める。この性質を利用してプラスミノゲンの働きを検討した結果、プラスミノゲンそのものでは細胞内Ca濃度を高めないが、NMDAによる細胞内Ca濃度上昇作用を増強することが明らかになった。また、NMDA受容体を介して自発的に発生しているシナプス伝達効率を高めることが推察された。このことは、これまでグリア細胞はきわめて静的に神経系をサポートすることが主要な働きであると考えられてきたが、むしろ動的な調節を神経系に対して行っていることを示唆する。

**Keywords**: plasminogen, microglia, NMDA-receptor

\* 国立精神神経センター神経研究所

Inoue, K., Koizumi, S. and Nakazawa, K.: **Glutamate-evoked release of adenosine 5'-triphosphate causing an increase in intracellular calcium in hippocampus neurons**

*NeuroReport*, **6**, 437~440 (1995)

記憶・学習に非常に大切な働きをしている脳の部位、海馬におけるATPの生理的意義を検討した。海馬では主要な神経伝達物質としてグルタミン酸がよく知られており、これは海馬神経細胞の細胞内Ca濃度を高める。一方、ATPも同様に、海馬細胞の細胞内Ca濃度を上昇させる。この作用は、グルタミン酸の受容体サブクラスそれぞれの阻害剤、アセチルコリン受容体阻害剤、GABA阻害剤、Mgおよびシナプス伝達を阻害するふぐ毒(TTX)存在下、ATP刺激により発現し、ATP受容体阻害剤スラミンにより抑制されたので、ATP受容体を介すると考えられた。また、細胞内Ca濃度上昇を指標にすれば、シナプス伝達の仕組みを検討することが可能で、実際グルタミン酸刺激によりATPが放出され、次の細胞にその情報が伝達されることが明らかになった。

**Keywords**: ATP, hippocampus, synaptic transmission

Koizumi, S., Kataoka, Y.\*<sup>1</sup>, Niwa, M.\*<sup>1</sup>, Yamashita, K.\*<sup>1</sup>, Taniyama, K.\*<sup>1</sup> and Kudo, Y.\*<sup>2</sup>: **Endothelin increased  $[Ca^{2+}]_i$  in cultured neurons and slices of rat hippocampus**

*NeuroReport*, **5**, 1077~1080 (1994)

ラット海馬初代培養神経細胞およびラット海馬スライス標本を用いて、endothelin-1および-3により惹起される細胞内カルシウムイオン濃度( $[Ca]_i$ )変化を観察した。endothelinは海馬神経細胞において、外液Ca<sup>2+</sup>非依存性の一過性 $[Ca]_i$ 上昇および外液Ca<sup>2+</sup>除去およびCd<sup>2+</sup>添加により消失する持続性の $[Ca]_i$ 上昇を惹起した。これはendoth-

elinが、Ca<sup>2+</sup>貯蔵部位からのCa<sup>2+</sup>遊離および細胞外Ca<sup>2+</sup>流入を惹起すること、このCa<sup>2+</sup>流入に電位依存性Ca<sup>2+</sup>チャネルが関与していること、更に血管性ペプチドendothelinが脳でも一定の生理的役割を担っている可能性を示唆する結果である。

**Keywords**: endothelin,  $[Ca^{2+}]_i$ , hippocampal neuron

\*<sup>1</sup> 長崎大医学部

\*<sup>2</sup> 三菱化成生命研

Ochi, M.\*<sup>1</sup>, Koizumi, S., Shibata, S.\*<sup>1</sup> and Watanabe, S.\*<sup>1</sup>: **A facilitatory role of vasopressin in hypoxia/hypoglycemia-induced impairment of dopamine release from rat striatal slices**

*Brain Res.*, **633**, 91~96 (1994)

バソプレッシン分解酵素阻害剤が、記憶・学習など高次脳機能障害に有効であることを示唆する報告がなされている。そこでラット線条体スライス標本を用い、脱分極刺激により惹起されるドーパミン放出を指標としたインビトロの虚血性神経細胞障害モデルを作成し、この障害に対するバソプレッシンの作用を検討した。低酸素・低グルコース負荷により、ドーパミン放出は顕著に抑制された。バソプレッシンは、このドーパミン放出障害を更に増悪した。バソプレッシン受容体サブクラスV2受容体を添加するとこの増悪作用は消失した。以上より、バソプレッシンには、虚血時にV2受容体を介して、むしろ神経細胞障害を増悪する作用があることが示唆された。

**Keywords**: vasopressin, hypoxia, striatum

\* 九州大薬学部

Koizumi, S., Kataoka, Y.\*<sup>1</sup>, Niwa, M.\*<sup>1</sup>, Watanabe, S.\*<sup>2</sup> and Taniyama, K.\*<sup>1</sup>: **Two distinct pathways are involved in the endothelin-3-evoked dopamine release from rat striatal slices**

*Eur. J. Pharmacol.*, **259**, 195~201 (1994)

endothelin-3刺激により惹起されるラット脳線条体からのドーパミン放出を詳しく検討した。テトロドトキシン(TTX)で、神経間のコミュニケーションを遮断した条件下でも、このドーパミン放出の約50%は観察された。endothelin-3は線条体からグルタミン酸放出をも惹起した。さらにグルタミン酸刺激は線条体からのドーパミン放出を引き起こした。endothelin-3によるドーパミン放出は、endothelin-3がドーパミン神経終末に直接作用することにより惹起される成分(TTX抵抗性成分)およびグルタミン酸の放出を介する間接的な成分からなっていることが明らかとなった。

**Keywords**: endothelin-3, dopamine release, striatum

\*<sup>1</sup> 長崎大医学部

\*<sup>2</sup> 九州大薬学部

Koizumi, S., Kataoka, Y.\*<sup>1</sup>, Niwa, M.\*<sup>1</sup> and

Taniyama, K.\*: **Endothelin-3 stimulates inositol 1, 4, 5-trisphosphate production and Ca<sup>2+</sup> influx to produce biphasic dopamine release from rat striatal slices**

*Cell. Mol. Neurobiol.*, 14, 271~280 (1994)

ラット脳線条体において, endothelin-3により惹起されるドパミン放出, 細胞内カルシウムイオン濃度 ([Ca]<sub>i</sub>) および IP<sub>3</sub> 産生量の経時変化を観察した。IP<sub>3</sub> 産生は, 刺激後 20~30 秒をピークとする一過性のものであった。[Ca]<sub>i</sub> 変動は一過性の上昇の後, 数分間続く持続性の上昇で, 後者のみが外液 Ca<sup>2+</sup> 除去により消失した。ドパミン放出も一過性および持続性成分からなり, [Ca]<sub>i</sub> 変動の時間経過とよく一致していた。以上 endothelin-3 は, IP<sub>3</sub> 産生に起因する Ca<sup>2+</sup> 貯蔵部位からの一過性の Ca<sup>2+</sup> 遊離, 更に持続性の細胞外 Ca<sup>2+</sup> 流入を引き起こし, この [Ca]<sub>i</sub> 変化に依存した 2 相性のドパミン放出を引き起こすことが明らかとなった。

**Keywords:** endothelin-3, [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>, inositol 1, 4, 5-trisphosphate

\* 長崎大医学部

Kohzuma, M.\*, Kataoka, Y.\*, Koizumi, S., Shibaguchi, H.\*, Nakashima, M. N.\*, Yamashita, K.\*, Niwa, M.\* and Taniyama, K.\*: **ETB receptor involvement in stimulatory and neurotoxic action of endothelin on dopamine neuron**

*NeuroReport*, 5, 2653~2656 (1994)

線条体スライス標本において, endothelin-1 および -3 により惹起されるドパミン放出および過度の endothelin-3 負荷により誘発されるドパミン神経障害に関与する, 受容体のサブクラスの検討をした。endothelin 刺激によるドパミン放出は, endothelin 受容体亜型 ET<sub>B</sub> 受容体拮抗薬, RES701-1 により顕著に抑制されたが, ET<sub>A</sub> 受容体拮抗薬, BQ123 では何ら影響を受けなかった。過度の endothelin-1 負荷はその後の脱分極刺激により惹起されるドパミン放出を著明に障害した。このドパミン遊離応答障害も, ET<sub>B</sub> 受容体拮抗薬により改善された。線条体における様々な endothelin 応答には, ET<sub>B</sub> 受容体が関与していることが明らかとなった。

**Keywords:** endothelin, ET<sub>B</sub>, neurotoxicity

\* 長崎大医学部

Koizumi, S., Watano, T., Nakazawa, K. and Inoue, K.: **Adenosine potentiates ATP-evoked dopamine release via pertussis toxin-sensitive mechanism in rat phaeochromocytoma PC12 cells**

*Br. J. Pharmacol.*, 112, 992~997 (1994)

PC12 細胞において, ATP により惹起されるドパミン放出および細胞内カルシウムイオン濃度 ([Ca]<sub>i</sub>) 上昇に対する adenosine の作用を検討した。adenosine (100 μM) は, ATP によるドパミン放出および [Ca]<sub>i</sub> 上昇を有意に増強した。またこれ

らの増大は, adenosine 受容体亜型 A1 受容体拮抗薬では影響されず, A2 受容体拮抗薬により消失した。また A2 受容体作用薬により, ATP 応答は増大した。従来の A2 受容体は百日咳毒素 (PTX) 非感受性であった。しかし PTX 処理を施した PC12 細胞では, adenosine の ATP 応答増大作用は認められなかった。以上の結果は, adenosine が PTX 感受性 G-蛋白質と共役している A2 様受容体を介して, ATP 応答を促進性に制御していることを示唆するものである。

**Keywords:** ATP, adenosine, pertussis toxin

小泉修一, 池田 真, 井上和秀: **PC12 細胞における亜鉛イオンによる ATP 応答の増強作用**  
*神経化学*, 33, 52~53 (1994)

亜鉛イオンを神経終末に含む亜鉛含有神経が脳内に局在していることが報告された。我々が ATP 応答を確認した海馬では, 興奮性の刺激により亜鉛がイオンとしてシナプス間隙に放出されている。そこで, モデル細胞系 PC12 細胞を用いて ATP により惹起される様々な応答に対する亜鉛イオンの影響について検討した。亜鉛は, ATP により惹起される, 内向き電流, 細胞内カルシウムイオン濃度 ([Ca]<sub>i</sub>) 上昇およびドパミン放出を顕著に増強した。亜鉛イオンは, ATP 応答の濃度依存曲線を最大応答に影響することなく, 左方へシフトさせた。以上, 亜鉛イオンは, 機能しうる ATP 受容体数に影響を与えることなく, ATP の受容体への親和性を増すことにより, ATP 応答の効率を高めることが示唆された。

**Keywords:** ATP, zinc, dopamine

井上和秀, 小泉修一: **ATP 誘発内向き電流およびドパミン放出に対するアデノシンの両方向性制御**

*神経化学*, 33, 144~145 (1994)

PC12 細胞において, ATP により惹起される内向き電流および細胞内カルシウムイオン濃度 ([Ca]<sub>i</sub>) 変動に対する adenosine の作用を検討した。adenosine は低濃度 (<1 μM) ではこれら ATP 応答を抑制したが高濃度 (>10 μM) では逆に増強した。adenosine によるこれら抑制作用および増強作用は百日咳毒素 (PTX) 処理により消失した。また非選択的なリン酸化酵素阻害剤, K252a は, adenosine による抑制作用は消失したが, 増強作用には影響を与えなかった。以上, adenosine は濃度により, ATP 応答を抑制および増強の異なる 2 方向性に制御していることが明らかとなった。これらの制御機構には, PTX 感受性 G-蛋白質が関与していた。また抑制性の制御機構には細胞内の蛋白質リン酸化が関与していることが示唆された。

**Keywords:** ATP, adenosine, PC12

Koizumi, S., Ikeda, M.\*, Nakazawa, K., Nagamatsu, K.\*, Hasegawa, A.\* and Inoue, K.: **Accentuation by 5-hydroxytryptamine of**

### ATP-evoked responses in rat pheochromocytoma PC12 cells

*Neurosci. Lett.*, 185, 104~107 (1995)

PC12細胞においてATPにより惹起されるドパミン放出および細胞内カルシウムイオン濃度([Ca]<sub>i</sub>)上昇に対する5-hydroxytryptamine(5-HT)の影響を検討した。5-HT(1~100 μM)は濃度依存的にATPによるドパミン放出および[Ca]<sub>i</sub>上昇を増強した。この増強作用は、百日咳毒素(PTX)処理によりさらに強調された。5-HTのこのATP応答増強作用に関与する5-HT受容体亜型は、5-HT<sub>3</sub>受容体の関与は否定できたが、そのサブクラスの特定には至らなかった。以上、5-HTがATP応答に対し促進性の制御をしていること、PTX処理により、この作用が強調されることから、この制御はPTX感受性G-蛋白質を介する経路で一部抑制されていることが示唆された。

**Keywords** : ATP, 5-hydroxytryptamine, PC12

\* 日本大薬学部

### Kataoka, Y.\*, Koizumi, S., Kohzuma, M.\*, Shibaguchi, H.\*, Niwa, M.\* and Taniyama, K.\*: N-methyl-D-aspartate receptor involvement in endothelin neurotoxicity

*Eur. J. Pharmacol.*, 273, 285~289 (1995)

過度のendothelin-3負荷により惹起されるインビトロ神経細胞障害モデルとして、ラット線条体スライス標本から脱分極刺激により惹起されるドパミン放出を連続的に観察する系を開発し、薬物の評価を行った。endothelin-3を一定時間負荷することにより、その後のドパミン遊離応答は顕著に障害されたが、この障害はendothelin-3負荷時に、細胞外カルシウムイオン除去およびN-methyl-D-aspartate (NMDA)受容体拮抗薬D-APVを添加することにより、改善された。以上、endothelin-3により誘発されるドパミン神経障害過程に、NMDA受容体を介したカルシウムイオンの細胞内オーバーロードが関与していることが示唆された。

**Keywords** : N-methyl-D-aspartate, endothelin, neurotoxicity

\* 長崎大医学部

### Koizumi, S., Ikeda, M., Inoue, K., Nakazawa, K. and Inoue, K.: Enhancement by zinc of ATP-evoked responses in rat pheochromocytoma PC12 cells

*Brain Res.*, 673, 75~82 (1995)

PC12細胞において様々なATP応答に対する亜鉛イオンの影響を検討した。亜鉛イオンは、ATPにより惹起される、内向き電流、細胞内カルシウムイオン濃度([Ca]<sub>i</sub>)上昇およびドパミン放出を顕著に増強した。亜鉛イオンは、ATP応答の濃度依存曲線を最大応答に影響することなく、左方ヘシフトさせた。またATP受容体の競合的拮抗薬、suraminの受容体に対する感受性も亢進させた。亜鉛イオンはマグネシウムイオンと競合してATP分子

と結合する。亜鉛イオンの標的がATP分子であり、ATP亜鉛複合体が強力に作用している可能性が考えられるが、高濃度のマグネシウムイオン存在下でも、亜鉛イオンによる増強作用は認められた。以上、亜鉛イオンは、ATP受容体に作用し、ATPの受容体への親和性を増し、ATP応答の効率を高めることが示唆された。

**Keywords** : ATP, zinc, PC12

### Ohno Y., Kaneko T., Kobayashi T.\*<sup>1</sup>, Inoue T., Kuroiwa Y.\*<sup>2</sup>, Yoshida T.\*<sup>2</sup>, Momma J., Hayaishi M., Akiyama J.\*<sup>1</sup>, Atsumi T.\*<sup>1</sup>, Chiba K.\*<sup>1</sup>, Endo T.\*<sup>1</sup>, Fujii A.\*<sup>1</sup>, Kakishima H.\*<sup>1</sup>, Kojima H.\*<sup>1</sup>, Masamoto K.\*<sup>1</sup>, Masuda M.\*<sup>1</sup>, Matsukawa S.\*<sup>1</sup>, Ohkoshi K.\*<sup>1</sup>, Okada J.\*<sup>1</sup>, Sakamoto K.\*<sup>1</sup>, Takano K.\*<sup>1</sup> and Takanaka A.: First phase validation of the *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients

*In Vitro Toxicol.*, 7, 89~94 (1994)

化粧品原料の眼刺激性を評価するために従来より使用されているドレイズ法に変わる代替法として報告されている12種の*in vitro*試験法について、9種の界面活性剤と生理食塩水を用いて、産官学からなる22機関の協力のもとで、施設間一次バリデーションを行い、培養細胞を用いる方法や鶏卵を用いる方法が再現性、感度、およびドレイズ試験結果との対応性において比較的良好な結果を与えた。また、血清を添加した培養液を用いた培養細胞試験法はいずれもほとんど同じ結果を与えた。

**Keywords** : eye irritation test, *in vitro* alternative tests, validation

\*<sup>1</sup> 日本化粧品工業連合会

\*<sup>2</sup> 昭和大学

### Ninomiya H.\*<sup>1</sup>, Kishida K.\*<sup>1</sup>, Ohno Y., Tsurumi K.\*<sup>1</sup> and Eto K.\*<sup>2</sup>: Effects of trypan blue on rat and rabbit embryos cultured *in vitro*

*Toxic. in Vitro*, 7, 707~717 (1993)

ラットで水頭症を起こすtrypan blueの*in vitro*全胚培養系における作用をラットとウサギと比較した。ラット胚では神経管の異常を示すとともに、蛋白量や頭腎長などの増加が抑制されたが、ウサギではこれらの異常を示さず、種差の存在が明らかとなった。

**Keywords** : teratogenicity test, whole embryo culture, trypan blue

\*<sup>1</sup> 日本新薬

\*<sup>2</sup> 東京医科歯科大学

### Ninomiya H.\*<sup>1</sup>, Kishida K.\*<sup>1</sup>, Ohno Y., Tsurumi K.\*<sup>1</sup> and Eto K.\*<sup>2</sup>: Effects of cytosine arabinoside on rat and rabbit embryos cultured *in vitro*

*Toxic. in Vitro*, 8, 109~116 (1994)

1-β-D-arabinofuranosylcytosine (ara-C)とその代謝物である1-β-D-arabinofuranosyluracil

(ara-U) を用いて、ウサギ全胚培養法の催奇形性評価系としての妥当性を検討した。その結果、妊娠9日齢の胚を48時間培養した場合頭部と肢芽の異常と頭腎長や蛋白含量の低下が0.1 µg/ml以上の用量で認められた。同様の変化はラットの全胚培養系でも認められた。なお、ara-Uでは異常を示さなかった。

**Keywords** : teratogenicity test, whole embryo culture, cytosine arabinoside

\*1 日本新薬

\*2 東京医科歯科大学

Mitsumori, K., Furukawa, F., Sato, M., Yoshimura, H., Imazawa, T., Nishikawa, A. and Takahashi, M.: **Promoting effects of ethinylestradiol on development of renal proliferative lesions induced by N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine in female Syrian golden hamsters**

*J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **120**, 131~136 (1994)

N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine (BOP) でイニシエーション処置した腎臓の増殖病変の発展に対する女性ホルモン ethinylestradiol (EE) および levonorgestrel の影響について検討した。雌性のシリアンゴールデンハムスターを各群30匹からなる3群に分け、BOP (10 mg/kg 体重) を週1回の頻度で4週間にわたり皮下投与した後に、1群 (BOP/EE) には ethinylestradiol を1 ppm 含有する飼料を、2群には levonorgestrel を10 ppm 含有する飼料を、3群には基礎飼料を27週間与えた。更に各20匹からなる2つの群を設け、イニシエーション処置を行わずに、4群には ethinylestradiol を1 ppm 含有する飼料を、5群には levonorgestrel を10 ppm 含有する飼料を第3週から27週間与えた。核の大小不同の頻度および近位尿管上皮の異形成の発生個数がBOP/EE群で有意に高く、卵胞ホルモンによる腎増殖性病変に対するプロモーター作用が示唆された。

**Keywords** : renal dysplasia, N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine, ethinylestradiol

Uneyama, H.\*, Uneyama, C., Ebihara, S.\* and Akaike, N.\*: **Suramin and reactive blue 2 are antagonists for a newly identified purinoceptor on rat megakaryocyte**

*Br. J. Pharmacol.*, **111**, 245~249 (1994)

Nystatin perforated whole-cell patch clamp 法により、ラット巨核球におけるATP誘発性K<sup>+</sup>電流オシレーションに対するプリン受容体拮抗薬の影響を調べた。P2y受容体の選択的拮抗薬であるReactive Blue-2 (RB-2) と、非選択的P2受容体拮抗薬であるスラミンとはいずれもATP誘発性のK<sup>+</sup>電流オシレーションを用量依存的に抑制した。更にRB-2とスラミンはATPの場合と同様の濃度範囲でADP誘発性のK<sup>+</sup>電流オシレーションも抑制した。一方これらの薬物はthrombinやinositol

1,4,5-triphosphate (IP3) 誘発性のK<sup>+</sup>電流オシレーションには影響せず、プリン受容体拮抗薬として作用していることが明らかである。以上の結果から巨核球のプリン受容体はその拮抗薬による抑制の点からはP2サブタイプに類似するといえる。

**Keywords** : megakaryocytes, purinoceptor, suramin

\* 東北大学医学部

Furukawa, F., Nishikawa, A., Imazawa, T., Yoshimura, H., Sato, M., Aze, Y and Takahashi, M.: **Blocking effects of soynthetic trypsin inhibitor (Camostat) on pancreatic carcinogenesis in hamsters initiated with N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine**

*Pancreas*, **9**, 78~82 (1994)

ハムスターを用いたBOP腫二段階発癌モデルにおいて合成トリプシンインヒビターであるcamostatの影響を検討した。Camostatは医薬品であり、強いトリプシンインヒビター作用を有する。大豆トリプシンインヒビターは膵腫瘍を抑制することを我々は明らかにした。今回、10 mg/kg BOPを5回投与し、それと同時に500 ppm camostatを飼料中に混じり5週間与えた。動物は30週間後に屠殺・剖検した。膵を中心に病理組織学的に検索した結果、adenocarcinomaの発生率はBOP群に比しBOP+camostat群で有意に減少した (p<0.05)。Adenocarcinomaおよびdysplastic lesionの発生個数はBOP群に比しBOP+camostat群で有意に減少した (p<0.01)。今回の実験からハムスターのBOP誘発腫瘍に対してCamostatは抑制効果を示した。

**Keywords** : camostat, pancreatic carcinogenesis, BOP

Shibutani, M., Mitsumori, K., Okeda, R., Imazawa, T., Maekawa, A., Hatanaka, H., Takahashi, M., Inoue, K. and Hayashi, Y.: **Evidence for an origin of ethyl-nitrosourea-induced rat central nervous system tumors from pluripotent germinal neuroepithelium**

*Acta Neuropathol.*, **87**, 293~301 (1994)

F344ラットにethyl-nitrosourea (ENU) を経胎盤投与することにより発生する脳の腫瘍が、未分化細胞巣、astrocyte様細胞巣、oligodendroglia様細胞巣、さらにvimentin陽性の血管周囲性小型細胞巣 (PSCNs) および大型細胞巣 (LCNs) からなることを免疫組織化学的に証明した。Astrocyte様細胞巣ではvimentinおよびglial fibrillary acidic protein (GFAP) の両者に陽性の細胞がまばらに認められた。PSCNsではGFAP, neurospecific erolase (NSE), β-tubulin isotype IIIまたはlow affinity nerve growth factor receptors (LNGFRs) を発現する細胞が、LCNsではlow and middle-molecular mass neurofilament proteins (NF-Lおよび-M), NSE, β-tubulin isotype IIIおよびLN-GFRを発現する細胞がみられた。Oligodendroglia



様細胞巢では vimentin および GFAP の他,  $\beta$ -tubulin isotype III, synaptophysin および NSE を発現する細胞が認められ, 電顕的にシナプス様構造が認められた。さらに, PSCNs から astrocyte および LCNs への2方向に分化する細胞移行像が認められた。以上の結果から ENU 誘発神経膠腫瘍が多分化能性の神経胚上皮に由来し, LNGFR が発現することから神経細胞に分化する能力も有することが示唆された。

**Keywords** : experimental glioma model, germinal neuroepithelium, neuronal differentiation

Imazawa, T., Furukawa, F., Shibutani, M., Mitsumori, K., Sato, M., Hayashi, Y. and Takahashi, M.: **Correlation between nucleolar organizer regions and cell proliferation in pancreatic acinar cell proliferative lesions in rats**

*Pancreas*, 9, 219~224 (1994)

ラットに膵腫瘍を誘発させ, 膵腺房細胞の BrdU 標識率, 核小体形成部位 (NOR) の核当りの個数および DNA 量を計測し, 膵腫瘍とその前駆病変との関係について検索した。BrdU 標識率と NOR 数の増強が膵腫瘍と前駆病変にみられ, 細胞増殖活性が重要な指標となることを明らかにした。また, 膵腫瘍と前駆病変の DNA 量は同様の傾向を示した。NOR 染色法は簡便なことから, 細胞増殖活性の検索に非常に有用で, 癌発生のメカニズムを知る上で短期間に検討できる道が開けたものと考えられる。

**Keywords** : nucleolar organizer region, bromodeoxyuridine, nuclear DNA content

古川文夫, 古田京子, 西川秋佳, 高橋道人: **自動免疫組織染色装置 (IHS-20) による至適反応条件と希釈倍率の検討**

臨床検査, 38, 489~492 (1994)

自動免疫組織染色装置 (IHS-20) で, LSAB キットを用いて1次抗体および2次抗体の反応条件を検討した。insulin, gastrin, proliferating cell nuclear antigen (PCNA) は37°Cで5時間反応させると, 4°Cで5時間反応させた場合に比して, 30~60倍の抗体の希釈が可能であった。しかし, 細胞増殖活性の指標として用いられている bromodeoxyuridine は非特異的の反応が強く発現した。また, 2次抗体も37°Cで反応させると3倍の希釈が可能であった。反応温度を37°Cにすることにより, 1次抗体を従来の数十倍に希釈できることが明らかとなった。

**Keywords** : immunohistochemistry, IHS-20, antibody

Nath, R. G.\*, Chen, H.-J. C.\*, Nishikawa, A., Young-Sciame, R.\* and Chung, F.-L.\*: **A  $^{32}\text{P}$ -postlabeling method for simultaneous detection and quantification of exocyclic etheno and propano adducts in DNA**

*Carcinogenesis*, 15, 979~984 (1994)

Acrolein および crotonaldehyde による DNA 付加体である 1, N<sup>2</sup>-propanodeoxyguanosine (AdG および CdG) および 1, N<sup>2</sup>-ethenodeoxyguanosine (EdG) を特異的に検出し定量する  $^{32}\text{P}$  ポストラベル法を開発した。これらの exocyclic な付加体の生成は, 環境汚染や生体内反応に由来する enals の曝露に伴う DNA 障害を示唆する。本法はこれら付加体の合成標準品を用いて開発され, 標識前の付加体の濃縮と標識後の定量と同等に HPLC が利用された。本法により, 0.2 fmol の付加体が検出でき, AdG および CdG の立体異性体の定量が可能となった。本法の有効性は, 180  $\mu\text{g}$  中 25 ないし 75 fmol の付加体 (10<sup>8</sup> のヌクレオチド当たり 5 ないし 15 個) を含む仔牛胸腺 DNA を用いて確認された。これら付加体の回収率は, 25 および 75 fmol のレベルでそれぞれ 30~90% および 21~55% であった。以上より,  $^{32}\text{P}$  ポストラベル法を応用した我々の方法は, AdG, CdG, EdG などの exocyclic な DNA 付加体を同定・定量する上に有用であることが示された。

**Keywords** :  $^{32}\text{P}$ -postlabeling, exocyclic DNA adduct, enals

\* American Health Foundation

Kawanishi, T., Kawanishi, M.\*, Ohata, H.\*, Toyoda, K., Takahasahi, M., Momose, K.\* and Hayashi, Y.: **The relationship between spontaneous calcium oscillations and cell proliferation in cultured smooth muscle cells**

*Jpn. J. Pharmacol.*, 65, 59~62 (1994)

モルモット回腸縦走筋細胞を Explant 法によって培養し細胞内遊離カルシウムイオン濃度を測定すると, 多くの細胞で刺激なしでもカルシウムイオン濃度が上昇下降を繰り返すいわゆるカルシウムオシレーション現象が観察される。この細胞は活発な細胞増殖を示しているため, 細胞増殖とカルシウムオシレーションとの相関をオシレーションの阻害剤を用いて検討した。BAPTA, カフェイン, タブシガルジン, La<sup>3+</sup> は 5.0 mM, 10 mM, 15.62 nM, 0.5 mM 以上でカルシウムオシレーションと細胞増殖を抑制し, ベラパミル, ニカルジピン, ライアノジンはどちらも抑制しなかった。しかし細胞増殖は BAPTA と La<sup>3+</sup> の 1.25 mM, 0.13 mM で抑制されるが, カルシウムオシレーションは抑えられなかった。これらの結果からカルシウムオシレーションは細胞増殖に必須な現象ではないことが明らかとなった。

**Keywords** : calcium, cell proliferation, smooth muscle

\* 昭和大学薬学部

Kawanishi, T., Asou, H.\*, Kato, T.\*, Uneyama, C., Toyoda, K., Ohata, H.\*, Momose, K.\* and Takahashi, M.: **Ratio-imaging of calcium waves in cultured hepatocytes using rapid scanning confocal microscopes and indo-1**

*Bioimages*, 2, 7~14 (1994)

紫外光対応の高速走査型共焦点レーザー顕微鏡とカルシウムイオン蛍光プローブ indo-1 を用いて、初代培養肝細胞における高速高分解能カルシウムイオンの画像化を行った。水冷アルゴンレーザーの発進する 351 nm を励起光として用い、400~440 nm、および 440 nm 以上の蛍光像を画像化して、その蛍光強度比像を画像化した。indo-1 をアセトキシメチル体で取り込ませ、イオノマイシン存在下で細胞外のカルシウムイオン濃度を上下させたところ、標準溶液の蛍光強度比と比べて高いことが明らかとなったので、カルシウムイオン濃度のキャリブレーションは *in situ* で行った。この方法を用いて、ホルモン性刺激による細胞質カルシウムイオン濃度の上昇を画像化したところ、カルシウムイオンは細胞膜近傍の特定の領域から上昇が始まり、約 2 秒で細胞を横切るようにウェーブ状に上昇が細胞全体に広がるのが画像化できた。

**Keywords** : confocal microscopy, calcium, fluorescence probe

\* 昭和大学薬学部

古川文夫, 鈴木順子, 池崎信一郎, 古田京子, 西川秋佳: 樹脂包埋標本における免疫染色の検討  
実験病理組織技術研究会誌, 3, 1~5 (1994)

樹脂包埋から作製した標本はパラフィン包埋ブロックに比べ、細胞内構築の保存性に優れ、詳細な細胞組織学的な観察が可能である。特に精巣、眼球、聴覚器など組織構築が複雑な臓器や骨組織などの硬組織の標本作成に適している。樹脂包埋標本を免疫染色を行うには、プトキシエタノールを 5% の割合で樹脂に添加することにより染色が可能となった。それは重合時に樹脂の分子間にプトキシエタノールが入り、重合完了時にはプトキシエタノールが蒸発し、樹脂の分子間に隙間ができ、ペプシンなどの染色試薬が組織に直接接する可能性が考えられた。また、脱水時に用いるアルコールをグリコールメタクリレートに変えることにより、組織萎縮、アルコールによる検出抗原の失活を防ぐ可能性が示唆された。

**Keywords** : immunohistochemistry, glycol methacrylate, butoxyethanol

Sato, M., Furukawa, F., Nishikawa, A., Mitsumori, K., Imazawa, T. and Takahashi, M.: Analysis of proliferative activity in renal lesions induced by N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine (BOP) in male Syrian golden hamsters  
*Cancer Lett.*, 79, 91~99 (1994)

ハムスター腎臓の N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine (BOP) 誘発増殖性病変において、増殖細胞核抗原 (PCNA) 免疫染色と核小体形成帯 (AgNORs) 染色を実施した。30 匹の雄シリアンゴールデンハムスターに週 1 回の頻度で 3 週間 BOP (10 mg/kg BW) を皮下投与し、初回投与から 30 週後に増殖性病変を検出するために屠殺した。組織学的に、腎尿細管上皮の病変は尿細管腺腫, small clus-

ter 型異形成, 好酸性細胞型異形成, 明細胞型異形成, 嚢胞型異形成に分類された。PCNA 免疫染色において、細胞増殖活性の有意な増加が腺腫と好酸性型異形成において認められ、同時に平均 AgNORs 数の有意な増加も伴っていた。以上の結果より、好酸性細胞型異形成は BOP 誘発腎前癌病変としての意義を有することが示唆された。

**Keywords** : nucleolar organizer region, BOP, kidney

Shimo, T., Mitsumori, K., Onodera, H., Yasuhara, K., Kitaura, K., Takahashi, M.\*<sup>1</sup>, Kanno, J.\*<sup>2</sup> and Hayashi, Y.: Synergistic effects of phenobarbital and thiourea on proliferative lesions in the rat liver  
*Cancer Letters*, 81, 45~52 (1994)

フェノバルビタール (PB) とチオウレア (TU) を単独あるいは同時投与した場合の肝、甲状腺および肺の増殖性病変に及ぼす影響を検討するために、雄 F344 ラットに N-bis(2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN) 2000 mg/kg 体重でイニシエーション処置し、第 2 週~第 20 週までの 19 週間にわたり 0% の PB あるいは TU (第 1 群)、0.1% PB (第 2 群)、0.1% TU (第 3 群) および 0.05% PB ならびに 0.05% TU (第 4 群) を含有する餌または水を与えた。第 4 群の動物当たりの肝細胞酵素変異巢の発生個数は著明に増加し、第 2 群と 3 群の平均値よりも高値を示した。動物当たりの甲状腺増殖性病変の発生個数は第 3 群で最も高値を示し、第 2 群で最も低値を示した。肺の増殖性病変は全群で誘発されたが、複合投与群でそれら病変の発育に対する修飾作用は明らかではなかった。今回の結果より、PB と TU の複合投与は肝発癌において相乗的なプロモーター亢進作用を示すことが明らかとなった。

**Keywords** : synergistic effect, liver, anti-thyroid drug

\*<sup>1</sup> 佐々木研究所

\*<sup>2</sup> 東京医科歯科大学医学部

Takahashi, M., Nishikawa, A., Furukawa, F., Enami, T., Hasegawa, T. and Hayashi, Y.: Dose-dependent promotion effects of sodium chloride (NaCl) on rat glandular stomach carcinogenesis initiated with N-methyl-N'-nitro-N'-nitrosoguanidine  
*Carcinogenesis*, 15, 1429~1432 (1994)

種々の濃度の塩化ナトリウムの胃発癌に対する影響を Wistar 系雄ラットを用いて検索した。ラットに 100 ppm の N-methyl-N'-nitro-N'-nitrosoguanidine (MNNG) を 8 週間にわたって飲水投与後、10, 5 ないし 2.5% の NaCl を 82 週間混餌投与した。腺胃の腺腫および腺癌の発生頻度は、MNNG 単独投与群に比して NaCl 併用投与群で用量相関性の有意な増加を示し、10% 群および 5% 群において統計学的有意差を認めた (p < 0.001 および 0.05)。これら上皮性腫瘍とは対照的に、間葉系

腫瘍の発生はMNNGを投与した各群間に有意差を認めなかった。また、MNNGの処置とは無関係に、尿中の脂質過酸化生成物の量はNaClの投与量に相関して有意に増加した ( $p < 0.001$ )。以上の成績から、塩化ナトリウムはラットの胃発癌過程において用量相関性のプロモーション活性を示すこと、さらに2.5%の低濃度域においてもプロモーション作用を有する可能性があることが示唆された。

**Keywords** : NaCl, stomach carcinogenesis, rat

Furukawa, F., Nishikawa, A., Yoshimura, H., Takahashi, M., Nakamura, K.\* and Kamano, T.\*: **Analysis of cell proliferative activity during pancreatic ductal carcinogenesis induced by intraductal administration of *N*-ethyl-*N'*-nitrosoguanidine in dogs**

*J. Toxicol. Pathol.*, **7**, 223~228 (1994)

AgNORs染色はnucleolar organizer regionを染色するone-stepの銀染色である。AgNORsとproliferating cell nuclear antigen (PCNA)は細胞増殖活性の指標として用いられている。イヌ膵管内に*N*-ethyl-*N'*-nitrosoguanidineを投与し発生したductal hyperplasia, dysplasia, adenocarcinomaの病変をAgNORsとPCNAの指標を用いて検索した。AgNORs数は細胞1個当たり、正常膵管上皮では1.46個、ductal hyperplasiaでは1.48個、dysplasiaでは2.03個、adenocarcinomaでは2.37個 ( $p < 0.01$ )であった。PCNAの陽性率は正常膵管上皮では1.3%、ductal hyperplasiaでは2.4%、dysplasiaでは13.1% ( $p < 0.01$ )、adenocarcinomaでは38.9% ( $p < 0.01$ )であった。イヌ膵発癌により発生した各病変は、悪性度とよく相関した。

**Keywords** : *N*-ethyl-*N'*-nitrosoguanidine, proliferating cell nuclear antigen, AgNORs

\* 順天堂大学医学部

Mitsumori, K., Kurokawa, Y., Tanaka, S., Kodama, Y., Uchida, O., Takada, K., Saito, M., Kawashima, K., Usami, M., Yasuhara, K., Toyoda, K., Onodera, H., Furukawa, F., Takahashi, M. and Hayashi, Y.: **Confirmation study, using nitrobenzene, of the combined repeat dose reproductive/developmental toxicity test protocol proposed by the OECD**

*J. Toxicol. Sci.*, **19**, 141~149 (1994)

経済協力開発機構 (OECD) により提案されたラットを用いた反復投与毒性および生殖発生毒性併合試験法 (ReproTox) のガイドラインとしての有用性を検証するため、精巣に障害を起こすことが知られているnitrobenzeneを用いて実施した。一般状態では神経症状、血液学的検査ではメトヘモグロビン形成による溶血性貧血が認められた。病理組織学的検査では、雄の投与群で精細管の萎縮、脾臓にヘモジデリンの沈着、肝細胞の腫大および脳にグリオシスが観察された。雄の受精率には影響が認められなかったが、投与群の母動物から得られた新生児

の体重は低値を示し、また、死亡動物の増加が認められた。今回の実験よりこの化合物で報告されている毒性のほとんどは確認され、本試験法が反復投与毒性と生殖毒性のいずれも評価可能であることを確認した。

**Keywords** : ReproTox, OECD guideline, nitrobenzene

Uneyama, C., Uneyama, H.\*, Takahashi, M. and Akaike, N.\*: **Biological actions of purines on rat megakaryocytes: potentiation by adenine of the purinoceptor-operated cytoplasmic  $Ca^{2+}$  oscillation**

*Br. J. Pharmacol.*, **112**, 349~351 (1994)

ラット巨核球におけるATP誘発性の細胞質  $Ca^{2+}$  オシレーションを反映した  $K^+$  電流オシレーションを、アデニンがミリモル以下の濃度で増強することを見いだした。グアニンおよびその他の核酸塩基にはそのような作用はなかった。アデニンはATPの作用の域値に影響を与えず、反応強度を増加させる作用がある。アデニンの生理作用についてはこれまで知られておらず、これが最初の報告となる。

**Keywords** : adenine, purinoceptor, cytoplasmic  $Ca^{2+}$  oscillation

\* 九州大学医学部

古川文夫, 高橋道人: **ハムスター BOP 誘発腫瘍における Nucleolar organaizer regions による細胞増殖活性の検討**

腫瘍, **9**, 292~297 (1994)

Nucleolar organaizer regionsは、ヒトおよび実験動物の腫瘍における細胞増殖活性の検索の指標として有用と考えられている。ハムスターの*N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP) 誘発腫瘍モデルにおいて発生した膵管癌や異形成の増殖性病変の細胞増殖活性についてAgNORs染色を行い、AgNORs数とその面積や形状を検討した。その結果、AgNORs数および面積は異形成と膵管癌で正常膵管上皮に比して有意に増加した。また、形状として、特に膵管癌においてbizarreなAgNORsの数の増加がみられた。以上により、ハムスター膵臓の異形成および膵管癌の悪性度の指標として、AgNORs数、面積、形状 (特にbizarreなAgNORs) を検索することは有用であると考えられた。

**Keywords** : nucleolar organaizer region, BOP, hamster

Uneyama, C., Uneyama, H.\*, Takahashi, M. and Akaike, N.\*: **FCCP modulation of  $Ca^{2+}$  oscillation in rat megakaryocytes**

*Eur. J. Pharmacol.*, **268**, 455~458 (1994)

ラット巨核球のATP誘発性  $K^+$  電流オシレーションをモデルに、細胞質  $Ca^{2+}$  オシレーションに対するミトコンドリア脱共役剤FCCP (carbonyl cyanide-*p*-trifluoromethoxyphenyl-hydrazone) の

作用について解析した。FCCPは単独ではCa<sup>2+</sup>依存性K<sup>+</sup>電流を誘発することはないが、低濃度のATPにより誘発されるK<sup>+</sup>電流オシレーションを消失させ、高濃度のATPにより誘発されるK<sup>+</sup>電流オシレーションを一過性の電流に変える。アゴニストのATPの代わりにIP<sub>3</sub>を直接細胞内に導入した場合のK<sup>+</sup>電流オシレーションに対してもFCCPの作用は同様で、低濃度刺激の場合は完全な抑制、高濃度刺激の場合は波形の変化を誘発した。以上のことからFCCPはアゴニスト刺激により産生されるIP<sub>3</sub>の後の段階で、細胞内Ca<sup>2+</sup>の動員や除去過程に影響することが示唆された。

**Keywords** : FCCP, Ca<sup>2+</sup> oscillation, megakaryocytes

\* 九州大学医学部

Nishikawa, A., Furukawa, F., Imazawa, T., Yoshimura, H., Ikezaki, S., Hayashi, Y. and Takahashi, M.: **Effects of cigarette smoke on N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine-induced pancreatic and respiratory tumorigenesis in hamsters**

*Jpn. J. Cancer Res.*, 85, 1000~1004 (1994)

肺臓および呼吸器系の発癌に及ぼす喫煙曝露の影響をハムスターのN-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP) 誘発二段階発癌モデルで検索した。第1群にはBOPを週1回の割合で合計3回皮下投与し、同時に喫煙を4週間にわたって負荷した。第2群には同様なBOP処置を施行後、26週間にわたって喫煙負荷した。第3群および第4群は、それぞれBOP単独処置群および26週間単独喫煙曝露群とし、第5群は対照群とした。初回BOP投与から30週後に腫瘍の発生状況を病理組織学的に検索したところ、膵管癌の発生頻度は第3群に比し第1群において有意に減少した(p<0.01)。喉頭および気管の増殖性病変の発生は第3群に比し第2群において有意に増加したが(p<0.01)、肺の腺腫ないし腺癌の発生は第3群に比し第2群で有意に減少した(p<0.01)。以上より、イニシエーションの時期における喫煙曝露は膵発癌に対して抑制的に作用し、プロモーション期での曝露は呼吸器系の発癌に対して部位により異なる修飾効果を示すことが明らかにされた。

**Keywords** : cigarette smoke, carcinogenesis, hamster

Toyoda, K., Nishikawa, A., Furukawa, F., Kawanishi, T., Hayashi, Y. and Takahashi, M.: **Cell proliferation induced by laxatives and related compounds in the rat intestine**

*Cancer Letters*, 83, 43~49 (1994)

緩下剤およびその関連化合物のラットの腸上皮に対する細胞増殖亢進作用をBrdU標識率を指標として検索し、腸粘膜の形態学的変化および瀉下作用との関連性について検討した。雄のF344ラットにdanthron, sennosid A, bisacodyl, 1-hydroxyan-

thraquinone(1-HAQ), MgSO<sub>4</sub>, dextran sulfate sodium (DSS), pectin, CMC-NaあるいはNaClを種々の濃度で含有した飼料を7日間投与した。その結果、刺激性緩下剤であるdanthron, sennosid Aおよびbisacodylにおいて投与用量に相関した腸上皮の細胞増殖亢進が顕著に認められた。また、DSSにおいても高用量群において有意な腸上皮の細胞増殖亢進がみられた。以上の刺激性緩下剤とDSSにおける細胞増殖亢進は、腸粘膜の炎症性変化の程度や瀉下作用と良く相関していた。これに対し、膨張性緩下剤であるCMC-Naでは瀉下作用は認められたが、腸粘膜の炎症性変化や細胞増殖亢進はみられなかった。1-HAQやMgSO<sub>4</sub>では腸粘膜の炎症性変化はみられず、細胞増殖亢進も軽度のみであった。pectinとNaClではいずれの変化もみられなかった。以上の結果より、今回の細胞増殖亢進は腸粘膜の炎症性変化と密接に関連していることが明らかとなった。

**Keywords** : laxatives, intestinal cell proliferation, rat

Nagaoka, T.\*<sup>1</sup>, Takeuchi, M.\*<sup>1</sup>, Onodera, H., Matsushima, Y., Ando-Lu, J.\*<sup>2</sup>, Maekawa, A.\*<sup>2</sup>: **Sequential observation of spontaneous endometrial adenocarcinoma development in Donryu rats**

*Toxicologic Pathology*, 22(3), 261~269 (1994)

Donryuラットで好発する自然発生子宮内膜腺癌を経時的に観察することによりホルモンに依存して起こることが明らかになった。最初にみられる子宮内膜の変化は持続的発癌が開始する6ヶ月齢の被覆上皮と内膜腺に認められた。これらの変化は子宮内膜の扁平上皮化と被覆上皮の高円柱化あるいは腺形成であった。8ヶ月齢では内膜過形成が出現し、その後発生頻度と程度が増加した。12ヶ月齢を過ぎると過形成の程度が悪化し、15ヶ月齢では腺癌が認められた。これらの所見はヒトにみられる過形成から子宮内膜癌が発生する過程と同様の過程を経ることを示唆している。また、血中の性ホルモンを経時的に測定することにより、これら病変の発生にはエストロゲン/プロゲステロン比の増加が関連し、特にエストロゲンは過形成あるいは腫瘍発生に対して重要な役割を担っている可能性が示唆された。一方、自然発生子宮内膜腺癌発癌系のF344ラットでは明らかな組織学的、内分泌学的変化は認められなかった。

**Keywords** : endometrial hyperplasia, endocrine imbalance, adenocarcinoma

\*<sup>1</sup> 吉富製薬安全性研究所

\*<sup>2</sup> 佐々木研究所

Shimizu, S.\*<sup>1</sup>, Ishii, M.\*<sup>1</sup>, Yomamoto, T.\*<sup>1</sup>, Kawanishi, T., Momose, K.\*<sup>2</sup> and Kuroiwa, Y.\*<sup>2</sup>: **Bradykinin induced generation of reactive oxygen species in bovine aortic endothelial cells**

*Res. Commu. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 84, 301~314 (1994)

過酸化物質によって酸化され蛍光物質に変わる2',7'-ジクロロフルオレセイン (DCFH) を用いて、牛大動脈内皮細胞で生じるブラジキニンによって引き起こされる酸化的ストレスについて調べた。ブラジキニンは細胞内遊離カルシウムイオン濃度を上昇させ、DCFHの酸化を引き起こした。DCFHの酸化はヒドロキシラジカル捕捉剤の*N*-(2-メルカプトプロピオニル)-グリシンと1,3-ジメチルチオウレアによって、あるいは細胞外のカルシウムイオンを除くことによって阻害された。しかし酸化窒素合成酵素阻害剤では抑制されなかった。一方、インドメタシン、アスピリンはDCFHの酸化を抑制した。これらの結果から、ブラジキニンは細胞内カルシウムイオンを増加させ、シクロオキシゲナーゼ経路を介してヒドロキシラジカル様の活性酸素種を生成させることが示唆された。

**Keywords:** endothelial cell, reactive oxygen, bradykinin

\* 昭和大学薬学部

Shimo, T., Mitsumori, K., Onodera, H., Yasuhara, K., Takahashi, M.\*<sup>1</sup>, Takahashi, M., Ueno, Y.\*<sup>2</sup> and Hayashi, Y.: **Time course observation of thyroid proliferative lesions and serum TSH levels in rats treated with thiourea after DHPN initiation**

*Cancer Letters*, 85, 141~149 (1994)

血清 TSH および甲状腺増殖性病変の発生個数と細胞増殖活性についての経時的変化を検討するために、雄 F344 ラットに *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine でイニシエーション処置し、その後 0.1%チオウレア (TU) でプロモーション処置し、第 1, 2, 4, 8, 12 および 16 週目に屠殺した。血清 T4 は第 1 週目に著明に減少した。一方、血清 TSH は第 4 週頃にピークに達し、第 12 週目には正常範囲値に復した。甲状腺重量は投与期間に依って有意に増加した。病理組織学的に、甲状腺濾胞上皮の著明な肥大が投与初期に認められた。甲状腺増殖性病変はそれぞれ第 2 週目より発生し、投与後期に増加した。BrdU 標識率による濾胞上皮の細胞増殖活性は第 2 週目まで高かったが、その後正常値に復した。投与初期段階にみられた過形成および腺腫は著明な増殖活性を示したが、その増殖活性は後期では著しく低下した。今回の結果から、血清 TSH の高値が甲状腺腫瘍発生の初期段階では重要な役割を演じていることが示唆される。

**Keywords:** thyroid carcinogenesis, TSH, time course

\*<sup>1</sup> 佐々木研究所 病理部

\*<sup>2</sup> 東京理科大学薬学部

Nishikawa, A., Kinai, N.\*<sup>1</sup>, Furukawa, F., Mitsui, M., Enami, T., Hasegawa, T.\*<sup>2</sup> and Takahashi, M.: **Enhancing effects of 3-chloro-4-**

**(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) on cell proliferation and lipid peroxidation in the rat gastric mucosa**

*Cancer Lett.*, 85, 151~157 (1994)

塩素処理水に含まれる変異原物質 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) の胃粘膜における細胞増殖活性および脂質過酸化に及ぼす影響を Wistar 系雄ラットを用いて検索した。MX は 50, 25, 12.5 あるいは 6.25 ppm の濃度で 5 週間にわたり飲水投与された。胃底部の粘膜上皮における BrdU 標識率は、無処置群に比して 25 ppm 群までは用量に相関した増加傾向を示し、25 ppm 群では有意差を認めた ( $p < 0.05$ )。また、胃粘膜における TBA 反応物質の量も用量相関性の増加傾向を示し、25 ppm 群では有意であった ( $p < 0.05$ )。さらに、尿中の TBA 反応物質の量は 25 ppm および 12.5 ppm の群で有意に増加した ( $p < 0.05$ )。病理組織学的に、25 ppm 以上の群に胃のピランが観察された。以上より、MX は毒性変化を示さない低濃度域においても胃発癌促進因子として作用する可能性が示唆された。

**Keywords:** MX, cell proliferation, lipid peroxidation

\*<sup>1</sup> 静岡県立大学食品栄養学部

\*<sup>2</sup> 佐賀医科大学地域保健科学

Onodera, H., Mitsumori, K., Takahashi, M.\*<sup>1</sup>, Shimo, T., Yasuhara, K., Kitaura, K., Takahashi, M. and Hayashi, Y.: **Thyroid proliferative lesions induced by anti-thyroid drugs in rats are not always accompanied by sustained increased in serum TSH**

*The Journal of Toxicological Sciences.*, 19, 227~234 (1994)

抗甲状腺物質は甲状腺ホルモン (T3, T4) の合成・分泌を阻害し高 TSH 状態をきたし、その持続的刺激の結果として腫瘍が発生する。今回、投与初期と甲状腺腫瘍発生・進展時における血中 TSH 値の変化を検討した。実験 I として 0.1%チオウレア (TU), 0.05% TU, 0.025%サルファジメトキシシン (SM), 0.0125% SM を 1 週間飲水投与した。すべての投与群で血中 T3, T4 の減少と TSH の増加が認められた。実験 II では *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine 150 mg/100 g 体重量を一回皮下投与し、その一週後より実験 I と同様に TU と SM を 20 週間投与した。TU, SM 投与群で甲状腺濾胞上皮由来の増殖性病変が高率に誘発された。しかし、血中甲状腺ホルモンは TU の高用量群を除き対照群と差はなかった。これらの結果より、甲状腺濾胞上皮由来の腫瘍発生・進展過程には、初期には TSH の増加が重要な役割を果たすが、後期においては必ずしも TSH の高値は必要ないことが明らかになった。

**Keywords:** thyroid tumorigenesis, anti-thyroid drug, thyroid hormone

\* 佐々木研究所

Furukawa, F., Nishikawa, A., Yoshimura, H., Mitsui, M., Imazawa, T., Ikezaki, S. and Takahashi, M.: Effects of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) on *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP)-nitiated carcinogenesis in hamsters

*Cancer Lett.*, 86, 75~82 (1994)

ハムスターを用いた BOP 肝二段階発癌モデルにおける 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) の影響を検討した。NNK は tobacco-specific nitrosamine で chewing tobacco, snuff, betel quid, たばこ煙に含まれる発癌物質である。イニシエーションとして 10 mg/kg BOP を 1 回投与し、その後 3 ppm と 1 ppm NNK を飲水中に混じて 87 週間投与した。肺を中心に病理組織学的に検索した結果、dysplastic lesion および adenocarcinoma の発生率および発生個数は BOP 群に比して BOP/NNK (H) 群, BOP/NNK (L) 群では影響はみられなかった。しかし、atypical hyperplasia の発生率および発生個数は BOP 群に比して BOP/NNK (L) 群で統計学的に有意に増加した ( $p < 0.05$ )。その他に NNK は膵内分泌、肺、肝、腎臓に腫瘍発生率等に対して影響を与えなかった。今回の実験からハムスターの BOP 誘発腫瘍に対して促進効果を示さなかった。

**Keywords** : NNK, pancreatic carcinogenesis, BOP

Mitsumori, K., Yasuhara, K., Yoshimura, H., Uneyama, C., Imazawa, T., Onodera, H., Takahashi, M. and Hayashi, Y.: Experimental induction of pulmonary fibrosis by *N*-methyl-*N*-nitrosourethane (MNUR) in Syrian golden hamsters

*Exptl and Toxicol Pathol*, 46, 287~295 (1994)

肺線維症は高頻度に肺癌を合併することがヒトで疫学的に報告されている。この発生機序を解明するに当たり、適切な肺線維症の動物モデルが確立されていないことから、まず動物モデル作成に着手した。6 週齢の雌ハムスターに *N*-methyl-*N*-nitrosourethane (MNUR) を個体当たり 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/kg を 1 あるいは 2 週間に一度、計 5 回皮下投与した後、無処置で飼育し最終投与後 8 週目に検索した。その結果、0.6 mg を隔週 1 回で計 5 回投与した群では一部死亡した動物を除き、生存動物に間質性肺炎、線維化像が認められ、動物モデルとして最適であることを見いだした。次に、この動物モデルを用い、投与終了後 1, 4, 8, 12 週目に動物を屠殺し検索した結果、肺胞壁の毛細血管障害による間質的水腫やマクロファージの著明な浸潤が投与終了後 1 週目にみられ、以後その炎症反応に続くびまん性の肺胞壁の線維性肥厚が時間の経過とともに明瞭となった。また、肺組織中の hydroxyproline 量の増加も 4 週以後に認められた。今回の実験では、MNUR を投与することにより、肺胞毛細血管の障害に起因する肺障害がびまん性の肺線維化に進展す

ることが明らかとなった。

**Keywords** : pulmonary fibrosis, interstitial pneumonia, MNUR

Onodera, H., Kitaura, K., Mitsumori, K., Yoshida, J., Yasuhara, K., Shimo, T., Takahashi, M. and Hayashi, Y.: Study on the carcinogenicity of tannic acid in F344 rats

*Fd Chem. Toxic.*, 32(12), 1101~1106 (1994)

医薬品や食品添加物として使用されているタンニン酸についてラットを用いた 2 年間の癌原性試験を行った。動物は F344 雌雄を用い各群 50 匹とし、タンニン酸を 0.25% および 0.5% の濃度で蒸留水に溶解し飲料水として自由に与えた。なお、この用量は先に行った 13 週間の亜急性毒性試験の結果より決定した。雌のタンニン酸投与群で対照群に比べ軽度ながら実験全期間において体重増加抑制が認められたが、雄においては認められなかった。腫瘍を含む増殖性の病変が多数発生したが、それらは発生頻度・臓器・組織型すべてにおいて今回用いた F344 ラットの自然発生頻度の範囲内であり、特にタンニン酸投与に起因する変化は認められなかった。

**Keywords** : tannic acid, carcinogenicity study, rat

杉木靖子, 山崎奈緒美, 松岡厚子, 鈴木孝昌, 林真, 祖父尼俊雄: *In vitro* 染色体異常試験における濃度設定のための細胞毒性試験法の比較

*Environ. Mut. Res. Commun.*, 16, 37~43 (1994)

*In vitro* 染色体異常試験における濃度設定のためには、いくつかの細胞毒性試験法が採用されている。主なものとしては、生細胞数、コロニー形成率、細胞分裂指数を指標とした試験、細胞増殖抑制試験、乳酸脱水素酵素 (LDH) 法等がある。4 種類の化学物質について、これらの試験法を比較し、染色体異常試験法の用量設定に適した試験法を探索した。その結果、コロニー形成法と LDH 法以外は、用量設定試験法として適用可能であることが判明した。

**Keywords** : chromosomal aberration, growth inhibition, colony forming efficiency

祖父尼俊雄, 林真, 松岡厚子, 山崎奈緒美, 鈴木孝昌, 本間正充, 杉木靖子: 培養細胞を用いる小核試験

変異原性試験, 3, 238~266 (1994)

化学物質の安全性を評価するための *in vitro* 染色体異常試験を *in vitro* 小核試験で置き換えて評価することが可能かどうかを検討した。今回の結果を総合的にみると、染色体異常試験で微妙な結果を与える化学物質を選んだにもかかわらず、*in vitro* 小核試験で陽性の結果を確認することができた。

**Keywords** : chromosomal aberration, *in vitro* micronucleus test

Suzuki, T., Hayashi, M., Hakura, A., Asita, A.

O., Kodama, Y., Honma, M. and Sofuni, T.: **Combination effects of clastogens in the mouse peripheral blood micronucleus assay** *Mutagenesis*, **10**, 31~36 (1995)

我々は、常に複数の環境化学物質に暴露されており、これらの複合作用を考えることは個々の物質の毒性を調べるのと同様に重要である。複合作用を考える基礎的検討として、マウス小核試験における2種の化合物の同時投与による作用について、それぞれ単独での用量相関性をもとに解析を行った。共に作用の類似したアルキル化剤である ethyl methane-sulfonate (EMS) と ethyl ethanesulfonate、およびともに紡錘体阻害剤である vincristine (VINC) と colchicine を組み合わせた場合、それぞれ単独処理での小核誘発性の和を上回る効果が認められた。このみかけの相乗効果は、それぞれ片方の化合物の投与量を、それと同じ小核誘発性を示す他方の化合物の投与量として変換し、一つの化合物の投与量として加算した場合に、その用量相関曲線から期待される小核誘発量と一致した。すなわち見かけの相乗効果は、片方の化合物の投与量への変換により単純な加算効果として説明できることが示された。このような見かけの相乗効果は、作用機序の異なる化合物である EMS と VINC、および EMS と KBrO<sub>3</sub> の組み合わせにおいては観察されなかった。一般に指数関数的用量相関反応性を持つ化合物どうしの複合投与においては、それぞれの化合物が等価な作用を持つ場合、単独での効果の和を上回る見かけの相乗効果が現れることが予想されるため注意が必要である。

**Keywords** : combination effect, micronucleus test, apparent synergism

Ushijima, T.\*, Hosoya, Y.\*, Ochiai, M.\*, Kushida, H.\*, Wakabayashi, K.\*, Suzuki, T., Hayashi, M., Sofuni, T., Sugimura, T.\* and Nagao, M.\*: **Tissue-specific mutational spectra of 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline in the liver and bone marrow of *lacI* transgenic mice**

*Carcinogenesis*, **15**, 2805~2809 (1994)

*lacI* 遺伝子を導入したトランスジェニックマウスである Big Blue マウスを用い、加熱調理した食品に含まれる変異原物質である 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline により誘発された突然変異を塩基レベルで解析した。肝臓および骨髄より回収した変異 *lacI* 遺伝子について PCR で増幅した後、single strand conformation polymorphism の解析により、変異を持つ PCR 産物を同定後 sequence の解析を行った。その結果、肝臓においては G→T transversion が最も多くみられ (46%)、次いで G→A transition がみられた (25%)。これに対し骨髄では、G→T transversion, G→A transition とともに、一塩基欠失および複雑な変異がそれぞれ同程度でみられた (21~23%)。これらの結果より、臓器特異的な変異誘発のメカニズムの

存在が示唆された。一方、コントロール群より得られた *lacI* 遺伝子の変異についても解析を行ったところ、肝臓、骨髄ともに CpG site における G→A transition が主であった。これは 5-methyl cytosine の spontaneous deamination に起因するものと考えられる。

**Keywords** : transgenic mouse, *lacI* mutation, MeIQ

\* 国立がんセンター研究所

Sobue, G.\*<sup>1</sup>, Natukari-Ueno, I.\*<sup>2</sup>, Okamoto, H.\*<sup>1</sup>, Connell, A.Y.\*<sup>4</sup>, Aizawa, I.\*<sup>1</sup>, Mizoguchi K.\*<sup>2</sup>, Honma, M., Ushikawa, G.\*<sup>3</sup>, Mitsuma, T.\*<sup>1</sup> and Natsukari, N.\*<sup>2</sup>: **Phenotypic heterogeneity of an adult from adrenodystrophy in monozygotic twins**

*Ann. Neurol.*, **36**, 912~915 (1994)

Adrenoleukodistrophy の一卵性双生児の患者の症状を比較した。神経症状は両者に共通していたものの、脳に見られた先天性の異常に関しては違いが見られた。概して症状の程度や発症の時期には両者で10年程度のずれがあることがわかった。このことは本疾患の発症には非遺伝的な要因の関与が重要であることを示している。

**Keywords** : adrenoleukodistrophy, monozygotic twin, heterogeneity

\*<sup>1</sup> 愛知医科大学

\*<sup>2</sup> 浜松医科大学

\*<sup>3</sup> 香川医科大学

\*<sup>4</sup> Medical College of Pennsylvania

Watanabe, M., Igarashi, T., Kaminuma, T., Sofuni, T. and Nohmi, T.: ***N*-Hydroxyarylamine *O*-acetyltransferase of *Salmonella typhimurium*: proposal for a common catalytic mechanism of arylamine acetyltransferase enzymes**

*Environ. Health Perspect.*, **102**, suppl 6, 83~89 (1994)

*Salmonella typhimurium* の *O*-アセチル転移酵素は、芳香族アミンおよびニトロアレーンの代謝活性化に関与する酵素として知られている。一方、ヒト等高等生物の *N*-アセチル転移酵素活性は個体によって異なるため、発がん等に対する感受性の相違の原因の一つとして注目されている。ここでは、*Salmonella O*-アセチル転移酵素を利用した、上記化合物を高感度に検出する変異原性試験菌株について紹介した後、本酵素の反応機構モデルを提案している。更に、*Salmonella* 酵素とヒト等高等生物の *N*-アセチル転移酵素は、同一分子から進化したタンパク質であると考えられること、したがって、ここで提案した反応機構モデルは、高等生物酵素全般について当てはまることも示している。

**Keywords** : *O*-acetyltransferase, aromatic amines, *salmonella typhimurium*

Komano, T.\*, Kim, S.-R., Yoshida, T.\* and Nishioka, T.\*: **DNA rearrangement of the shufflon determines recipient specificity in liquid mating of *incI1* plasmid R64**

*J. Mol. Biol.*, **243**, 6~9 (1994)

プラスミド R64 で発見された新種の DNA 再編成領域であるシャフロンは、7 個の 19-bp からなる反復配列によって区分された 4 種の DNA セグメントからなり、任意の逆向き反復配列間での組換えにより複雑な DNA 再編成を引き起こす。この領域は、*pilV* 遺伝子の 7 種の C-末端部の内 1 つを選択する生物スイッチとして機能している。シャフロンの生物学的意義を明らかにするため、*pilV* の C-末端部が 7 種に固定された R64 誘導体プラスミドを作製し、それを持つ菌を供与菌として液体内での接合伝達実験を行った。この接合伝達の頻度は、供与菌内の *pilV* の C-末端部と受容菌となる腸内細菌群との組み合わせに大きく依存していた。このことから、シャフロンは液内接合において受容菌の特異性を決めていることが示された。*pilV* 遺伝子の産物は、プラスミド R64 によって形成される細線毛の構成成分の 1 つであることが明らかになった。

**Keywords** : *IncI1*, plasmid R64, *pilV* gene

\* 東京都立大学理学部

村上博子\*, 伊藤 啓\*, 望月正隆\*, 山田雅巳, 能美健彦: **酢酸塩緩衝液による *N*-ニトロソアルキル尿素の変異原性抑制の *Salmonella typhimurium* YG71 系を用いた解析**

変異原性試験, **3**, 167~171 (1994)

*Salmonella typhimurium* TA1535 株の *O*<sup>6</sup>-alkylguanine alkyltransferase (AGT) 欠損株である YG7104, YG7108 株は、アルキル化剤による変異原性を高感度に検出できるだけでなく、アルキル化 DNA 損傷の修復機構を解明するのに有用である。すでに報告した *N*-ニトロソ化合物に対する脂肪酸の変異原性抑制効果のうち、酢酸緩衝液によるものは *N*-ニトロソアルキル尿素のアルキル鎖が長くなるほど弱まり、AGT 存在下と非存在下で差が見られたことから、変異原性抑制効果には AGT の関与が示唆された。

**Keywords** : *O*<sup>6</sup>-alkylguanine alkyltransferase (AGT), *N*-nitrosoalkylureas, acetate buffer

\* 共立薬科大学

Oda, Y.\*, Yamazaki, H.\*, Watanabe, M., Nohmi, T. and Shimada, T.\*: **Development of high sensitive *umu* test system: rapid detection of genotoxicity of pomutagenic aromatic amines by *Salmonella typhimurium* strain NM2009 possessing high *O*-acetyltransferase activity**

*Mutat. Res.*, **334**, 145~156 (1995)

環境中に存在する微量の芳香族アミンの遺伝子損傷作用を高感度に検出するため、*umu* テスト用の新しい試験菌株 *S. typhimurium* NM2009 を作製し

た。この菌株の中にはアセチル転移酵素の遺伝子をサブクローニングしたプラスミドと *umuC'*-*'lacZ* 融合遺伝子を持つプラスミド pSK1002 が存在する。遺伝子損傷により誘導される *umuC* 遺伝子の発現は、細胞内の  $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性を測定することによりモニタリングすることができる。22 種類の芳香族アミンについて試験を行い、今回作製した NM2009 株の感受性をこれまで用いられてきたテストの標準株 TA1535/pSK1002 株と比較した。その結果株 NM2009 株は、2-aminoanthracene, 2-aminofluorene など 18 種類の chemical に対して極めて高い感受性を示すことが明らかになった。

**Keywords** : genotoxicity, *umu* test, *salmonella typhimurium* NM2009

\* 大阪府公衆衛生研究所

Yamada, M., Sedgwick, B.\*, Sofuni, T. and Nohmi, T.: **Construction and characterization of mutants of *Salmonella typhimurium* deficient in DNA repair of *O*<sup>6</sup>-methylguanine**

*J. Bacteriol.*, **177**, 1511~1519 (1995)

*S. typhimurium* は、近縁種の大腸菌同様、アルキル化 DNA 損傷の修復酵素として 2 種類の *O*<sup>6</sup>-methylguanine DNA methyltransferase (*Ada*<sub>ST</sub>, *Ogt*<sub>ST</sub>) をもつが、大腸菌とは異なり adaptive response を示さない。我々は前報で *ada*<sub>ST</sub> 遺伝子の欠損株を作製したが、MNNG による突然変異誘発性が大腸菌のようには高くならなかった。そこで *ogt*<sub>ST</sub> 遺伝子をクローニングし塩基配列の決定、遺伝子産物の同定に加えて、*ogt*<sub>ST</sub> 欠損株および、*ada*<sub>ST</sub>-*ogt*<sub>ST</sub> 二重欠損株を作製し、その性質を親株 TA1535 と比較した。これら欠損株は MNNG のみならず、アルキル鎖の長さの異なる ENNG, PNNG, BNNG に対しても高い感受性を示した。また自然突然変異も親株 TA1535 の 2~3 倍高い値を示し、細胞内にアルキル化剤が存在することを示唆した。

**Keywords** : *O*<sup>6</sup>-methylguanine DNA methyltransferase, MNNG, *S. typhimurium*

\* Clare Hall laboratories, ICRF, UK

Nohmi, T., Yamada, M., Matsui, M., Matsui, K., Watanabe, M. and Sofuni, T.: **Involvement of *umuDC*<sub>ST</sub> genes in nitropyrene-induced -CG frameshift mutagenesis at the repetitive CG sequence in the hisD3052 allele of *Salmonella typhimurium***

*Mol. Gen. Evol.*, **247**, 7~16 (1995)

大腸菌の突然変異を誘発するのに必要なオペロンと相同性の高いオペロンが近縁種の *S. typhimurium* には染色体上に *umuDC*<sub>ST</sub>, 60-MDa の cryptic plasmid 上に *samAB* と 2 種類存在する。CG の繰り返し配列を reverse mutation のホットスポットにもつ株をもとに、*umuDC*<sub>ST</sub> と *samAB* それぞれの特異的な欠損株を作り、その突然変異誘発頻度とホットスポットで起こっている mutation とを親株と比



較したところ、次の2つが示唆された。1. 1-nitropyreneや1,8-dinitropyreneがCGの繰り返し配列のところに起こす2のフレームシフトに関与しているのは *samAB* オペロンではなく、*umuDC<sub>ST</sub>* オペロンである。2. どちらのオペロンも、2-nitrofluorene, Glu-P-1, *N*-hydroxyacetylaminofluorene 同タイプの変異の誘発には関与しない。

**Keywords:** frameshift mutagenesis, *umuDC<sub>ST</sub>*, nitropyrenes

Tanabe, H., Ishida, T.\*<sup>1</sup>, Ueda, S.\*<sup>1</sup>, Sofuni, T. and Mizusawa, H.: **Regional assignment of the human immunoglobulin processed pseudogene C-epsilon 3 (IGEP2) to 9p24.2-p24.1 by fluorescence in situ hybridization**

*Cytogenetics and Cell Genetics*, 66, 93~95 (1994)

ヒト免疫グロブリン偽遺伝子 C-epsilon 3 は、雑種細胞パネルを用いた分析から9番染色体上に存在することが報告されている。しかしながら、更に詳細なマッピングはなされていない。本研究では、FISH法とQFQ, RBG, GTGバンディング法(分染法)とを組み合わせ、C-epsilon 3 遺伝子を9番染色体上の短腕末端領域、すなわち、9p24.1-p24.2にマッピングした。この結果は、C-epsilon 3 遺伝子が新しいテロメア領域DNAマーカーとなり得ることを示しており、ヒト9番染色体の遺伝子地図作成だけでなく、クリプティック転座のような細胞遺伝学的な解析にも有用となる。更に、この遺伝子を用いてヒト以外霊長類(ヒト上科および旧世界ザル)に対して比較マッピングを行うことにより、ヒトと他の霊長類の核型進化の研究を発展させるであろう。

**Keywords:** gene assignment, processed pseudogene C-epsilon 3, fluorescence in situ hybridization

\*<sup>1</sup> 東京大学理学部

Miyano-kurosaki, N.\*<sup>1</sup>, Nakashima, H.\*<sup>2</sup>, Ichiyama, K.\*<sup>2</sup>, Inazawa, K.\*<sup>2</sup>, Tabata, H., Tanabe, H., Ohnishi, K., Mizusawa, H., Ohshiro, Y.\*<sup>1</sup> and Yamamoto, N.\*<sup>1</sup>: **A novel assay system for anti-human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) activity using a subclone of a monocytic cell line, U937**

*Microbiological Immunology*, 38, 813~818 (1994)

単球系細胞株 U937 のサブクローンの1つである cl. 1~14 細胞が限界希釈法により得られた。cl. 1~14 細胞は親株よりも HIV 感染に対して高感受性であり、感染後8~10日で HIV 抗原陽性の細胞が60~70%存在した (MOI=0.1)。親株 U937 とサブクローン cl. 1~14 細胞それぞれに HIV-1 を感染させ、間接蛍光抗体法により、発現しているウイルス抗原をどの程度阻害できるのかを調べることによって、その抗ウイルス活性の評価を行った。実験の結果、HIV-1 の複製阻害剤である AZT は、cl. 1~14 細胞においては MT-4 細胞に比べて、その50%有効

濃度 (EC<sub>50</sub>) が80倍高い値を示した。すなわち AZT の EC<sub>50</sub> 値はそれぞれ cl. 1~14 細胞では 0.16 mM, MT-4 細胞では 0.002 mM であった。これに対し、ddA や ddI などのプリン塩基由来の ddNs や、ピリミジン塩基由来の ddC の cl. 1~14 細胞における EC<sub>50</sub> 値はそれぞれ 0.16 mM, 0.02 mM であった。この値は MT-4 細胞のものとはほとんど一致していた。これらの結果は、ヒト末梢血マクロファージを用いた他の研究グループのデータとはほぼ一致したものであった。ネヒラピン、硫酸デキストラン、硫酸グルドロン、T22 の抗 HIV-1 活性は、HIV-1 を感染させた cl. 1~14 細胞と MT-4 細胞とで有意差はなかった。以上の結果より、cl. 1~14 細胞は抗ウイルス活性評価において非常に有用であり、末梢血マクロファージを用いる系よりも利点が多いことが示唆された。

**Keywords:** anti-HIV, U937, monocyte/macrophage

\*<sup>1</sup> 東京医科歯科大学医学部微生物学

\*<sup>2</sup> 山梨医科大学医学部微生物学

Fukamachi, H.\*<sup>1</sup>, Ichinose, M.\*<sup>2</sup>, Tsukada, S.\*<sup>2</sup>, Kakei, N.\*<sup>2</sup>, Suzuki, T.\*<sup>2</sup>, Miki, K.\*<sup>2</sup>, Kurokawa, K.\*<sup>2</sup> and Masui, T.: **Hepatocyte growth factor region-specifically stimulates gastrointestinal epithelial growth in primary culture**  
*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 205, 1445~1451 (1994)

HGF (hepatocyte growth factor) はラット胚由来の消化管上皮細胞の初代培養系においてその増殖を濃度依存的に促進する。消化管上皮の HGF に対する増殖反応は部域特異的であり、腺胃、腸、前胃の序列で弱くなる。他の増殖因子と HGF の相互関係も消化管の部域特異性があり、HGF に対する反応が部域特異的に調節されている可能性がある。RT-PCR や Northern ブロット法によると HGF mRNA は間充織のみに発現していることが明らかとなった。一方、HGF の受容体である c-met は上皮細胞と間充織細胞の両方で発現されている。これらのことより、HGF は間充織によって分泌され、一方、上皮の側は部域特異的に反応することによってそれぞれの部域特異的増殖および分化形質を発揮すると考えられる。

**Keywords:** HGF (hepatocyte growth factor), c-met, gastro-intestinal epithelial cells

\*<sup>1</sup> 東京大学理学部

\*<sup>2</sup> 東京大学医学部

\*<sup>3</sup> 癌研究所

石光 進, 杉山隆之\*<sup>1</sup>, 伊東真里\*<sup>1</sup>, 夏賀 徹\*<sup>1</sup>, 小松裕明, 岡田敏史: **合成基質法による低分子量ヘパリンの抗凝血活性の評価。ファクター Xa およびトロンピン活性の測定**  
*薬学雑誌*, 114, 611~617 (1994)

低分子量ヘパリン (LMWH) の抗凝血活性を測定するために、ファクター Xa (FXa)、トロンピン

(FIIa) と発色性ペプチド基質, S-2222 と S-2238 を用いたアミド分解法の測定条件について検討した。測定法は, アンチトロンビン III (AT III) 存在下 LMWH と FXa または FIIa をインキュベーションした後, FXa または FIIa の LMWH による不活化後の残量を比色定量することに基づいている。始めに, FXa と FIIa 活性の至適条件について, pH, 温度, AT III 量および添加する LMWH-国際標準品 (LMWH-IS) 量に関して検討した。確立された測定条件下で各社の LMWH について抗凝血活性を比較検討した。抗 FXa 活性, 抗 FIIa 活性やその活性比は LMWHs により異なっていた。抗 FIIa 活性は LMWHs の分子量が小さくなると抗凝血活性も減少することが再確認された。これに反して, 抗 Xa 活性には分子量依存性は認められなかった。

**Keywords:** low molecular-weight heparin, heparin, anticoagulation

\*1 清水製薬㈱

宮崎玉樹, 四方田千佳子, 岡田敏史: ヒアルロン酸ナトリウムとテトラサイクリン類の相互作用  
薬学雑誌, 115(1), 72~80 (1995)

ヒアルロン酸ナトリウム (HA) と 6 種類のテトラサイクリン類 (TCs) との相互作用について検討を行った。HA 水溶液からの TCs の放出を測定したところ, TCs の 50% 放出時間 ( $T_{50}$ ) は HA 濃度の増加につれて長くなった。 $T_{50}$  の HA 濃度依存性は TCs によって異なっており, メタサイクリン (METC) では最も遅延したものの, オキシテトラサイクリン (OTC) ではほとんど影響がなかった。TCs 水溶液の導電率の測定から, TCs の HA への結合が示唆された。HA 水溶液の粘度を測定したところ, METC の添加では粘度が増加したが, OTC では変化しなかった。また, METC の放出速度は試験溶液の pH に依存したが OTC では依存しないことが示された。さらに, HA 水溶液からの TCs の  $T_{50}$  は, *n*-オクタノール/水系におけるみかけの分解係数の文献値とよい相関を有することが分かった。カルボキシメチルキチン (置換度 0.56) 水溶液からの TCs の  $T_{50}$  と比較すると HA 水溶液の方が, TCs の脂溶性が放出の遅延により効果的に働くことが明らかになった。以上の結果より, HA 水溶液からの TCs の放出挙動における差異は, HA と TCs との疎水的相互作用あるいは HA 分子近傍での TCs のミセル様複合体形成の差によるものと推察された。

**Keywords:** hyaluronate, tetracyclines, interaction

Komatsu, H., Miyajima, K.\*1 and Handa, T.\*1: Comparative estimation of the liposomal content of phosphatidylcholine/triolein emulsions using fluorescence quenching and  $^1\text{H-NMR}$   
*Chem. Pharm. Bull.*, 42, 1715~1719 (1994)  
卵黄由来のレシチンを乳化剤とし, 油成分として

大豆油を乳化安定化した脂質エマルジョンが高カロリー輸液やリポ化製剤 (油性薬物の輸送担体) として市販されているが, 近年これらエマルジョン中にリポソームの混入することが見出された。そこで簡便なりポソーム混入量の評価法として蛍光ラベル化されたレシチンを用いる方法を開発し, プロトン NMR 法による評価値との比較を行った。その結果, 蛍光法はリポソーム混入量をわずかに低く評価することが明らかとなった。プロトン NMR 法に比べ, 簡便であり, 脂質量が少なく, また短時間で測定可能なことなど利点も多く, 評価法として十分利用できることが明らかとなった。

**Keywords:** emulsion, triolein, phosphatidylcholine

\*1 京都大学薬学部

西村千尋\*1, 谷本 剛: アルドースリダクターゼの分子生物学

最新医学, 49, 240~247 (1994)

糖尿病合併症発症に関与するアルドースリダクターゼ (AR) に関する研究は新しい分子生物学的手法の導入によりここ数年めざましい進展を示し, AR の遺伝子構造も明らかにされてきた。ヒト AR の遺伝子工学的大量発現が可能になり, ヒト型組換え AR の X 線血漿構造解析によってヒト AR の高次構造も解明された。さらに酵素免疫測定法によるヒト組織内 AR の直接定量法も確立され, 今後の合併症治療薬としての AR 阻害剤の開発と適用に重要な手法と知見を与えるものと期待される。

**Keywords:** aldose reductase, diabetic complication

\*1 国立小児病院小児医療研究センター

Nishimura, C.\*1, Saito, T.\*1, Ito, T.\*2, Omori, Y.\*2 and Tanimoto, T.: High levels of erythrocyte aldose reductase and diabetic retinopathy in NIDDM patients

*Diabetologia*, 37, 328~330 (1994)

NIDDM 患者 91 例の赤血球中アルドース還元酵素量をサンドイッチ酵素免疫測定法で測定した。その酵素量は患者の年齢, 罹病期間, 空腹時血糖値, HbA1c 値などとは相関性を示さなかった。罹病期間 10 年以上の患者 38 例においては, 網膜症 (増殖性と非増殖性の両者を含む) を併発した患者の赤血球中 AR 量は網膜症のない患者の AR 量より有意に高かった。しかし, 網膜症併発群と非併発群の両群間で平均 HbA1c 値や最大・最低血圧の差はなかった。これらの結果から, 長期糖尿病患者では赤血球中 AR 量と網膜症発症との間に関連があるものと推察された。

**Keywords:** aldose reductase, diabetic retinopathy, erythrocyte

\*1 国立小児病院小児医療研究センター

\*2 東京女子医科大学糖尿病センター

Nishimura, C.\*1, Hamada, Y.\*2, Tachikawa,

T.\*<sup>3</sup>, Ishikawa, T.\*<sup>3</sup>, Gui, T.\*<sup>1</sup>, Tsubouchi, J.\*<sup>3</sup>, Hotta, N.\*<sup>2</sup>, Tanimoto, T. and Urakami, T.\*<sup>3</sup>: **Enzyme immunoassay for erythrocyte aldose reductase**

*Clin. Chem.*, 46, 889~894 (1994)

組換えヒトアルドース還元酵素 (AR) のモノクローナルおよびポリクローナル抗体を用いたサンドイッチ酵素免疫測定法でヒト赤血球中 AR 量を測定した。この測定法は操作所要時間が約 2.5 時間、検出限界は  $<0.05 \mu\text{g/L}$  であり、健康人と糖尿病患者の血液で調べた回収率は 101~106%、測定内および測定間変動係数はそれぞれ 3.7% と 4.8% であった。この測定系で求めた酵素量は同一赤血球から単離した AR 活性とよく相関した。ヘモグロビン 1 mg 当たりの赤血球 AR 量は女性の方が男性より高いが、年齢との間には有意な相関はなかった。この測定法は、糖尿病合併症の予防や治療のための AR 阻害剤による薬物療法の最適化に有用な臨床的情報を提供するものと考えられる。

**Keywords**: diabetes, aldose reductase, enzyme immunoassay

\*<sup>1</sup> 国立小児病院小児医療研究センター

\*<sup>2</sup> 名古屋大学医学部

\*<sup>3</sup> 三菱ガス化学(株)

谷本 剛, 西村千尋\*<sup>1</sup>: **アルドース還元酵素の生化学と臨床的意義**

末梢神経, 4, 149~158 (1994)

アルドース還元酵素 (AR) は糖尿病合併症の発症起因酵素として大きな注目を集めており、近年の研究によってその生化学的な症状、構造、遺伝子など、分子レベルでの解明が大きく進展した。また、ヒト AR は遺伝子組換え技術で大量生産されるようになり、従来困難であったヒト型 AR の入手を容易にし、AR の診断学的応用や新しい選択的 AR 阻害剤の開発に有力な手段を提供した。酵素免疫測定法によるヒト組織内 AR の直接定量が可能になったことから、今後は神経障害などの糖尿病の発症と AR 量との相関性の検討、合併症発症の予知あるいは治療における生体内 AR 量測定の意義の確立などが課題となるであろう。

**Keywords**: aldose reductase, diabetic complication, aldose reductase inhibitor

\*<sup>1</sup> 国立小児病院小児医療研究センター

Gui, T.\*<sup>1</sup>, Tanimoto, T., Kokai, Y.\*<sup>1</sup> and Nishimura, C.\*<sup>1</sup>: **Presence of a closely related subgroup in the aldo-keto reductase family of the mouse**

*Eur. J. Biochem.*, 227, 448~453 (1995)

種々の糖尿病合併症の発症に関与するアルドース還元酵素 (AR) は種々のアルデヒド化合物を還元する。我々はマウス腎臓のライブラリーから AR の cDNA を単離した。これは 316 個のアミノ酸からなるタンパク質をコードし、ラット水晶体 AR と約 97% の相同性を有し、マウス輸精管タンパク

やマウス線維芽細胞 GF-1 調節タンパクとも約 69% の相同性を示した。RNA プロット解析で精巢、骨格筋、腎に多量の mRNA が発現されていた。しかし、他の動物では AR が多量に発現している組織である末梢神経や水晶体での発現は非常にわずかであった。単離した cDNA を *E. coli* で発現させ、この組換えタンパクをアフィニティークロマトとクロマトフォーカシングで均一に精製した。この発現タンパクは種々のアルド糖に対して還元活性を示したが、ステロイドに対しては活性を示さなかった。しかし、この酵素の DL-グリセルアルデヒドに対する活性はプロゲステロンや 17 $\alpha$ -ヒドロキシプロゲステロンで拮抗的に阻害された。これらの結果は、マウス AR の分布やその特質が特異的であることを示すばかりでなく、マウスの組織にはアルデヒド酸化還元酵素スーパーファミリーの中に更に近縁の亜群が存在することを示している。

**Keywords**: aldose reductase, mouse, aldo-keto reductase family

\*<sup>1</sup> 国立小児病院小児医療研究センター

柴田 正, 辻 澄子, 浅居良輝\*<sup>1</sup>, 堀内直子\*<sup>1</sup>, 大山孝治\*<sup>2</sup>, 桐原 修\*<sup>3</sup>, 長尾英二\*<sup>4</sup>, 山田真記子\*<sup>5</sup>, 加藤喜昭\*<sup>5</sup>, 池沢俊一\*<sup>6</sup>, 高橋道夫\*<sup>6</sup>, 菅沼 修\*<sup>6</sup>, 伊藤誉志男: **乳製品中のフェノール系酸化防止剤の定量: AOAC 法 (ヘキサナーアセトニトリル分配法) と改良法 (冷凍法) による比較**

*Jap. J. Dairy Food Sci.*, 43, A43~A49 (1994)

我が国では 4 種フェノール系酸化防止剤が許可され、各国では約 10 種類が使用されている。輸入食品中の一斉分析法を検討した。9 種フェノール系酸化防止剤の系統的分析法として、冷凍冷却法 (改良法) とヘキサナーアセトニトリル分配法 (AOAC 法) を各種乳製品に適用し、添加回収率を比較したところ、バターオイルおよびバターでは両者とも良好な回収率が得られた。しかしたんばく質含有食品のアイスクリーム、ヨーグルト、チーズおよび粉乳では改良法の方が高い回収率を示した。改良法 (冷凍冷却法) は各種食品への適用が可能な系統的分析法である。

**Keywords**: phenolic antioxidants, HPLC, dairy products

\*<sup>1</sup> 雪印乳業

\*<sup>2</sup> 明治乳業

\*<sup>3</sup> 協同乳業

\*<sup>4</sup> 森永乳業

\*<sup>5</sup> 三栄源エフ・エフ・アイ

\*<sup>6</sup> 日本国際酪農連盟

Tsumura, Y., Wada, I.\*<sup>1</sup>, Fujiwara, Y.\*<sup>2</sup>, Nakamura, Y., Tonogai, Y. and Ito, Y.: **Simultaneous determination of 13 synthetic pyrethroids and their metabolite, 3-phenoxybenzoic acid, in tea by gas chromatography**

*J. Agric. Food Chem.*, 42, 2922~2925 (1994)

13種の合成ピレスロイド系農薬それらの代謝物である3-phenoxybenzoic acid (PBA)を系統的に分析する方法を開発した。茶葉をアセトンとヘキサンで抽出後、ヘキサフルオロイソプロパノールによってPBAをエステル化し、フロリジルカラムで精製した。エトフェンプロックスはGC/MSのSIMモードで、それ以外のピレスロイドとPBAエステルはECD-GCで定量した。ピレスロイド系農薬の添加回収率は0.5~1.0 ppm添加で80~101%であり、PBAの添加回収率は0.05 ppm添加で73~76%、0.5 ppm添加で80~84%であった。検出限界はピレスロイドについて0.005~0.1 ppm、PBAについては0.005 ppmであった。市販の茶葉50検体の実態調査を行ったところ、何らかのピレスロイド系農薬が27検体から検出された。ピレスロイドを含む茶葉を熱湯浸出したところ、浸出液中に農薬は全く検出されなかったが、PBAが0.5~10.2%相当検出された。

**Keywords:** pyrethroid, metabolite, tea

\*1 日本生活協同組合連合会商品検査センター

\*2 生活協同組合コープこうべ

Tsumura, Y., Ujita, K.\*, Nakamura, Y., Tonogai, Y., Ito, Y.: **Simultaneous determination of aldicarb, ethiofencarb, methiocarb and their oxidized metabolites in grains, fruits and vegetables by high performance liquid chromatography**

*J. Food Protect.*, 58, 217~222 (1995)

アルディカルブ、エチオフェンカルブ、メチオカルブの3種カルバメート系農薬、およびそれらの代謝物である6種のスルホキシドとスルホンの同時定量法を開発した。試料をアセトンとともにホモジナイズ後、ジクロロメタン-ヘキサン混液を加えて遠心分離した。有機層を分取して減圧乾固した後にSep-Pakアミノプロピルカートリッジに負荷し、1%メタノール-ジクロロメタンで溶出した。溶出液を乾固した後25%メタノール-塩酸(pH 3)水溶液に溶解し、ポストカラム反応蛍光HPLCで定量した。添加回収率は玄米、りんご、キャベツ等16種の穀類、果実類、野菜類への20 ppb添加で60.1~102.9%であった。検出限界は1~4 ppbであった。

**Keywords:** aldicarb, ethiofencarb, methiocarb

\* 京都生活協同組合

Tsumura, Y., Nakamura, Y., Tonogai, Y., Ito, Y., Sobukawa, Y.\*, Shimoi, K.\* and Tomita, I.\*: **Identification and characteristics of organic compounds in tap water trapped by membrane of microporous polyethylene hollow fibers**

*Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, 40, 244~251 (1994)

多孔質中空糸膜(EHF膜)で捕集される水道水中の有機化合物について研究した。15または30 m<sup>3</sup>の水道水を東京都葛飾区、東京都新宿区、大阪市、静岡市においてそれぞれEHF膜を通過させた。

EHF膜をメタノールで洗浄し、そのメタノールを濃縮して暗褐色のタール状物質を得た。その物質中の有機物質含有量は、静岡市の試料を除いては、15 m<sup>3</sup>水道水で14~19%、30 m<sup>3</sup>水道水で23~29%であった。これらの抽出物のサルモネラ菌TA98株、TA100株に対する変異原性(S9なし)は大阪市の試料が最も強かった。この試料をSep-Pak silicaカートリッジで分画してGC/MS分析を行ったところ、ジクロロメタン溶出画分中に100以上の有機化合物が含まれていたため、再度Sep-Pak florisisilカートリッジおよびシリカゲル薄層クロマトグラフィーで分画した。その結果、3種の含塩素化合物が検出され、それらは農薬であるオキサジアゾン、ブタクロール、塩素化ブタクロールと推定された。オキサジアゾンとブタクロールの濃度は2.18 ppt, 1.58 ppt(水道水中)であった。

**Keywords:** polyethylene hollow fiber, tap water, mutagen

\* 静岡県立大学薬学部

Nakamura, Y., Tonogai, Y., Sekiguchi, Y.\*<sup>1</sup>, Tsumura, Y., Nishida, N.\*<sup>2</sup>, Takakura, K.\*<sup>3</sup>, Isechi, M.\*<sup>4</sup>, Yuasa, K.\*<sup>4</sup>, Nakamura, M.\*<sup>5</sup>, Kifune, N.\*<sup>5</sup>, Yamamoto, K.\*<sup>6</sup>, Terasawa, S.\*<sup>6</sup>, Oshima, T.\*<sup>6</sup>, Miyata, M.\*<sup>1</sup>, Kamakura, K.\*<sup>1</sup> and Ito, Y.\*<sup>7</sup>: **Multiresidue analysis of 48 pesticides in agricultural products by capillary gas chromatography**

*J. Agric. Food Chem.*, 42, 2508~2518 (1994)

日本で許可されている48種農薬のキャピラリーGCによる分析法を開発した。本法は、野菜果物はアセトンで抽出し、穀類豆類はアセトニトリルで抽出しアセトニトリル飽和n-ヘキサンで脱脂を行った後農薬を酢酸エチルで再抽出する。有機リン系農薬はFPD-GCで、有機含窒素系農薬はシリカゲルカラムにより精製後FTD-GCで、有機塩素系ピレスロイド系農薬はフロリジルカラムにより精製後ECD-GCで定量する。10種作物に各農薬を0.05~0.25 ppm添加した場合の添加回収率は42.5~128.5%であった。

**Keywords:** multiresidue analysis, capillary GC

\*<sup>1</sup> 神戸検疫所輸入食品・検査センター

\*<sup>2</sup> 農水省神戸農林水産消費技術センター

\*<sup>3</sup> 財冷凍食品検査協会

\*<sup>4</sup> 財日本缶詰検査協会

\*<sup>5</sup> 財日本食品分析センター

\*<sup>6</sup> (財)日本油料検定協会

\*<sup>7</sup> 武庫川女子大学薬学部

宮田昌弘\*, 鎌倉和政\*, 成田美加子\*, 平原嘉親\*, 岡本浩一郎\*, 長谷川眞住\*, 鯉口 智\*, 三好智子\*, 山名孝善\*, 外海泰秀: GCによる精米中の有機リン系、有機塩素系およびピレスロイド系農薬の系統的分析法の検討

食衛誌, 35, 276~286 (1994)

GCによる精米中24種有機リン系、25種カーバ

メイト系, 14種有機塩素系8種ピレスロイド系農薬の同時分析法を検討した。米中の農薬は30%含水アセトンで抽出し, 酢酸エチルで再抽出した。有機リン系農薬はクリーンアップすることなく, この抽出液から FPD-GC で直接測定した。有機塩素系およびピレスロイド系農薬はフロリジルカラムで, またカーバメイト系農薬はシリカゲルカラムでそれぞれクリーンアップし, 前者は ECD-GC, 後者は NPD-GC で測定した。

**Keywords** : pesticide, rice, gas chromatography

\* 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

鎌倉和政\*, 長谷川眞住\*, 鯉口 智\*, 後藤郁夫\*, 白石祥吾\*, 平田賢志\*, 山名孝善\*, 外海泰秀: 輸入冷凍えび中のテトラサイクリン系抗生物質のバイオアッセイならびに HPLC による検出, 定量

食衛誌, 35, 310~314 (1994)

タイ産冷凍エビからバイオアッセイの簡易検査法により, 抗生物質を検出した。この物質は分別推定法によりテトラサイクリン系であることが確認されたが, マイクロバイオオートグラフィーによっても, テトラサイクリンとオキシテトラサイクリンのいずれであるかは同定できなかった。そのため, 分別推定法において抽出した試験溶液を用いて HPLC で分析を行ったところ, 紫外, 蛍光フォトダイオードアレイ検出器により検出された抗生物質はオキシテトラサイクリンであり, その含量は 1.90 ppm であることが確認できた。

**Keywords** : antibiotic, shrimp, HPLC

\* 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

鯉口 智\*, 長谷川眞住\*, 鎌倉和政\*, 平原嘉親\*, 成田美加子\*, 岡本浩一郎\*, 宮田昌弘\*, 山名孝善\*, 外海泰秀, 伊藤誉志男: 高速液体クロマトグラフィーによる食用臓器中の残留合成抗菌剤の一斉分析

衛生化学, 40, 286~291 (1994)

食用臓器中に残留する 13 種合成抗菌剤の HPLC による一斉分析法を検討し, Sep-pak Alumina N tC18 カートリッジを用いるクリーンアップ法を確立した。本法は牛, 豚の肝臓, 腎臓の SMM, SMR, SDD, SDM, SQX, OMP, TMP, PYR, DFZ, MRT, NCZ, CLP, CDX に適用できた。これらを牛の肝臓および豚の腎臓に 0.4 ppm 添加したときの回収率は 54.0~74.9% であり, 検出限界は 30~50 ppb であった。

**Keywords** : antibacterial, edible viscera, HPLC

\* 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

平原嘉親\*, 成田美加子\*, 岡本浩一郎\*, 三好智子\*, 宮田昌弘\*, 鯉口 智\*, 長谷川眞住\*, 鎌倉和政\*, 山名孝善\*, 外海泰秀: 農薬標準溶液の経時的安定性について

衛生化学, 40, 393~398 (1994)

有機リン系, カーバメイト系, ピレスロイド系の

合計 46 種の農薬標準溶液について, 異なる保存条件 (溶解溶媒, 農薬濃度, 遮光, 非遮光) 下で保存を行い, それぞれの条件における安定性について GC 法で検討を行った。その結果, 直射日光下の保存条件で, アセトン溶媒にしかも低濃度に溶解した 12 種の農薬では減少傾向が認められた。アルジカルブ, ジスルホトン, フェンスルホチオンの保存中の光変化体を GC で検索したところ, いずれもスルホキシドやスルホンの酸化体に変化していたので, これらを経時的に定量した。

**Keywords** : pesticide, stability, gas chromatography

\* 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

成田美加子\*, 宮田昌弘\*, 鎌倉和政\*, 平原嘉親\*, 岡本浩一郎\*, 長谷川眞住\*, 鯉口 智\*, 三好智子\*, 山名孝善\*, 外海泰秀, 伊藤誉志男: コーヒー生豆中の有機リン系, カーバメイト系およびピレスロイド系農薬分析法の検討ならびに残留臭素の定量

食衛誌, 35, 371~379 (1994)

コーヒー生豆中の 44 種農薬をアセトニトリルで一斉に抽出し, 酢酸エチルで再抽出した。有機リン系農薬, ピレスロイド系農薬は, 試料からの抽出液を直接 GC で測定した (前者は FPD-GC, 後者は FTD-GC)。カーバメイト系農薬はシリカゲルカラムでクリーンアップした後, FTD-GC で測定した。本法で測定可能な農薬 44 種について, 10 か国からの 11 検体の分析を行った結果, 検査対象農薬は検出されなかったが, 残留臭素には高い値のものが見られた。本法による検出限界は有機リン系農薬で, 0.001 ppm, カーバメイト系, ピレスロイド系農薬で, 0.01 ppm, また残留臭素は 0.05 ppm であった。

**Keywords** : pesticide, coffee, gas chromatography

\* 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

平原嘉親\*, 成田美加子\*, 岡本浩一郎\*, 三好智子\*, 宮田昌弘\*, 鯉口 智\*, 長谷川眞住\*, 鎌倉和政\*, 山名孝善\*, 外海泰秀: GC 法による精米中の各種農薬の簡易, 迅速な同時分析

食衛誌, 35, 517~524 (1994)

精米中の 76 種農薬をメタノール, アセトンで抽出した後乾固し, アセトンに溶解し, 再抽出操作することなく, この溶出液を直接 GC 用試験溶液とした。本法により比較的水溶性の高い農薬, 分析操作に変化し易い農薬の回収率を上げることができた。更に分析時間も従来の半分以下に短縮でき, 使用溶媒も約 1/50 以下に節約できた。本法による検出限界は, 有機リン系, 有機塩素系農薬については 0.001 ppm, カーバメイト系, ピレスロイド系農薬については 0.01 ppm であった。

**Keywords** : pesticide, polished rice, gas chromatography

\* 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

三好智子\*, 平原嘉親\*, 成田美加子\*, 岡本浩一郎\*, 宮田昌弘\*, 鯉口 智\*, 長谷川眞住\*, 鎌倉和政\*, 山名孝善\*, 外海泰秀: イオントラップ GC/MS (化学イオン化法) による精米中各種農薬の一斉分析法  
食衛誌, 36, 274~282 (1995)

輸入米中の62種農薬を同時抽出し, 化学イオン化法を用いたイオントラップ GC/MS による一斉分析法を検討した。有機リン系, 有機窒素系農薬については同法で1~2本のフラグメントイオンが見られ, 食品由来の妨害もなく良好に測定できた。本法による検出限界は0.005 ppmであった。一方, ピレスロイド系, 有機塩素系農薬では多数のフラグメントイオンの見られるものがあり, 後者では測定不能が7種中3種あった。精米玄米に各種農薬を0.1 ppm添加したときの回収率は, 一部の農薬を除き50%以上であった。

**Keywords:** pesticide, GC/MS, chemical ionization method

\* 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

外海泰秀, 関口幸弘, 津村ゆかり, 中村優美子, 柴田 正: HPLC による食品中イプロジオンおよびその代謝物の分別定量法  
食衛誌, 36, 283~288 (1995)

イプロジオンおよびその代謝物の食品からの HPLC による分別定量法を検討した。試料からアセトンまたはアセトニトリルで抽出後, 酢酸エチルに分配再抽出し, フロリジルカラムでクリーンアップする方法を作成した。試料に両農薬を0.5 ppm添加したときの本法による回収率は70.3~105.0% (茶を除く) であり, 検出限界は0.01 ppmであった。両農薬の煎茶からの回収率は極めて低く, この原因は茶葉に吸着されてろ液に溶出しなためと考えられた。またイプロジオン標準溶液は室温保存すると経時的にその代謝物に変化するので, 用時調製することが必要であった。

**Keywords:** iprodione, post-harvest application, HPLC

Yoshichika Hirahara\*, Mitsue Ohta\*, Mika Kimura\*, Mikako Narita\*, Yukihiro Sekiguchi\*, Tomoko Miyoshi\*, Tomoko Itoyama\*, Masahiro Miyata\*, Masumi Hasegawa\*, Satoshi Koiguchi\*, Kazumasa Kamakura\*, Kenji Maeda\*, Takayoshi Yamana\* and Yasuhide Tonogai: Determination of fenoxaprop-ethyl in polished rice and brown rice by HPLC  
*J. Food Hyg. Soc. Japan*, 36, 289~292 (1995)

精米, 玄米中のフェノキサプロップエチルをアセトニトリルで抽出し, 前者は抽出液をろ過した後減圧乾固し, 後者は抽出液をアセトニトリル飽和ヘキサンで脱脂した後, アセトニトリル層を減圧乾固した。これら乾固した試料をヘキサンで溶解した後遠心分離し, 上清を Sep-pak フロリジルでクリーンアップし, HPLC で測定した。本法による検出限

界は試料中0.01 ppmであった。米国から輸入された精米6検体玄米41検体からはフェノキサプロップエチルは検出されなかった。

**Keywords:** fenoxaprop-ethyl, rice, HPLC

\* 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

辻 澄子, 柴田 正, 岡本浩一郎\*, 武田浩二\*, 藤原康士\*, 伊藤誉志男\*: プロナーゼ処理による食品中の食用タール色素の試料溶液調製法  
食衛誌, 36, 68~76 (1995)

食品中の微量のタール色素を検出するためのプロナーゼ処理試料溶液調製法を確立した。試料中のタンパク質をプロナーゼで分解し, 色素をアンモニアエタノール溶液で抽出して, 減圧濃縮した。濃縮液に水酸化テトラブチルアンモニウムを添加し, セツパックプラス tC18 カートリッジに負荷した。保持色素はメタノール-テトラブチルアンモニウムフォスフェート (pH 5.0) 溶液で溶出して, 可視部検出 HPLC により定量した。種々の食品に12種の色素を110 µg/g 添加したときの本法での回収率は76.2%~102.0%であった。

**Keywords:** pronase, food coal tar dyes, high performance liquid chromatography

\*1 神戸検疫所

\*2 生活協同組合コープこうべ商品検査センター

\*3 現, 武庫川女子大学薬学部

辻 澄子, 柴田 正, 一色賢司\*, 加藤丈夫\*, 神蔵美枝子\*, 西島基弘\*, 林 弘道\*, 深澤喜延\*, 黒田弘之\*, 後藤宗彦\*, 坂部英雄\*, 佐々木清司\*, 大内格之\*, 森口 裕\*, 内山壽紀\*, 城 照雄\*, 伊藤誉志男\*: 加工食品中の天然に存在しない化学的合成食品添加物の日本人の一日摂取量

食衛誌, 36, 93~101 (1995)

36種の天然には存在しない化学的合成食品添加物の日本人1人当たりの1日摂取量を, マーケットバスケット方式で1987年6月に購入した加工食品中の残留量を測定することにより求めた結果, 合計97.0 mgであった。10 mg以上の1日摂取量を示した食品添加物は35.1 mgのソルビン酸, 23.6 mgのプロピレングリコールであった。ソルビン酸の1日摂取量は地域に差がなく, プロピレングリコールは地域差が認められた。

**Keywords:** market basket method, chemically synthesized food additives, daily intake

\*1 北九州市環境科学研究所

\*2 仙台市衛生研究所

\*3 国立衛生試験所

\*4 東京都立衛生研究所

\*5 長野県衛生公害研究所

\*6 山梨県衛生公害研究所

\*7 香川県衛生研究所

\*8 島根県衛生公害研究所

\*9 名古屋市衛生研究所

\*10 大阪市立環境科学研究所

\*11 札幌市衛生研究所

\*12 厚生省生活衛生局食品化学課

\*13 日本食品添加物協会

\*14 現、武庫川女子大学薬学部

舩田 誠\*, 美濃部敏\*, 福井知美\*, 縄田雅裕\*, 渡辺泰三\*, 柴谷武爾\*, 小川義之: 固定化ヒスチジンとフィルトレーションプレートを用いたエンドトキシン定量法の注射剤への応用

薬学雑誌, 115, 136~144 (1995)

リムルス試験による注射剤中のエンドトキシンの定量を固定化ヒスチジンとフィルトレーションプレートを用いて改善した。多検体同時測定およびリムルス測定への応用を考慮し、これまで固定化ヒスチジン法に用いていた容量2mlのフィルターユニットに代えて96穴フィルトレーションプレートを用いる方法を検討した。すなわち、フィルトレーションプレートのウエル内で試料中のエンドトキシンを固定化ヒスチジンに吸着させることによって、注射剤中に含まれるリムルス反応の影響因子を分離した後、同じウエル内で固定化ヒスチジンに吸着したエンドトキシンをリムルス試験を用いて定量した。本定量法は、従来法と同等以上の精度を持つこと、各種注射剤およびエンドトキシン濃度に影響されないことが分かった。また、本定量法を用いて、注射剤に添加したエンドトキシンの回収を検討したところ、23品目中17品目で100±25%の回収率が得られた。

**Keywords:** endotoxin, immobilized histidine, parenteral drug

\* 田辺製薬(株)応用生化学研究所

Uchida, K.\*1, Takase, H.\*1, Nomura, Y.\*1, Nakamura, Y., Igimi, H.\*1, Takasu, N.\*1, Kurihara, H.\*1 and Takeuchi, N.\*2: Development of atherosclerosis in alloxan diabetic rats  
*J. Atheroscler. Thromb.*, 1, 118~128 (1994)

アロキサン誘導糖尿病ラットに0.25%コレステロールを混餌投与すると、3か月で動脈硬化が発症した。一方、正常ラットはコレステロールを混餌投与しても動脈硬化は発症しなかった。アロキサン誘導糖尿病ラットはコレステロール投与によって、血中コレステロール/リン脂質比、動脈硬化指数および血中総コレステロール値が上昇したことから、これらは動脈硬化発症の要因であることが示唆された。

**Keywords:** hypercholesterolemia, atherosclerosis, alloxan diabetic rat

\*1 塩野義製薬(株)

\*2 愛媛大医学部

Emma, M., Kurosaka, R., Amano, H. and Ogawa, Y.: Further evaluation of the developmental toxicity of tributyltin chloride in rats  
*Toxicology*, 96, 195~201 (1995)

船底塗料や漁網の防染剤また殺虫剤として使われるトリブチルスズ(TBT)の発生毒性を詳細に検討した。ラットの妊娠7~9, 10~12または13~15日(精子発見日=妊娠0日)に25, 50または100 mg/kgの塩

化トリブチルスズ(TBT)を経口投与し、妊娠20日にラットを解剖して胎児に対する影響を調べた。着床後の胚致死作用の有意の上昇が妊娠7~9日の25および50 mg/kg投与群および妊娠10~12日の100 mg/kg投与群において認められたが、妊娠13~15日のTBT投与では認められなかった。奇形胎児発現頻度の有意の上昇が妊娠10~12日の100 mg/kg投与群および妊娠13~15日の25, 50および100 mg/kg投与群において認められたが、妊娠7~9日のTBT投与群においては認められなかった。胎児奇形としては口蓋裂が最も多く観察された。これらの結果から、TBTは催奇形性をも有し、TBTの発生毒性発現には投与時期特異性があることが示唆された。

**Keywords:** tributyltin chloride, developmental toxicity, teratogenicity

Emma, M., Kurosaka, R., Amano, H. and Ogawa, Y.: Comparative developmental toxicity of *n*-butyl benzyl phthalate and di-*n*-butyl phthalate in rats

*Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 28, 223~228 (1995)

ラットの妊娠7~9, 10~12または13~15日(精子発見日=妊娠0日)に0.75, 1.0または1.25 g/kgのブチルベンジルフタレート(BBP)またはジブチルフタレート(DBP)を経口投与し、妊娠20日にラットを解剖して胎児への影響を調べた。投与日にかかわらず、BBPおよびDBP投与による着床後胚死亡率の有意の上昇が認められた。奇形胎児発現頻度の有意の上昇がBBPおよびDBPの妊娠7~9または13~15日の投与後に認められたが、妊娠10~12日の投与後では認められなかった。着床後胚死亡および胎児奇形の発現頻度はBBPおよびDBPの投与量の増加に伴って上昇した。BBPおよびDBPを妊娠7~9日に投与した後には脊椎骨および肋骨の奇形、妊娠13~15日の投与後には口蓋裂、胸骨分節癒合が多くみられた。BBPおよびDBPの発生毒性における類似性はこれらによる発生毒性が同じ要因、すなわちBBPおよびDBPの共通の代謝物を介して発現することが示唆された。

**Keywords:** butyl benzyl phthalate, dibutyl phthalate, developmental toxicity

Emma, M., Itami, T., Ogawa, Y. and Kawasaki, H.: Developmental toxicity evaluation of zinc dimethyldithiocarbamate (Ziram) in rats  
*Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 53, 930~936 (1994)

防霉剤として農業分野また加硫促進剤としてゴム工業分野で使われているzinc dimethyldithiocarbamate (Ziram)の発生毒性をラットを用いて検討した。ラットの妊娠6日から妊娠15日(精子発見日=妊娠0日)まで0.0125, 0.025または0.05%のZiramを含む飼料を与え、妊娠20日にラットを解剖して胎児への影響を調べた。0.025および

0.05%投与群における母体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かった。いずれのZiram投与群における着床後子宮内死亡率および数、生存胎児数、性比および体重とも対照群との間に有意差は認められなかった。いずれのZiram投与群における外表、骨格および内部器官の奇形を有する胎児の発現頻度とも対照群との間に差は認められなかった。これらの結果から、Ziramは0.025%以上の投与量で母体毒性を示すが、Ziramによる次世代の出生前発育に対する害作用および催奇形作用は認められなかった。

**Keywords:** zinc dimethyldithiocarbamate (Ziram), developmental toxicity, teratogenicity

Emma, M., Kurosaka, R., Amano, H. and Ogawa, Y.: **Embryolethality of butyl benzyl phthalate during early pregnancy in rats**

*Reprod. Toxicol.*, 8, 231~236 (1994)

可塑剤ブチルベンジルフタレート (BBP) をラットの妊娠初期に与えたときに惹起される胚致死作用の機序について検討した。2.0%のBBPを含む飼料をラットの妊娠0日 (精子発見日=妊娠0日) から妊娠7, 9または11日まで与え、これらの日にラットを解剖して母体および胚への影響を調べた。妊娠7, 9および11日における黄体数、着床数および着床前胚死亡率とも対照群, Pair-fed (PF) 群およびBBP投与群の間に差は認められなかった。妊娠11日におけるBBP投与群の着床後胚死亡率は対照群およびPF群に比べて著しく高かった。妊娠7日の卵巣重量を除き、いずれの検査日においてもBBP投与群の子宮および卵巣重量、母体血漿中のプロゲステロンレベルとも対照群およびPF群に比べて有意に低かった。これらの結果から、BBPによる妊娠初期における着床後の胚致死作用は母体血中プロゲステロンの低下、すなわち卵巣における黄体の機能障害に起因することが示唆された。

**Keywords:** butyl benzyl phthalate, embryolethality, luteal function

飯田 修・畠山好雄: **薬用植物の補償作用に関する研究, 光合成・蒸散速度からみたケシ葉の補償作用**

衛生試験所報告, 112号, 97~101 (1994)

ケシ葉の補償作用を検討するため、光合成速度と光条件および葉温の関係、ならびに剪葉処理が残存葉の光合成・蒸散速度に及ぼす影響について圃場条件下で試験を行った。

1. 葉温 23~28℃の間において、ケシ葉の光飽和点は  $900 \mu\text{molm}^{-2} \text{sec}^{-1}$  前後に見られ、光飽和点における光合成速度は約  $13.5 \mu\text{molm}^{-2} \text{sec}^{-1}$  であった。光補償点は  $50 \mu\text{molm}^{-2} \text{sec}^{-1}$  前後に見られた。

2. 光合成速度に与える葉温の影響は大きく、葉温が 30℃を超えると光合成速度の急激な低下が見られた。

3. 主茎最上位3葉を剪葉した時の第4葉の光合

成・蒸散速度を測定したところ、前者は増加、後者も又一時的な増加を示した。

**Keywords:** *papaver somniferum*, compensative effect, photosynthetic rate

箕島裕典<sup>\*1</sup>, 尾谷 賢<sup>\*1</sup>, 内山智幸<sup>\*1</sup>, 兼俊明夫<sup>\*1</sup>, 姉帯正樹<sup>\*2</sup>, 金島弘恭<sup>\*2</sup>, 畠山好雄, 飯田修, 森 豊司<sup>\*3</sup>, 中谷 司<sup>\*3</sup>: **北海道帰の調製加工工程の機械化に関する研究 (第1, 2報)**

北海道立工業試験場報告, No. 293, 175 (1994)

現状の調製加工工程は人手に頼っており、全作業時間の約7割を占めている。特に、はさ掛け、はさ降ろし、および泥落とし工程での負荷が大きい。また乾燥基礎試験の結果から、希エタノールエキス量およびリグステイライド含量を指標とすると、熱風乾燥、遠赤外線乾燥、マイクロ波乾燥および真空乾燥に対し、生薬成分は安定であり、特に熱風50℃以下での乾燥が好ましいものであった。また、多段乾燥においては、一次乾燥の終点を水分率50WB%以下とすることにより、一週間程度の保存が可能であることが確認された。原料の堆積保存時は層高を約60cm以下とし、長期の堆積保存は避ける必要がある。

**Keywords:** angelicae radix, rationalization, preparation process

\*1 北海道立工業試験場

\*2 北海道立衛生研究所

\*3 訓子府町農業共同組合

柴田敏郎, 三浦忠一: **天塩山地ピッシリ山の高等植物相について**

北海道の自然と生物, 9, 20~31 (1994)

薬用植物遺伝資源に関する調査の一環として、北海道北部に位置する天塩山地ピッシリ山の標高400m以上におけるシダ植物以上の高等植物の分布について植生調査を行い、60科153属210種類の植物を記載した。また、スミレ科の1種であるフギレオオバキスミレについて、従来植物分類学的にオオバキスミレの変種として扱われていたが、生態的特性より、亜種とすべきであることを記載した。

**Keywords:** Mt. Pissiri-zan, alpine flora, higher plants

C. Park\*, N. Seong\*, T. Shibata, K. Nishi and E. Sakai: **Morphological Characteristics of Pollen Grain in *Bupleurum falcatum***

*Korean Journal of Breeding*, 26(2), 182~188 (1994)

ミシマサイコ属植物の分類を行う上での形質として花粉の形態に着目し、日本産8系統および韓国産1系統のミシマサイコならびにホタルサイコを材料として光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡による比較を行い、ミシマサイコ類は3つのタイプに分類できることを報告した。

**Keywords:** *bupleurum falcatum*, pollen morphology



## \* 韓国農村振興庁作物試験場

飯田守幸\*<sup>1</sup>, 浅見泰之\*<sup>1</sup>, 田中俊弘\*<sup>2</sup>, 畠山好雄, 酒井英二: *Gentiana lutea* L. の地下部の生長による内部形態のちがい

*Natural Medicines*, 48(2), 161-164 (1994)

ゲンチアナはヨーロッパ原産の多年草で、苦味健胃薬として広く利用されている。生産はおもにヨーロッパでの野生品の採取によるところが多い。栽培、調製に関する研究も進んでおり、今後は、栽培品が流通すると考えられる。そこで、栽培したゲンチアナの地下部の形態を明らかにする目的で顕微鏡観察を行い、形態の記載を行った。

**Keywords:** *gentiana lutea* L., crude drug

\*<sup>1</sup> ホーユー(株)

\*<sup>2</sup> 岐阜薬科大学

川村智子\*<sup>1</sup>, 久田陽一\*<sup>1</sup>, 奥田和代\*<sup>1</sup>, 野呂征男\*<sup>1</sup>, 田中俊弘\*<sup>2</sup>, 吉田将士\*<sup>3</sup>, 酒井英二: シュウヤクの生薬学的研究 (1) ドクダミ中のフラボノイド配糖体含量について

*Natural Medicines*, 48(3), 208-212 (1994)

生薬シュウヤクはドクダミの花期の地上部を乾燥したもので、民間で利尿、消炎、緩下薬として利用されてきた。近年、健康茶の原料として国内需要が増大し、中国からも輸入されている。これら輸入品と、国内の自生品についてフラボノイド配糖体含量に注目し比較を行った。その結果、フラボノイド配糖体含量は葉および花穂で高く、葉については含量の季節変動が少ないことを明らかにした。また、中国産のものは基原植物は日本のものと同じであったが、hyperin 含量が高い傾向にあることを明らかにした。

**Keywords:** *houltuynia cordata* THUNB., flavonoid glycoside

\*<sup>1</sup> 名城大学薬学部

\*<sup>2</sup> 岐阜薬科大学

\*<sup>3</sup> 本草製薬(株)

Yoshimatsu, K., Aoi, K. and Shimomura, K.: Clonal propagation of *Cephaelis ipecacuanha* (II) Characteristics of regenerated plants field-cultivated in two districts

*J. Plant Physiology*, 144, 22-25 (1994)

シュート培養により増殖したトコンを筑波および種子島薬用植物栽培試験場にて栽培し、生育とトコンアルカロイド含量を調べた。種子島では、6月から10月において均一な生育が認められたが、1月から2月にかけて平均気温が10℃以下になると地上部が障害を受けた。筑波では、10月まで地上部の生育が認められた。アルカロイド含量は、種子島で栽培した株の方が若干高い値を示した。

**Keywords:** *cephaelis ipecacuanha*, emetic alkaloid, regenerated plants

Jaziri, M.\*, Yoshimatsu, K., Homès, J.\* and

Shimomura, K.: Traits of transgenic *Atropa belladonna* doubly transformed with different *Agrobacterium rhizogenes* strains

*Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 38, 257-262 (1994)

異なる *Agrobacterium rhizogenes* 株により確立した毛状根から植物体を再生し、各々に異なる菌株を再度感染し、トランスジェニック植物体を確立した。導入遺伝子の確認は、オバインおよびPCRにより行った。各々の形態とアルカロイド含量、植物ホルモン濃度について調べた。

**Keywords:** *agrobacterium*, *atropa belladonna*, double transformation

\* ブリュッセル自由大学

Zhiri, A.\*, Jaziri, M.\*, Homès, J.\*, Vanhaelen, M.\* and Shimomura, K.: Factors affecting the *in vitro* rapid germination of *Taxus* embryos and the evaluation of taxol content in the plantlets

*Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 39, 261-263 (1994)

ヨーロッパイチイ種子の休眠を打破するシンプルで効果的な方法を調べた。7日間水道水で水洗した種子から摘出した胚を Murashige-Skoog あるいは Heller 培地に植え付けた場合の発芽率は、100%であった。タキソール含量は、抗タキソールポリクロナール抗体により調べた。

**Keywords:** embryo culture, taxaceae, yew

\* ブリュッセル自由大学

Yoshimatsu, K. and Shimomura, K.: Plant regeneration on cultured root segments of *Cephaelis ipecacuanha* A. RICHARD

*Plant Cell Reports*, 14, 98-101 (1994)

トコン培養根を材料とする、簡便で迅速な一段階大量増殖法を開発した。トコン不定根を個々に分割後、植物ホルモン無添加 B5 培地に植え付け暗所で培養するとシュートが分化し、16時間照明下で幼植物に生育した。得られた幼植物は土壌への移植が可能であり、この手法により一本の培養根から年間一万本の幼植物を得ることができる。

**Keywords:** *cephaelis ipecacuanha*, plant regeneration, cultured root

Sasaki, K.\*, Shimomura, K., Kamada, H.\* and Harada, H.\*: IAA metabolism in embryogenic and non-embryogenic carrot cells

*Plant Cell Physiology*, 35, 1159-1164 (1994)

エンジンの embryogenic および non-embryogenic cell における IAA の代謝について研究を行った。両細胞における IAA アスパルテイトの形成の誘導を明らかにするとともに、non-embryogenic cell に未知物質が存在することが解った。本物質の構造解析を行い、oxindole-3-acetylaspartic acid であることが判った。

**Keywords** : *daucus carota*, IAA, somatic embryogenesis

\* 筑波大学生物

Asai, I.\*<sup>1</sup>, Yoshihira, K.\*<sup>1</sup>, Omoto, T.\*<sup>2</sup>, Sakui, N.\*<sup>2</sup> and Shimomura, K.: **Growth and monoterpenone production in shoot culture and regenerates of *Mentha arvensis***

*Plant Tissue Culture Letters*, **11**, 218~225 (1994)

圃場栽培しているハッカよりシュート培養系を確立し、固形および液体培地における成分分析を行い、主成分は、プレゴンであることを明らかにした。液体培地におけるその含量は、固形培地の数倍であった。暗黒下では、プレゴンのみが生産されたが、照明下で培養すると少量のメントンとメントールが生産された。土壌栽培した再生植物においては、初期はプレゴンが主成分であったが、8週目にはメントールが主成分となった。

**Keywords** : *mentha arvensis*, shoot culture, monoterpene

\*<sup>1</sup> 東亜大学大学院

\*<sup>2</sup> 三栄源エフエフアイ

Tada, H.\*<sup>1</sup>, Shimomura, K. and Ishimaru, K.\*<sup>2</sup>: **Polyacetylenes in *Platycodon grandiflorum* hairy root and campanulaceous plants**

*J. Plant Physiol.*, **145**, 7~10 (1995)

日本産 *Agrobacterium rhizogenes* により形質転換して得られたキキョウの毛状根のポリアセチレン類生産に関して調べた。また、16種類のキキョウ科植物におけるポリアセチレン類の含量を調査し、本化合物類がキキョウ科植物のケモタキソノミーの指標物質となることを示した。

**Keywords** : *platycodon grandiflorum*, hairy root, polyacetylene

\* 佐賀大学農学部

Jaziri, M.\*<sup>1</sup>, Shimomura, K., Yoshimatsu, K., Fauconnier, M.-L.\*<sup>2</sup>, Marlier, M.\*<sup>3</sup> and Homès, J.\*<sup>3</sup>: **Establishment of normal and transformed root cultures of *Artemisia annua* L. for artemisinin production**

*J. Plant Physiol.*, **145**, 175~177 (1995)

*Artemisia annua* の葉にアグロバクテリウムを感染させて、毛状根を誘導した。得られた毛状根は植物ホルモン無添加培地で旺盛に生育し、毛状根特有の形態を示した。不定根(非形質転換根)およびシュート培養も誘導し、二次代謝産物について毛状根との比較を行った。シュート培養には artemisinin が検出されたが、暗所で培養した不定根および毛状根には検出されなかった。しかし、16時間照明下で培養し緑化させると、酵素免疫分析(ELISA)の結果、artemisinin 関連化合物が検出された。

**Keywords** : *artemisia annua*, ELISA, artemisinin

\* ブリュッセル自由大学

K. Hosoda, M. Noguchi, T. Ikenaga, Y. Hisata and Y. Noro: **Studies on the cultivation of *Bupleurum falcatum* L. VI. Variation in Lignification Index of *B. falcatum* of different geographical origins**

*Natural Medicines*, **49**, 11~13 (1995)

ミシマサイコの木化指数(Lignification Index, L.I.)は、根頭から根端へいくにしたがって小さくなり、根頭から1.5~2.0 cmのところで安定した値を示した。筑波系、伊豆系、和歌山系種子を和歌山で栽培した場合、伊豆系種子より得た植物は、他の2系統種子より得た植物に比べてL.I.は低い値を示した。三島、平尾台、秋吉台、湯布院、霧島および阿蘇地方から得た野生種を長崎県で栽培した場合、阿蘇系統の植物を除き、根の木化はまったく認められなかった。しかしながら、これらの植物より得た種子を和歌山県で栽培するとL.I.は高い値を示した。これらの結果から、いずれの系統でも、暖地で栽培すると開花後でも木化はそれほど進行しないものと推定された。また、これらの植物のサイコサポニン含量には、L.I.と逆比例の関係が認められた。

**Keywords** : *bupleurum falcatum*, lignification index, geographical variation

細田勝子, 野口 衛, 久田陽一, 野呂征男: **ミシマサイコの栽培に関する研究(第7報)開花ならびに根の木化と土壌物性, 土壌通気性との関連性** 生薬学雑誌, **49**, 14~17 (1995)

ミシマサイコを5種の土壌(山砂, 川砂, 砂質畑土, 粘土質畑土, 山土)を用い, 通気, 非通気条件下で栽培し, 土壌の物理的性質の変化が開花と根の内部形態に及ぼす影響を検討した。その結果, 土壌通気により土壌の硬度は増大し, 空気通過速度および土壌酸素拡散速度が最大の値を示す山土で木化指数, 開花数とも最大の値を示し, 土壌通気が開花, 根の木化を促進するものと推察された。

**Keywords** : *bupleurum falcatum*, physical properties of soils, lignification index

野口 衛: **薬用植物の調製加工法の生薬の品質に及ぼす影響**

*Foods and Food Ingredients Journal of Japan*, **162**, 10~23 (1994)

薬用植物の調製加工条件が生薬の品質にどのような影響を与えるか検討した。夏ミカンの未熟果実(枳実)を50℃の温風で乾燥すると, フラボノイド, リモネン含量は天日乾燥品に比べて高い値を示し, 夏橙ならびに八朔より製した枳実は, 20項目以上の薬理試験で活性に違いは認められなかった。蘇葉のロズマリン酸含量は, 温風乾燥すると, 日陰乾燥に比べて10~20%高い値を示したが, ペリラルデヒド含量は逆に日陰乾燥で高い値を示した。蘇葉の色素含量は, 低い温度で空気量を少なくして乾燥すると高い値を示したが, 高温で空気量が大きくなると急激に減少した。キキョウの皮剥き法は, 根の

サボニンならびに灰分含量に影響を与える。生の葛根を水に晒すと、無機物質とともにイソフラボン化合物も水中に移行し、生薬中含量は低下した。温風乾燥法は、オウゴン、半夏、芍薬の乾燥に有用であった。また、生の人参中に残留する有機塩素系農薬は、根の皮剥き、湯通し、蒸し加工により大幅に低下することを明らかにした。

**Keywords** : processing methods, platycodon root, paeony root

児嶋 脩<sup>\*1</sup>、香月茂樹、川口基一郎<sup>\*1</sup>、古谷力<sup>\*1</sup> : 薬用植物種子の発芽に関する研究 I ヨロイグサの発芽について

*Natural Medicines*, 48(4), 229~232 (1994)

定温条件の移行により発芽率が著しく向上した。変温条件下においても発芽率の向上が見られた。二次休眠の打破のため低温処理 (5℃) や層積埋蔵法を1カ月間以上前処理することにより、発芽が早まりそろった。また明発芽性が証明されたことにより覆土は薄い方が好ましいと思われる。以上の発芽生理に関する新知見により、容易な栽培法が確立され生産拡大への可能性の途が開かれた。

**Keywords** : *angelica dahurica*, germination, alternating temperature

\*1 北里大学薬学部

香月茂樹、児嶋 脩<sup>\*1</sup>、川口基一郎<sup>\*1</sup>、古谷力<sup>\*1</sup> : 薬用植物種子の発芽に関する研究 II トリカブト種子の発芽について

*Natural Medicines*, 48(4), 233~236 (1994)

オクトリカブトの発芽に対し500 ppm以上のジベレリン処理が春播き・秋播きを問わず有効であった。ヤマトリカブト、サンヨウブシ、ハナトリカブトの発芽試験においても良好な結果が得られた。低温処理 (5℃) や層積埋蔵法 (埋蔵期間102日間)、戸外ポット試験の結果より、翌春、翌々春に発芽することが確認された。本葉は発芽1年目で1枚、2年目で2枚を、また2年目に小さな子根の形成を確認した。トリカブト属の発芽生理・形態が判明したことにより、育種への活用が期待される。

**Keywords** : *aconitum japonicum*, germination, gibberellin

\*1 北里大学薬学部

香取典子、青柳伸男、小嶋茂雄 : 含量均一性試験・重量偏差試験法の改訂案についての解説

日本薬局方フォーラム, 4(2), 71~81 (1995)

含量均一性試験の目的は、ロットの平均値を保証することや、ロットのバラツキの小ささを保証するだけではなく、ロットを構成する製剤の含量の大部分が、ある表示量を中心とした、許容された範囲内に収まっていることを保証することである。したがって、重要なのはロットの平均や標準偏差の推定値を得ることよりもむしろ、ロットの分布全体がどこに位置しているかを推定し、含量が過剰あるいは過小な製品を含まないことを確認することである。こ

の様な考え方に基づいて提案された、第13改訂日本薬局方含量均一性試験・重量偏差試験法の目的と、その統計学的な背景について解説した。

**Keywords** : content uniformity test, weight variation tests, JP

吉岡澄江、平山佳伸<sup>\*</sup> : 安定性試験ガイドラインについて

医薬品研究, 26, 71~79 (1995)

1991年に通知された安定性試験ガイドラインは、ICHで合意された国際調和ガイドラインに基づいて1994年4月に改訂され、新たに通知された。改訂されたガイドラインの解説を行った。長期保存試験の条件として温度のほかに「一定の湿度」が加えられたこと、加速試験の目的や適用についての考え方が変更されたことなど、主な変更点について技術的な点を中心に解説した。

**Keywords** : guideline for stability testing international harmonization

\* 厚生省薬務局審査課

中原雄二 : 毛髪中の薬物分析

臨床検査, 39, 439~446 (1995)

毛髪薬物分析の歴史を説明し、次いで、毛髪の組織・構造や生態に関して解説したのち、以下の項目で毛髪分析の基礎から応用まで述べた。

①毛髪試料の前処理、②毛髪中の薬物の抽出法と分析法、③薬物使用量と毛髪中薬物濃度の相関、④毛髪中の薬物の移動、⑤毛髪中の薬物分布と薬物使用歴、⑥毛髪中の薬物の安定性、⑦血中薬物濃度と毛髪中薬物濃度の比率、⑧毛髪への薬物の取込率、⑨毛髪分析による薬物依存症の診断への試み、⑩覚醒剤ベイビー、⑪多剤乱用。

**Keywords** : hair analysis, drug abuse, drug disposition

中原雄二 : 大麻成分の法科学的分析

法中毒, 12, 100~103 (1994)

大麻使用者の体液の分析法を中心に、以下のようない項目で大麻成分の法科学的分析の現状や問題点を述べた。

①THC代謝物の分析法、②鑑定上の問題点 (受動吸煙など)、③THC-COOHの安定性、④血中カンナビノイド濃度測定による使用経過時間の推定モデル、⑤大麻乱用者の毛髪中のTHC-COOH、⑥大麻尿の陽性判定について、⑦大麻製品と大麻THCの識別、⑧THC-COOHの標準品の供給体制、⑨鑑定法の標準化と判定ガイドラインなど

**Keywords** : cannabis, tetrahydrocannabinol, forensic analysis

早川 堯夫 : バイオテクノロジー医薬品の品質

月刊薬事, 37(4), 775~780 (1995)

バイオテクノロジー医薬品の品質に関するICHのトピックスである1) ウイルス面からみた安全性確保問題、2) 目的タンパク質生産細胞である組換

え体における遺伝子の安定性問題, 3) バイオテクノロジー医薬品/生物製剤の安定性試験のあり方, 4) 医薬品生産細胞基材の樹立, 特性・適格性評価, 維持・管理問題について, それぞれのトピックスの進展と今後の課題について論述した。

**Keywords** : ICH, biotechnology drug, quality control

早川堯夫: 医薬品製造に用いられる培養細胞および生産工程の評価試験

バイオサイエンスとインダストリー, 53(5), 402~406 (1995)

有効で安全な一定品質の細胞培養由来医薬品を安定供給する上で重要な培養細胞および生産工程の評価試験のあり方に関し, 概説した。具体的には, 1) 医薬品製造用培養細胞の調製・保存・管理および医薬品製造条件下での安定性評価, 2) 細胞培養時の留意点, 3) 細菌, マイコプラズマ, 真菌の混入否定試験, 4) ウイルス面からみた製品の安全性確保, 5) 目的物質の分離・精製方法のプロセスバリデーションなどを取り上げて解説した。

**Keywords** : ICH, biotechnology drug, cell culture technology-derived drug

森本和滋, 内田恵理子, 川崎ナナ, アハメド・アブド・サイード, 徳永裕司, 春日井勲, 早川堯夫: 医薬品関連糖鎖含有タンパク質における糖鎖の構造と機能について—その情報解析と今後(I)—

医薬品研究, 25, 405~425 (1994)

DIALOG オンライン情報検索システムのMEDLINE データベースにより, 文献検索を行い, hCG, LH, FSH, TSH 等のホルモンや, EPO, GM-CSF, G-CSF, M-CSF 等のサイトカインの糖鎖の構造と生物活性, 糖鎖の切り出し法・標識法・精製および分取手段・構造解析法等の糖鎖構造解析情報, 血中クリアランス, レセプターとの結合性, タンパク質構造・物性と糖鎖等に関する情報を収集し, 解析した。

**Keywords** : structure analysis of sugar chain, function of sugar chain, MEDLINE

森本和滋, 内田恵理子, 川崎ナナ, アハメド・アブド・サイード, 徳永裕司, 春日井勲, 早川堯夫: 医薬品関連糖鎖含有タンパク質における糖鎖の構造と機能について—その情報解析と今後(II)—

医薬品研究, 25, 501~523 (1994)

前報に続き, IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-5, IL-6 等のサイトカイン, t-PA, Pro-UK, UK, GCR, プロテインC, SOD 等の酵素, 成長因子 (NGF), 血液凝固因子 (VIII, IX), モノクローナル抗体 (IgG, IgM) の糖鎖の構造と機能の情報を解析した。さらに, 医薬品の創製および品質評価の面からみた糖鎖の今後の課題について解説した。

**Keywords** : significance of sugar chain, pharmacokinetics of glycoprotein, up-dating and future

森本和滋, 内田恵理子, 早川堯夫: 三局方間 (欧州薬局方, 日本薬局方, 米国薬局方) オープン会議—バイオテクノロジー由来製品の規格基準のハーモナイゼーション

医薬品研究, 25, 757~766 (1994)

バイオテクノロジー由来製品の規格基準のハーモナイゼーションに関する三局方間オープン会議の内容を紹介した。欧州薬局方, 米国薬局方, 日本薬局方の現状, EC, 米国, 日本の製薬業界および規制当局の見解とそれらの相互関係, 円卓セッションにおける general information, 一般試験法, 命名法, 標準品, バイオアッセイ法と理化学試験法との関係, インスリン, 成長ホルモン, IFN, G-CSF, EPO, Alteplase 等の三局方間のハーモナイゼーションにおける問題点等の討議内容について解説した。

**Keywords** : biotechnology-derived product, pharmacopoeia, open conference

佐竹元吉, 木島正夫<sup>\*1</sup>, 後藤実<sup>\*2</sup>, 西岡五夫<sup>\*3</sup>, 岡田 稔<sup>\*4</sup>, 永井吉澄<sup>\*5</sup>: 市場生薬と医薬品各条の整備

医薬品研究, 25, 300~305 (1994)

日本薬局方の収載生薬 117 品目の流通調査を行い, 品質評価の基準となる生薬を選品した。検討は第7改正から第12改正まで関わっていた委員および生薬流通関係者, 生薬製剤業者, 生薬の形態および成分の専門家の6人で行った。その内容として現在流通している生薬の品質を形態を中心に観察し, 現在の市場品と過去の市場品とを比較して, その違いを明らかにし, 基原植物の学名や別名 (synonym) の整理を行い, その他同属植物, その他同属動物, その他近縁植物およびその他近縁動物の範囲としてはどのような種類が考えられるのか等を検討した。医薬品各条の生薬は薬局方の改正の度に變更されてきているが, 一部現在のものにそぐわないものが見られた。生薬には品質の低下が見られるものがあり, 個々の生薬に関して品質の問題点を指摘した。

**Keywords** : herbal medicines, original plant, quality control

\*1 京都大学名誉教授

\*2 元武田薬品工業京都薬用植物園長

\*3 元九州大学教授

\*4 ツムラ研究所所長

\*5 三國株式会社常務取締役

佐竹元吉: 漢方薬の品質を考える

月刊薬事, 36, 1987~1994 (1994)

生薬製剤, 特に漢方製剤の1976年における生産金額は約90億円で, 医薬品総生産額の約0.4%に過ぎなかったが, 1992年では1,850億円で, 医薬品全体の3.3%と急増した。これらの原料は天然産物のため品質および量の確保が問題になることが多い。これらの問題点をふまえてWHOを中心とした国際的な動きを紹介し, 国内の薬局方生薬の品質について述べた。また, 生薬および生薬製剤のWHOのガイドラインには臨床試験, 品質試験から

微生物汚染, 農薬汚染, 放射能汚染に関しても述べられているので, 今後, 各方面で品質を検討する必要性を示した。

**Keywords** : WHO, herbal medicines, quality control

佐竹元吉: 生薬および生薬製剤の品質について  
家庭薬研究, 14, 4~31 (1995)

生薬および生薬製剤の品質に関する動きを, 国立衛生試験所生薬部での仕事を通じて述べた。生薬行政が時代とともに変わり, さまざまな法律および関連通達が出されている。また, 局方の生薬品目の取組の歴史と市場品の変化を30年間の動きを基に比較した。生薬の品質の向上は図られてきたが, 新しく開発される生薬製剤の品質に関しては未だ十分に品質が確保されているとはいえない。これらの有効性の証明とそれを裏付ける品質の評価が重要になる。

**Keywords** : herbal medicines, powdered herbal medicines, quality control

林 譲: 分析機器における1/f揺らぎと定量精度

ぶんせき, 1995, 195~200 (1995)

液体クロマトグラフィなどの機器分析の精度を予測する理論を解説した。通常は, 定量精度(測定値の標準偏差)は繰り返し実験で得られるが, 多くの労力と時間を必要とするため頻繁に参照されることはあまりない。しかし, 分析化学においては, 重要な量であるので, 繰り返し実験無しに, 分析機器のベースライン揺らぎとシグナルの形から定量精度を予測する理論を解説した。

**Keywords** : 1/f noise, precision, chromatography

中村晃忠: ヨーロッパの医療用具規制事情  
生体材料, 12(1), 39~42 (1994)

EU域内の統一市場形成に伴って, 従来, 各国でまちまちだった医療用具の規制体系も統一された。それは, (1) ISO 9000を基本とした自己認証システム, (2) EC指令中の基本要件, (3) ハーモナイズド・スタンダードを基礎とするものであることを概説した。

**Keywords** : ISO 9000, essential requirements, harmonized standards

中村晃忠: EUの医療用具の基本要件  
生体材料, 12(5), 244~249 (1994)

ヨーロッパでの医療用具規制の基となる法律は Council Directive 93/42/EECであるが, そこには「基本要件に適合すること」という条項があり, 付属書1に「基本要件」が列記されている。それを翻訳した。

**Keywords** : EC directive, medical devices, essential requirements

新谷英晴: ISO 11138-3 医療用具の滅菌—生物指標一部3: 蒸気加熱滅菌のための生物指標 3月1

日 1995年

ファーマテックジャパン, 11, 89~92 (1995)

1994年3月オランダ, ビルトーヘンでのWG4の決議事項の内 ISO 11138-3について解説した。

**Keywords** : ISO/TC 198, ISO 11138-3, biological indicator

Shintani, H.: Current advancement of pharmaceutical analysis by capillary zone electrophoresis, micellar electrokinetic chromatography and isotachopheresis

Die Pharmazie, 49, 631~641 (1994)

キャピラリー電気泳動, ミセル電気泳動, 等電点電気泳動を用いた医薬品分析の最近の進歩について総説した。

**Keywords** : capillary zone electrophoresis, micellar electrokinetic chromatography, isotachopheresis

新谷英晴: ISOならびにISO/TC 198について—第6回会議の内容と日本案について—(3)

ファーマテックジャパン, 10, 779~785 (1994)

第6回ビルトホーヘン会議での日本案の主張 (ISOドキュメントへのSMCPの導入), 国内委員会でのコメントの発言等につき解説した。

**Keywords** : ISO, ISO/TC 198, biological indicator

新谷英晴: ISOならびにISO/TC198各WGの第6回ビルトホーヘン会議での議論の内容(5)

ファーマテックジャパン, 10, 999~1003 (1994)

第6回ビルトホーヘン会議での各WGの議論の内容について解説した。

**Keywords** : ISO, ISO/TC 198, biological indicator, working group

新谷英晴: ISOならびにISO/TC198WG4について—第6回会議の内容と日本案について—(4)

Pharm Tech Japan, 10, 865~874 (1994)

1994年3月オランダ, ビルトーヘンでのWG4の決議事項の内 ISO 11138-1について解説した。

**Keywords** : ISO/TC 198, ISO 11138-1, biological indicator

新谷英晴: 1994年のビルトーヘンでのWG4決議事項 ISO 11138-1 医療用品の滅菌—生物指標(BI): 一般

Pharm Tech Japan, 10, 1183~1190 (1994)

1994年3月オランダ, ビルトーヘンでのWG4の決議事項の内 ISO 11138-1について解説した。

**Keywords** : ISO/TC 198, ISO 11138-1, biological indicator

新谷英晴: 1994年のビルトーヘンでの決議事項

Pharm Tech Japan, 10, 1603~1608 (1994)

ISO-11135 (エチレンオキシド滅菌の評価と日

常管理)ならびに ISO 11134 (工業用蒸気滅菌の評価と日常管理)の内 ISO 11138-2,3 (ISO-11138 は生物指標に関する作業部会で、その中の部2はエチレンオキシド滅菌、部3は蒸気滅菌を取り扱う)に関連した部分を抜粋した。なぜなら ISO 11138-2,3 と ISO 11135 ならびに ISO 11134 では整合性がとれていないためである。それについても注記した。

**Keywords:** moist heat sterilization, ethylene oxide sterilization, biological indicator

新谷英晴: 1994年のビルトーヘンでのWG4決議事項

*Pharm Tech Japan*, 11, 103~105 (1995)

ISO 11138-2 (医療用品の滅菌—生物指標: エチレンオキシド滅菌のための生物指標について解説した。

**Keywords:** ethylene oxide sterilization, biological indicator, ISO/TC 198 WG4

新谷英晴: ビルトーフェン (3/21-3/25 '94) での ISO/TC 198 WG4, Biological Indicator, 会議報告ならびに 2/4 ならびに 2/23 '94 の WG4 国内委員会決議報告

医科器械, 64, 369~373 (1994)

ISO/TC 198 WG4, Biological indicator の第6回会議ならびにそのための国内委員会での決議事項について報告した。

**Keywords:** ISO/TC 198, biological indicator, sterilization

新谷英晴: 第29回 AAMI 年次大会印象記

医科器械, 64, 419 (1994)

1994年5月21日より25日まで米国ワシントンで開催された AAMI 29年会に出席し, ISO/TC198, BI で主張している日本案を報告した。ならびに出席した印象を記した。

**Keywords:** ISO/TC 198, biological indicator, AAMI

新谷英晴: 生残曲線法とフラクションネガチブ法での D 値の差の原因—ISO 9000 シリーズへの影響—

防菌防黴, 23, 195 (1995)

生残曲線法とフラクションネガチブ法での D 値の差の原因が前者がショルダーを有することに起因することを説明し, その差が滅菌時間 12D のオーバーキルを採用した場合に与える ISO 9000 シリーズへの影響にも言及した。

**Keywords:** survival curve method, fraction negative method, ISO 9000

新谷英晴: 日本案成立の科学的背景ならびに LSK 法と SMC 法の導入法

防菌防黴, 23, 299~301 (1995)

試料数 50 以上, ネガチブ数 1 以上, ネガチブ数/

試料数<0.9の制限を有する SMC 法を日本案として ISO/TC 198, Biological Indicator で主張してきた経過ならびに LSK 法と SMC 法の式の導入法について解説した。

**Keywords:** LSKP, SMCP, ISO/TC 198, Japanese proposal

安藤正典: 新しい水道水質基準の考え方と検査方法

衛生化学, 40, 317~327 (1994)

我が国の水道水質基準が設定されてから 30 数年ぶりに大幅な水質基準の改正がなされた。この基準の改正は, 安全性評価科学に立脚した我国で初めての基準の設定であり, その設定に当たっては動物実験からの「用量-反応」評価のルールを明確にしたものである。遺伝毒性を有しない化学物質に対する ADI の評価手法による場合と, 遺伝毒性に影響がある化学物質に対するリスク外挿による評価法にわけて基準値設定の根拠とした。このルールに従って水質基準は, 旧法の 26 項目から 46 項目と大幅に増加させた。さらに, 現段階では全国での汚染の可能性は低いものの汚染状況の把握が必要な監視項目および水の質に係わる快適項目などが設定された。

**Keywords:** water quality standard, drinking water, analytical methods for drinking water

松村年郎, 加藤真治\*: 揮発性有機化合物 (VOC) による室内空気汚染について

ビルと環境, 67, 58~61 (1994)

近年, sick building syndrome (SBS) に関連して, 揮発性有機化合物 (volatile organic compounds, VOC) による室内空気汚染が世界的に注目されてきている。本論文においては, VOC の定義, 室内発生源, ヒトに対する影響, ガイドラインおよび室内汚染の現状等について内外の文献を参考に紹介した。

**Keywords:** sick building syndrome (SBS), volatile organic compounds (VOC), indoor air pollution

\* リコー(株)

木嶋敬二: 化粧品分析の現状

日本化粧品科学会誌, 18, 77 (1994)

化粧品分析の現状について, 前処理法, マイクロコンピュータを用いた化粧品の組成分析を始め, 化粧品品質基準などで配合が制限されている成分の分析法を解説した。

**Keywords:** cosmetic analysis, quasi-drugs, advancement

西村哲治, 神野透人, 埴岡伸光, 安藤正典: 簡易毒性試験と個体毒性

アニテックス, 7, 16~21 (1995)

肝臓の簡易代替毒性試験として, ラット初代培養肝細胞を用いた方法を紹介し, 長所と今後解決しなければならぬ問題点を明らかにした。急性毒性に

関しては、アオコが産生する肝臓毒素として知られているマイクロキスチンの作用を、細胞内のグリコーゲン量の変化で見た。この方法により、短時間で個体レベルの反応と良く対応した結果が得られることを示した。また、この系では肝培養細胞が個体として持つ肝実質細胞の性質を維持していることが示唆された。代謝酵素誘導に関しては、マトリゲルを細胞培養基質として用いることにより、チトクロームP450 (P450) の分子種の中で、フェノバルビタールトメチルコラントレンで誘導のかかる分子種の維持および誘導効果が上がった。この系を用いて、P450 の誘導活性を指標として、環境汚染物質の安全性評価ができる可能性を示した。しかし、塩素化合物を代謝すると考えられている分子種は速やかに誘導活性も活性自身も低下し、塩素消毒副生成物等の安全性を評価するには不十分であり、今後改良をしていかねばならない点である。

**Keywords:** primary cultured hepatocyte, cytochrom P450, risk assessment

豊田正武：**バイオ食品に関する日本の研究の現状について**

*FFI* ジャーナル, 162, 4~9 (1994)

平成3年に厚生省の研究班が行ったバイオ食品に関するアンケート調査の結果について概説した。すなわちバイオテクノロジー応用への取り組みについて、バイオ技術応用食品についての研究・開発の現状、バイオ技術応用食品等の開発に用いられる宿主・遺伝子等について、その他バイオリクター・組織培養・細胞融合についてまとめた。

**Keywords:** biotechnology, new foods, substantial equivalence

石綿 肇：**国際環境における輸入食品の安全確保について**

医療食, 18, 21~24 (1995)

わが国における食糧供給のおよそ半分は輸入に依存している。このような食糧事情下における食品の安全性の確保について述べた。すなわち、食品の輸入状況、輸入食品特有の衛生問題、違反事例などについて解説し、安全性確保の方法と今後の対策について考察した。

**Keywords:** imported food, inspection, food safety

河村葉子：**照射食品の検知法に関する共同研究計画—最終会議報告—**

食品照射, 29, 31~33 (1994)

FAO/IAEA 主催による“照射食品の検知法に関する共同研究計画”の最終会議と“International Meeting on Analytical Detection Methods for Irradiation Treatment of Foods”が1994年6月英国のベルファストで開催された。International Meetingにおける研究発表のうち、ESR法、熱発光法、インピーダンス法、DEFT/APC法、half-embryo法、揮発性炭化水素法、シクロブタノン法、

DNA法等について概要を述べ、また最終会議における各種検知法に対する評価の一部を紹介した。

**Keywords:** gamma-irradiated food, identification test

福原 潔, 宮田直樹：**アニオンラジカルによる活性酸素の生成**

放射線科学, 38, 161~165 (1995)

生活環境中には多くの非変異原性発がん物質が存在し、これらの化学物質による毒性発現には活性酸素が関与すると考えられている。活性酸素の一つスーパーオキシドは、キノン系化合物等のアニオンラジカルによる酸素分子の一電子還元反応によって生成する。スーパーオキシドは、さらにヒドロキシルラジカルや過酸化水素等に還元され生体系に作用する。今まで、アニオンラジカルによるスーパーオキシドの生成、すなわち、アニオンラジカルから酸素への電子移動は、パルス放射線分解法 (パルスラジオリシス法) やフラッシュ光反応法 (フラッシュフォトリシス法) を用いて解析されてきた。著者らは、アニオンラジカルによるスーパーオキシドの生成が、電気化学的手法を用いることにより、簡便にかつ直接的な方法で解析できることを見いだした。

**Keywords:** anion radical, superoxide, electron transfer

熊谷 進\*1, 三瀬勝利：**第8回有毒微生物国際シンポジウム**

モダンメディア, 41(4), 143~150 (1995)

1994年11月、米国ベオリア市で行われた国際シンポジウム“Molecular approaches to safety issues involving toxic microorganisms”で発表されたトピックスのうちオクラトキシン、フモニシン、食中毒のサブタイピング、ボツリヌス毒素、RAPDファンガープリンティングなど主要な講演の内容を紹介した。

**Keywords:** food-poisoning, botulinum toxin, mycotoxin

\*1 国立予防衛生研究所

三瀬勝利, 真鍋勝\*1, 芦田勝朗\*2, 高鳥浩介, 熊谷進\*3, 光岡俊成\*4 **UJNR 有毒微生物専門部会第8回有毒微生物国際シンポジウムおよび第29回日米合同部会の概要,**

食品衛生研究, 45(5), 17~53 (1995)

UJNR 有毒微生物部会の第29会合同部会の内容と国際シンポジウムで発表された各演題についてその要旨を紹介した。

**Keywords:** food-poisoning, bacterial toxin, mycotoxin

\*1 農林水産省食品総合研究所

\*2 水産庁中央水産研究所

\*3 国立予防衛生研究所

\*4 厚生省生活衛生局乳肉衛生課

小沼博隆, 品川邦汎\*1：**卵の加工・流通段階にお**

**けるサルモネラの動態とその制御**

モダンメディア, 40, 315~328 (1994)

卵および卵加工品を原因食品とするサルモネラエンテリティディス (SE) 食中毒の防止を目的とした一連の調査研究の中から、特に卵の加工・流通段階におけるサルモネラの動態とその制御方法について解説した。主な項目は、①殻付卵のサルモネラ汚染状況ならびにその汚染経路、②鶏卵および液卵の流通経路、③GPセンター (Grading and Packaging Center) における卵の処理工程、④GPセンターでの卵処理工程別の細菌汚染と管理ポイント、⑤割卵工場における卵の処理方法、⑥割卵工場の処理工程別の細菌汚染と管理ポイント、⑦サルモネラの殻付卵内への侵入性と防止措置などである。

**Keywords** : *salmonella enteritidis*, liquid egg, penetration

\*1 岩手大学

**小沼博隆, 品川邦汎\*1 : GPセンターにおける殻付卵の微生物制御**

鶏病研究会報, 30, 79~86 (1994)

卵および卵加工品を原因食品とするサルモネラエンテリティディス (SE) 食中毒の防止を目的とした一連の調査研究の中から、特にGPセンターにおける殻付卵の微生物制御方法について解説した。主な項目は、①殻付卵のサルモネラ汚染状況ならびにその汚染経路の実態、②鶏卵および液卵の流通経路、③GPセンター (Grading and Packaging Center) における卵処理工程の実態、④GPセンターでの卵処理工程別の細菌汚染と管理ポイント、⑤サルモネラの殻付卵内への侵入性と防止措置などである。

**Keywords** : *salmonella enteritidis*, plate count, coliform

\*1 岩手大学

**高鳥浩介, 一戸正勝\* : 主要病原真菌の分離同定 接合菌類と *Fusarium***

臨床と微生物, 21, 559~565 (1994)

病原真菌のなかで接合菌類および *Fusarium* による感染症の多くは、続発的経過をたどり、宿主の生体機能低下が原因とされる。接合菌類のケカビ目である *Mucor*, *Absidia*, *Rhizomucor*, *Rhizopus* などがある。その主要真菌であり、人間の生活環境中で普遍的な分布をとり、その生態は十分把握されている。また不完全菌類の *Fusarium* は、土壌生息菌の代表であり、腐生性または植物寄生性を示し、続発性 (日和見) 真菌症の原因となる。その分布も自然界に広く普遍的であることが知られている。本稿では、接合菌類および *Fusarium* のうちで感染症の原因となった主要菌種について、その分離・同定および菌学的性状をまとめた。

**Keywords** : pathogenic fungi, zygomycetes, *fusarium*

\* 東京家政大学

高鳥浩介, 太田利子\*1, 李 憲俊\*2, 秋山一男\*3,

**信太隆夫\*3 : アレルギー関連真菌**

真菌誌, 35, 409~414 (1994)

住環境には数多くの真菌が分布しており、これら真菌がアレルギーンとして重視されつつある。筆者らは、生活環境中にみる真菌の生態分布について、さまざまな角度から検討してきた。ここでは、生活環境と真菌との関わりで重要な空中 (屋内, 屋外), ハウスダスト, 空調機フィルター, 室内真菌汚染環境に焦点をあて、それぞれの因子にみる主要真菌をまとめた。共通して分布する真菌として、*Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* があり、これら真菌以外での分布は、各環境、基質に強く依存することから、住環境中での真菌分布を作成し、アレルギーンとしての真菌を紹介した。

**Keywords** : living environment, airborne fungi, housedust fungi

\*1 相模女子大

\*2 助食品薬品安全センター

\*3 国立相模原病院

**高鳥浩介 : 屋内環境アレルギーン真菌アレルギーン 遺伝, 48, 16~20 (1994)**

屋内環境にみるアレルギーンの一つとして真菌があり、その屋内環境での分布、生態を筆者らの研究成果を中心にまとめてみた。また、真菌が屋内環境で分布し、発生する要因として温度、湿度、酸素 (空気), 養分などを取りあげ、発生とのかかわりをまとめ、主要真菌であるクロカビ (*Cladosporium*) など数種について、そのプロフィールを紹介した。

真菌による危害はアレルギーンの一要因として重視されているが、しかしながら未だアレルギーン物質について未解明の部分が大きく、今後の研究が期待される。いずれにせよヒトの生活する屋内環境には多種多様な真菌が分布しており、これがアレルギーンとして認識される限りその防御対策は重要であり、屋内環境からの真菌防御について基本的対策をまとめた。

**Keywords** : fungal allergen, indoor environment, adverse health

**大野泰雄 : [1] 新薬の評価-基礎的側面-1. トキシコキネティクス導入とその意義**

新薬と評価, 第100回日本医学会シンポジウム記録集, 10~16 (1994)

ICHでトキシコキネティクスに関するガイダンスが合意されたことに関連して、医薬品の毒性試験における被験物質曝露を明確化するという意味でのトキシコキネティクスを導入することの毒性学的意義について解説した。

**Keywords** : toxicokinetics, drug evaluation

**栗津莊司\*1, 大野泰雄, 塩田浩平\*2, 馬屋原浩\*3, 松木容彦\*4 : トキシコキネティクスハーモナイゼーション。-ICHガイドライン**

ファルマシア, 30(6), 587~592 (1994)

医薬品の毒性試験におけるトキシコキネティクスの意義と目的, サンプリング, 実施上の問題点, 臨



床試験との関わり等について考察した。

**Keywords:** toxicokinetics, drug evaluation

- \*1 東京薬科大学
- \*2 京都大学医学部
- \*3 武田薬品工業(株)研究開発本部
- \*4 財食品薬品安全センター-化学部

**井上和秀: 新しい中枢性神経伝達物質: ATP (アデノシン3リン酸)**

生体の科学, 45, 296~303 (1994)

ATPが神経伝達物質として考えられてからこの方までの研究の歴史を概観し、その後ごく最近のホットな話題として、中枢神経系におけるATPの生理機能を示唆する報告を紹介した。特に、ATPと記憶・学習の関係、グルタミン酸との関係、亜鉛イオンによる制御のことなど、なぜATPの作用が注目になるのかを平易に解説した。

**Keywords:** ATP, neurotransmitter, hippocampus

**井上和秀: ATP**

化学, 50, 31~32 (1995)

これからの脳研究のキーワード物質の一つとして、ATPが取り上げられたので、これについての有機化学者を対象とした簡単な総説をまとめた。ATPの化学構造式、薬理作用、生理作用について説明し、これからなぜATP研究をしなければならないか、そしてそのためには何が不足している、どのようなことが必要であるかについて述べた。

**Keywords:** ATP, neurotransmitter, receptor

**津田充有: 体内一酸化窒素産生とニトロソ化合物生成**

化学と工業, 48(5), 607~609 (1995)

一酸化窒素(NO)は、従来、大気汚染の原因物質として極めて評判が悪い化学物質として知られてきた。一方、最近では、このNOが生体内でもL-アルギニンを基質とする酵素反応により産生されており、循環器系、免疫系、さらには神経系においても重要な役割を担っていることが明らかにされてきた。また気体分子であるという点で極めてユニークな細胞間情報伝達物質であることが示されている。細菌や寄生虫などの感染に対する生体防御応答として白血球(好中球)やマクロファージ(Mφ)が食菌作用や貪食能を示す。大腸菌等の細胞膜成分であるLPSの刺激により、Mφの活性化に伴ってNO合成酵素の誘導が起こり、大量のNOが生体内生成する。これは、細菌等の異物侵入に対する生体防御のための化学的手段の供給である反面、体内での発がん性ニトロソ化合物生成という観点からは、新たな可能性を示している。体内産生NOの両刃の剣の影の面として、発がんとの係わりを論じた。

**Keywords:** nitric oxide, N-nitroso compounds, macrophages

中澤憲一, 小泉修一, 井上和秀: 神経伝達物質としてのATP-エネルギー通貨の中枢神経系にお

**る新しい可能性**

日本神経精神薬理学雑誌, 15, 1~11 (1995)

最近の実験成果をもとに中枢神経系における細胞外ATPの役割について考察した。ラット培養海馬細胞においてATPはシナプス後電流を誘発し細胞内カルシウム濃度を上昇させる。ATPの興奮性作用はシナプス前細胞からの神経伝達物質遊離だけではなく、シナプス後細胞への直接的な働きにも起因すると考えられる。また、ATPは一過性の反応だけではなく長期増強(LTP)様作用をも惹起する。これらの作用を媒介するATP受容体はイオン・チャンネル連関型とGTP結合タンパク質連関型に区分される。少なくとも海馬細胞には後者が存在しており、カリウム・チャンネル抑制を引き起こし、興奮性を増大させると考えられる。チャンネル連関型受容体は海馬では未確認であるが、孤東核、青斑では報告されている。

**Keywords:** ATP, neurotransmitter, central nervous system

**高橋道人: 特集・毒性病理学-医薬品開発における役割と意義**

生命の科学・中山書店, 3(4), 8~9 (1994)

毒性試験において検出できるパラメータには多くのものがあるが、病理学的検索では多数の臓器、組織で発現するさまざまな変化、すなわち、膨大な数の組織変化(パラメータ)を、質的、量的に一度に評価することができる。病理学的評価においては、発現した組織変化が修復性のものか否か、さらに組織障害がどのような修飾を受けるかについても十分な情報を提供してくれる。医薬品開発段階における病理検査担当者に課せられた使命はこのような多岐にわたるパラメータを適切に評価することであり、豊かな経験と博識を兼ね備えた毒性病理学者に委ねられている。

**Keywords:** toxicologic pathology, pharmaceuticals, preclinical study

**川西 徹: 細胞内カルシウムの動的観測**

O plus E, 180, 83~91 (1994)

カルシウムイオンは細胞内で様々な細胞機能を調節していることが明らかになるに従い、細胞内カルシウムイオン濃度を測定する様々な方法が開発されてきた。その中で現在最も普及している方法は蛍光プローブを用いた方法である。これら蛍光プローブの多くはカルシウムイオンのキレート剤であるEGTA類似の構造をカルシウムイオン結合部位の基本骨格としてもつものであるが、現在までに目的に応じて各種のプローブが開発されている。また測定装置の点でも、蛍光光度計から蛍光顕微鏡に発展し、さらに共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡も使われるようになってきた。その他、カルシウムイオン濃度測定法の今後の発展予測等について記した。

**Keywords:** calcium, fluorescence probe, optical microscopy

Hayashi, M. and Sofuni, T.: **The need for three dose levels to detect genotoxic chemicals in *in vivo* rodent assays**

*Mutat. Res.*, **327**, 247~251 (1995)

げっ歯類を用いる小核試験等 *in vivo* 試験系において、最近欧米では最大耐量のみでの試験で充分である、とする主張がなされている。そこでわれわれは、1用量では不十分であり3用量段階試験する必要があることを、これまでに報告された実例、および統計学的考察により示した。

**Keywords**: three dose levels, genotoxicity, *in vivo* rodent assays

林 真, 鈴木孝昌, 祖父尼俊雄: **遺伝子突然変異と小核誘発の同時検出系**

*Environ. Mut. Res. Commun.*, **16**, 67~77 (1994)

トランスジェニックマウスという全く新しい試験法が生まれ、変異原研究の分野に新たな領域が開かれた。優れた試験法であるにもかかわらず、その浸透度がやや遅かったのは、手間と費用がかかるといった現実的な障壁が関与していたと思われる。Positive selection 法の導入により、いっそうの普及が期待される。さらに、末梢血を用いる小核試験との組み合わせにより、*in vivo* における遺伝毒性評価の確立が期待される。

**Keywords**: *in vivo* gene mutation, micronucleus test, transgenic mouse

須藤鎮世<sup>\*1</sup>, 林 真, 島田弘康<sup>\*2</sup>: **げっ歯類の赤血球を用いる *in vivo* 小核試験**

*Environ. Mut. Res. Commun.*, **16**, 165~171 (1994)

1993年2月27日~28日にメルボルンで行われた変異原性試験法の国際ワークショップのうち、*in vivo* 小核試験に関する討論の記録である。各国、各機構等のガイドラインが比較され、今後小核試験を実施する場合の指針が検討された。

**Keywords**: micronucleus test, rodent erythrocytes, international harmonization

<sup>\*1</sup> 伊藤ハム(株)

<sup>\*2</sup> 第一製薬(株)

Hayashi, M., Tice, R. R.<sup>\*1</sup>, MacGregor, J. T.<sup>\*2</sup>, Anderson, D.<sup>\*3</sup>, Blakey, D. H.<sup>\*4</sup>, Kirsh-Volders, M.<sup>\*5</sup>, Oleson, F. B. Jr.<sup>\*6</sup>, Pacchierotti, F.<sup>\*7</sup>, Romagna, F.<sup>\*8</sup>, Shimada, H.<sup>\*9</sup>, Sutou, S.<sup>\*10</sup> and Vannier, B.<sup>\*11</sup>: ***In vivo* rodent erythrocyte micronucleus assay**

*Mutat. Res.*, **312**, 293~304 (1994)

1993年2月27日~28日にメルボルンで行われた変異原性試験法の国際ワークショップのうち、*in vivo* 小核試験に関する討論の最終報告書である。各国、各機構等のガイドラインの比較、ワークショップでの議論、その後の文書のやりとりの集大成。今後小核試験を実施する場合の指針となる。

**Keywords**: micronucleus test, rodent erythro-

cytes, international harmonization

<sup>\*1</sup> Integrated Laboratory System

<sup>\*2</sup> SRI International

<sup>\*3</sup> BIBRA Toxicology International

<sup>\*4</sup> EHC, Tunney's Pasture

<sup>\*5</sup> Free University of Brussels

<sup>\*6</sup> BIOGEN

<sup>\*7</sup> ENEA CRE Casaccia

<sup>\*8</sup> Sandoz Pharma Ltd.

<sup>\*9</sup> 第一製薬(株)

<sup>\*10</sup> 伊藤ハム(株)

<sup>\*11</sup> Roussel Uclaf

Kirkland, D. J.<sup>\*1</sup>, Galloway, S. M.<sup>\*2</sup> and Sofuni, T.: **Summary of major conclusion**

*Mutat. Res.*, **312**, 205~209 (1994)

1993年2月27日~28日にメルボルンで行われた変異原性試験法の国際ワークショップの主な結論をまとめたものである。

**Keywords**: genotoxicity tests, international harmonization

<sup>\*1</sup> Hazleton Europe

<sup>\*2</sup> Merck Research Laboratories

Galloway, S. M.<sup>\*1</sup>, Aardema, M. J.<sup>\*2</sup>, Ishidate, M., Jr.<sup>\*3</sup>, Ivett, J. L.<sup>\*4</sup>, Kirkland, D. J.<sup>\*5</sup>, Morita, T.<sup>\*6</sup>, Mosesso, P.<sup>\*7</sup> and Sofuni, T.: **Report from working group on *in vitro* tests for chromosomal aberrations**

*Mutat. Res.*, **312**, 241~261 (1994)

1993年2月27日~28日にメルボルンで行われた変異原性試験法の国際ワークショップのうち、*in vitro* 染色体異常試験に関する討論の最終報告書である。各国、各機構等のガイドラインの比較、ワークショップでの議論、その後の文書のやりとりの集大成。今後 *in vitro* 染色体異常試験を実施する場合の指針となる。

**Keywords**: *in vitro* chromosomal aberration, international harmonization

<sup>\*1</sup> Merck Research Laboratories

<sup>\*2</sup> The Procter and Gamble Co.

<sup>\*3</sup> Olympus Optical Co., Ltd.

<sup>\*4</sup> G. D. Searle and Co.

<sup>\*5</sup> Hazleton Microtest

<sup>\*6</sup> 日本グラクソ(株)

<sup>\*7</sup> University La Tuscia

Tice, R. R.<sup>\*1</sup>, Hayashi, M., MacGregor, J. T.<sup>\*2</sup>, Anderson, D.<sup>\*3</sup>, Blakey, D.H.<sup>\*4</sup>, Kirsh-Volders, M.<sup>\*5</sup>, Oleson, F. B. Jr.<sup>\*6</sup>, Pacchierotti, F.<sup>\*7</sup>, Romagna, F.<sup>\*8</sup>, Shimada, H.<sup>\*9</sup>, Sutou, S.<sup>\*10</sup> and Vannier, B.<sup>\*11</sup>: **Report from the working group on the *in vivo* mammalian bone marrow chromosomal aberration test**

*Mutat. Res.*, **312**, 305~312 (1994)

1993年2月27日~28日にメルボルンで行われた変異原性試験法の国際ワークショップのうち、げっ

歯類の骨髄細胞を用いる染色体異常試験に関する討論の最終報告書である。各国、各機構等のガイドラインの比較、ワークショップでの議論がまとめられている。今後 *in vivo* の染色体異常試験を実施する場合の指針となる。

**Keywords** : chromosomal aberration, bone marrow, international harmonization

- \*1 Integrated Laboratory System
- \*2 SRI International
- \*3 BIBRA Toxicology International
- \*4 EHC, Tunney's Pasture
- \*5 Free University of Brussels
- \*6 BIOGEN
- \*7 ENEA CRE Casaccia
- \*8 Sandoz Pharma Ltd.
- \*9 第一製薬株
- \*10 伊藤ハム株
- \*11 Roussel Uclaf

Suzuki, T., Hayashi, M. and Sofuni, T.: **Initial experiences and future directions for transgenic mouse mutation assays**

*Mutat. Res.*, **307**, 489~494 (1994)

我々は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法を組み合わせたことにより、同一個体において遺伝子突然変異と染色体異常誘発性の両指標を同時に検出可能な試験法を確立した。この方法を用いて代表的な変異原物質である mitomycin C (MMC), ethyl nitrosourea (ENU), ethyl methanesulfonate (EMS), diethyl-nitrosamine (DEN) の *in vivo* での変異原活性の特性について検討した。トランスジェニックマウスとしては、大腸菌の *lacZ* 遺伝子を標的として導入した Muta™ Mouse を用いたが、まず末梢血小核試験においては、DEN 以外の化合物では強い陽性結果が得られた。一方、*lacZ* 遺伝子の変異頻度については、骨髄と肝臓において検討を行った結果、まず ENU, EMS では骨髄において強い変異頻度の上昇がみられたが、肝臓での変化は小さかった。逆に DEN 処理では肝臓でのみ変異頻度の上昇が見られ、発がん標的臓器と一致する明らかな臓器特異性を示した。MMC については連続投与時の骨髄でのみわずかな上昇がみられるにとどまり、染色体異常を優先的に誘発することが明らかとなった。

トランスジェニックマウスを用いた変異原試験法は、*in vivo* における遺伝子突然変異を臓器毎に解析可能なたいへん有用性の高い試験法であるが、変異体を最終的に生成させたプラークの色の変化として検出するため非常に手間のかかるという問題点があった。今後この試験法の普及のためには、変異体のみを選別する positive selection 法の積極的な導入が重要である。

**Keywords** : transgenic mouse, *lacZ* mutation, micronucleus test

Clive D.\*1, Bolcsfoldi, G.\*2, Clements, J.\*3, Cole, J.\*4, Honma, M., Majeska, J.\*5, Moore M.\*6,

Muller, L.\*7, Myhr, B.\*8, Oberly, T.\*9, Oudelhkim, M. C.\*10, Rudd, C.\*11, Shimada, H.\*12, Sofuni, T., Thyband, V.\*10 and Wilcox, P.\*13: **Consensus agreement regarding protocol issues discussed during the mouse lymphoma workshop: Portland, Oregon, May 7, 1994**

*Environ. Mol. Mutagen.*, **25**, 165~168 (1995)

*In vitro* 遺伝子突然変異試験の一つであるマウスリンファーマ試験の実地にあたり国際間でそのプロトコルや判定法の統一について話し合いがもたれた。本方法には軟寒天法とマイクロウェル法の2種類があるが、両方法とも国際的試験法として認められた。また、処理方法、処理時間、毒性の評価、試験成立の条件等についてコンセンサスが得られた。**Keywords** : mouse lymphoma assay (MLA), protocol for MLA

- \*1 Burroughs Wellcome Co.
- \*2 Astra
- \*3 Hazeleton Microtest
- \*4 Medical Research Council
- \*5 Boehringer Ingelheim
- \*6 EPA
- \*7 FIDMD
- \*8 Hazleton
- \*9 Eli Lilly
- \*10 Rhone Poulenc
- \*11 SRI International
- \*12 第一製薬
- \*13 Glaxo Research, UK

増井 徹: **正常ヒト上皮細胞の増殖停止機構**  
呼吸, **13**, 933~937 (1994)

正常ヒト上皮細胞の増殖と分化の調節機構を研究することは、上皮の病変形成の研究に不可欠である。しかし、技術的な問題もあり、その研究は他の部門の研究に比べて遅れている。本稿において我々は、正常ヒト上皮細胞の増殖・分化の調節を研究するために多様な実験系について論ずる。特に、細胞の増殖が細胞間相互作用によって調節されている可能性を考えると、従来の低カルシウム培地から脱却することが必要である。我々が開発した outgrowth 培養法の特徴を述べる。この培養系を用いることによって正常ヒト上皮細胞の増殖分化研究が分子生物学的に可能になった。その一例として、我々が行っている増殖停止機構の分子機構の研究について述べる。

**Keywords** : epithelial cells, growth, differentiation

林 祐造, 祖父尼俊雄: **化学物質の発癌性評価における変異原性試験の役割—その現状と将来展望—**  
*The Journal of Toxicological Sciences*, **19**, 103~110 (1994)

医薬品、農薬、食品添加物等の化学物質のヒトに対する発癌リスクを予測するために実験動物による長期発癌試験と微生物、培養細胞等を用いた短期変異原性試験が現在実施されている。変異原性試験は

細胞の癌性変化が発ガン遺伝子の活性化あるいは癌抑制遺伝子の不活化を中心とした遺伝子の変化によるものであるとする分子生物学的理論に基づいている。実際、発癌性と変異原性には大きな相関が認められる。現在まで数多くの変異原性試験法が開発され実施されているが発癌性物質検索のスクリーニングと化学物質の発癌リスクを評価するためにはどのような試験法の組み合わせ (battery) がよいのが国際的な検討課題となっている。

**Keywords** : carcinogenicity, mutagenicity

四方田千佳子, 岡田敏史: 高分子多糖系製剤材料のキャラクタリゼーション I. キトサンの製剤材料特性

製剤と機械, 185(6), 6~11 (1994)

キチンの脱アセチル化物であるキトサンは、大きなバイオマス資源であることから各種分野での有効利用が試みられている。キトサンの基礎特性を概説し、最近の製剤分野での応用研究を紹介した。

**Keywords** : chitosan, characterization, biomedical polymer

四方田千佳子, 岡田敏史: 高分子多糖系新製剤材料のキャラクタリゼーション II. ヒアルロン酸の製剤材料としての特性

製剤と機械, 191(12), 6~8 (1994)

ヒアルロン酸は生体内多糖であるための生体適合性、生体内分解性を有し、高純度品が微生物発酵により大量供給されるようになってきたため、医用素材としての利用がめざされている。しかし、その特異的な性質については不明な点が多く解明が望まれている。そこで、明らかとなっている高分子電解質特性、粘弾性、水和挙動等について概説した。

**Keywords** : hyaluronate, characterization

四方田千佳子, 岡田敏史: 高分子多糖系新製剤材料のキャラクタリゼーション II. ヒアルロン酸の製剤分野における応用研究

製剤と機械, 193(7), 8~9 (1996)

ヒアルロン酸の最近の医薬品分野への応用研究について概説し、ヒアルロン酸の特性との関連を考察した。

**Keywords** : hyaluronate, biomedical polymer

小松裕明, 岡田敏史: 静注用脂肪乳剤の製剤評価 I—動的分散法による粒子径測定—

製剤と機械, 195(4), 13~15 (1995)

米国薬局方 (USP) の静注用脂肪乳剤の規定案が公表されているが、この中で静注用脂肪乳剤の粒子径測定条件・方法、解析法および粒子径規格が案が示されている。ここでは、この規格案で粒子径測定

法の1つとして取り上げられている動的分散法の原理や特徴について紹介し、分散系製剤に対する粒子径規格のあり方に関する考察を行った。また、現在市販されている静注用脂肪乳剤 (高カロリー輸液や脂肪乳剤を薬物担体とした製剤) にこの規格案を適用し、その評価を行った。

**Keywords** : emulsion, size, USP

小松裕明, 岡田敏史: 静注用脂肪乳剤の製剤評価 II—動的分散法による表面電位の評価—

製剤と機械, 195(5), 5~8 (1995)

動的分散法による微細粒子の表面電位の測定原理について紹介するとともに、分散系製剤の安定性評価への表面電位測定の実用性について触れた。また、市販されている静注用脂肪乳剤の表面電位やその測定方法の問題点、さらにその解決方法などについても紹介した。

**Keywords** : emulsion, zeta potential, stability

下村講一郎: 植物バイオテクノロジーによる薬用植物の増殖および物質生産の現状と展望

研究ジャーナル, 18, 35~46 (1995)

植物組織培養法による薬用植物の増殖および物質生産について報告例をあげて解説した。茎頂培養による薬用植物の大量増殖、有用物質生産に関しては、細胞培養、器官培養、毛状根培養について紹介した。

**Keywords** : medicinal plant, plant biotechnology

下村講一郎: 形質転換根の研究—薬用成分生産への応用

SCIENCE & TECHNOLOGY NEWS TSUKUBA No. 34, p. 31 (1995)

育種生理研究室においてこれまで研究してきた毛状根培養による物質生産について、トロパンアルカロイド、タンニン、シコニンを例として、また、緑色毛状根による地上部で合成される物質を根の形態で生産することについても解説をした。

**Keywords** : *agrobacterium rhizogenes*, hairy root, medicinal constituents

野口 衛: 薬用植物の栽培法と利用法

雑誌「家の光」p. 234~235 (1995~95)

キキョウ ('94.2), ウイキョウ ('94.3), トウキ ('94.4), クコ ('94.6), ローズマリー ('94.7), ミシマサイコ ('94.8), ドクダミ ('94.9), アシタバ ('94.10), ウコン ('94.11), ハトムギ ('94.12), ペニバナ ('95.1), エビスグサ ('95.2), ゲンノショウコ ('95.3).

以上各号毎に各論的に栽培法、調製加工法および利用法について論述した。

**Keywords** : medicinal herb, cultivation

青柳伸男, 石橋無味雄, 内山 充, 岡田敏史, 小嶋茂雄, 佐竹元吉, 谷本 剛, 寺尾允男, 早川堯夫, 米谷民雄, 三瀬勝利, 宮田直樹, 四方田千佳子, 他 89 名: “日本薬局方技術情報 1995”, 厚生省薬務局研究開発振興課監修, JPTI 編集委員会編集, 薬業時報社, 東京 (1995)

吉岡澄江: “医薬品の安定性”, 南江堂, 東京 (1995)

Hayakawa, T.: “**Framework for the Evaluation of Viral Safety: Biotechnological Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin**”, ICH Proceedings of The Second International Conference on Harmonisation Orlando 1993, ed. P. F. D'Arcy and D. W. G. Harron, Greystone Books Ltd., Northern Ireland (1994) pp. 133~135

Hayakawa, T.: “**Stability Testing of Biotechnological/Biological Products—A View from Japan—**”, ICH Proceedings of The Second International Conference on Harmonisation Orlando 1993, ed. P. F. D'Arcy and D. W. G. Harron, Greystone Books Ltd., Northern Ireland (1994) pp. 150~157

Hayakawa, T.: “**Evaluation of Viral Safety of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin**”, Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects, vol. 6, ed. T. Kobayashi et al., Kluwer Academic Publishers, Netherlands (1994) pp. 1~8

Hayashi, Y. and Matsuda, R.: “**Advances in Chromatography**”, Uncertainty Structure, Information Theory, and Optimization of Quantitative Analyses in Separation Science, ed. Brown, P. R. and Grushka, E., Vol. 34, Marcel Dekker, Inc., New York (1994) pp. 347~423

Shintani, H.: “**Analytical applications of immobilized enzyme reactors**”, Uremic toxin analysis with pre- and post-column immobilized enzyme reactors, Eds, S. Lam and G. Malikin, Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK (1994) pp. 131~173

高仲 正, 関沢 純: “**総合食品安全事典, 第 8 章, 生体異物の安全性評価**”, 粟飯原景昭, 内山 充, 田村真八郎, 藤巻正生監修, 産業調査会事典出版センター, 東京 (1994) pp. 1129~1179

Sekizawa, J., Yang, X. and Ohtake, C.: “**Hazardous Waste and Public Health: International**

**Congress on the Health Effects of Hazardous Waste: Development and use of a criteria document database for risk assessment of chemicals**”, eds. Andrews, J. S., Frumkin, H., Johnson, B. L., Mehlman, M. A., Xintaras, C. and Bucsel, J. A., Princeton Scientific Publishing Inc., New Jersey (1994) pp. 872~878

横手規子, 山本 都翻訳: “**国際化学物質安全性カード (ICSC) コンパイラズガイド日本語版**”, 国立衛生試験所化学物質情報部監修, 化学工業日報社, 東京 (1994)

大竹千代子, 山本 都, 横手規子, 杉田たき子, 山本美智子, 武井玲子, 後藤京子, 猪俣芳栄: “**生活と科学 化学物質の安全性を考える**”, 開成出版, 東京 (1995)

山本 都: “**国内外における製品安全データシート作成実務ガイド**”, MSDS 作成実務ガイド企画委員会編, 日本能率協会マネジメントセンター, 東京 (1995) pp. 35~48

Kurokawa, Y.: “**Regulatory Views on How The Guidelines on Impurities in New Drug Substances Will Help The Review Process, Proceedings of The Second International Conference on Harmonization Orlando 1993**”, eds, D'Arcy, P. F. and Harron, D. W. G., Queen's University of Belfast (1994) pp. 175~178

降矢 強: “**バイオメディカルリサーチマニュアル—動物実験法—**”, 安藤隆一郎, 降矢 強編, 養賢堂, 東京 (1994) pp. 81~118, pp. 135~151

高橋道人, 三森国敏, 古川文夫, 井上 実, 松井元: “**精巢毒性評価のための精細管アトラス—ラット, マウス, イヌ—**”, ソフトサイエンス社, 東京 (1994)

Mitsumori, K. and Elwell, M. R.: “**Monographs on Pathology of Tumours of the mouse. Second Edition**”, Tumours of the male accessory sex gland, ed, Turusov, V., IARC Scientific Publication No. 111 IARC, Lyon (1994) pp. 431~450

高橋道人監訳, 国立衛生試験所病理部訳: “**げっ歯類腫瘍の国際分類 (I) ラット呼吸器**”, ソフトサイエンス社, 東京 (1994)

伊東信行編著, 高橋道人, 三森国敏, 西川秋佳, 川西 徹, 小野寺博志, 古川文夫, 安原加寿雄, 今沢孝喜, 豊田和弘, 畝山智香子他: “**最新 毒性病理学**”, 中山書店, 東京 (1994)

Takahasi, M.: "Scientific approach to duration of human use and study requirements". Proceedings of The Second International Conference on Harmonisation Orlando 1993 (1994) pp. 284~285

Hayashi, M. and Sofuni, T.: "Chromosomal alterations—Origin and significance", The micronucleus assay with rodent peripheral blood and acridine orange supravital staining, ed., Obe, G. and Natarajan, A. T., Springer-Verlag, Berlin (1994) pp. 203~213

Sofuni, T.: "Proceedings of the second international conference on harmonisation, Orlando 1993", Harmonisation of genotoxicity testing requirements, ed., D'Arcy, P. F. and Harron, D. W. G., W. & G. Baird Ltd., Northern Ireland (1994) pp. 224~226

Hayashi, M.: "Proceedings of the second international conference on harmonisation, Orlando 1993", Acceptability of in vivo MN and CA tests, ed., D'Arcy, P. F. and Harron, D. W. G., W. & G. Baird Ltd., Northern Ireland (1994) pp. 232~237

Hayashi, M.: "Proceedings of the second international conference on harmonisation, Orlando 1993", The use of both sexes in the MN test, ed., D'Arcy, P. F. and Harron, D. W. G., W. & G. Baird Ltd., Northern Ireland (1994) pp. 252~254

Shinagawa, H., Makino, K., Yamada, M., Amemura, M., Sato, T. and Nakata, A.: "Signal transduction in the phosphate regulon of *Escherichia coli*: dual functions of PhoR as a protein kinase and a protein phosphatase", Phosphate in microorganisms: cellular and molecular biology, ed, Torriani-Gorini, A., Yagil, E. and Silver, S., American Society for Microbiology,

Washington (1994) pp. 285~289

本間正充, 祖父尼俊雄: "動物実験代替法マニュアル", DNA フィンガープリント法, 大野忠夫編著, 共立出版, 東京 (1994) pp. 112~122

増井 徹: "実験医学別冊「分子生物学研究者のための培養細胞実験法」", 培地の選択, 黒木登志男, 許南浩, 千田和広編集, 羊土社, 東京 (1995) pp. 24~30

Hamada, Y., Nishimura, C., Kitoh, R., Koh, N., Sakakibara, F., Nakamura, J., Tanimoto, T., Hotta, N. and Sakamoto, N.: "Pathogenesis and Treatment of NIDDM and its Related Problems", New efficient assay for aldose reductase activity, ed, Sakamoto, N., Alberti, K. G. M. M. and Hotta, N., Elsevier Science B. V., Amsterdam, Netherlands (1994) pp. 197~200

弓岡栄三郎, 永井吉澄, 高石清和, 畠山好雄, 和泉正一郎, 柴田俊郎, 水野忠志: "青海省青藏高原中薬の旅", 発行人, 永井吉澄, 京都 (1995)

田中俊弘, 香月茂樹, 酒井英二, 渡辺高志, 張 貴君, 田中 齊, 菅谷愛子, 近藤繁子, 戸谷佳子, 日比昌子, 長谷川裕子, 関口恵子: "日本薬草全書", 水野瑞夫監修, 田中俊弘編集, 新日本法規出版, 東京 (1995)

Yoshimatsu, K., Sawada, J., Jaziri, M. and Shimomura, K.: "Studies in Natural Products Chemistry". Detection of cardenilodes by ELISA in plant sciences, Vol. 15, edited by A. Rahman, Elsevier Science B. V., The Netherland (1995) pp. 361~380

**日本薬局方の国際調和に関する研究**：石橋無味雄，岡田敏史

厚生科学研究（平成6年4月～平成7年3月），平成7年3月厚生省薬務局研究開発振興課に報告。

**一般医薬品の品質試験法に関する研究**：真弓忠範\*<sup>1</sup>，石橋無味雄，四方田千佳子，若上正蔵\*<sup>2</sup>，若佐曜\*<sup>3</sup>，大住優子\*<sup>4</sup>，東海則明\*<sup>5</sup>，二之宮昭夫\*<sup>6</sup>，林信一\*<sup>7</sup>，横田洋一\*<sup>8</sup>，吉田乗継\*<sup>9</sup>

厚生科学研究（平成6年4月～平成7年3月），平成7年5月厚生省薬務局審査課に報告。

\*<sup>1</sup> 大阪大学薬学部

\*<sup>2</sup> 大阪府公衆衛生研究所

\*<sup>3</sup> エスエス製薬㈱

\*<sup>4</sup> 奈良県薬事指導所

\*<sup>5</sup> 武田薬品工業㈱

\*<sup>6</sup> 三共㈱

\*<sup>7</sup> ロート製薬㈱

\*<sup>8</sup> 富山県薬事研究所

\*<sup>9</sup> 大正製薬㈱

**医薬品の迅速分析法**：最所和宏，石橋無味雄，小嶋茂雄

厚生省監視指導課迅速分析法作成費（昭和57年3月～），平成6年8月厚生省薬務局監視指導課に報告。

**不正医薬品の流通防止を目的とした「簡易分析法開発」に関する研究**：石橋無味雄，小嶋茂雄，最所和宏

国際厚生事業団研究費（平成5年4月～），平成7年3月国際厚生事業団（厚生省大臣官房国際課）に報告。

**熱帯病治療薬の開発研究**：石橋無味雄，最所和宏，小嶋茂雄

厚生科学研究費補助金新薬開発事業費（平成5年4月～），平成7年3月厚生省医薬品先端技術振興室に報告。

**医薬品に関わる指定検査試験機関の信用保証精度の確立に関する研究**：石橋無味雄

厚生省監視指導課信用保証制度確立費（平成5年4月～），平成6年11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6年4月～平成7年3月），平成6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7年3月），平成6

年4月厚生省薬務局麻薬課に報告。

**覚せい剤検体のデータベースに関する研究**：中原雄二，島峯望彦，高橋一徳，木倉瑠理  
委託研究（平成4年9月～平成7年3月），平成6年4月厚生省薬務局麻薬課に報告。

**体外診断用医薬品の臨床評価に関する研究**：大久保昭行\*<sup>1</sup>，大橋靖雄\*<sup>1</sup>，福岡正道，小林 哲，河合忠\*<sup>2</sup>，大倉久直\*<sup>3</sup>，瀬戸四朗\*<sup>4</sup>

厚生科学研究（平成6年4月～平成7年3月），平成7年3月厚生省薬務局審査課に報告。

\*<sup>1</sup> 東京大学医学部

\*<sup>2</sup> 自治医科大学

\*<sup>3</sup> 国立がんセンター中央病院

\*<sup>4</sup> (株)日本臨床検査薬協会

**高分子有機材料溶出物の毒性情報とリスク評価に関する研究**：中村晃忠，佐藤道夫

厚生科学研究（平成6年4月～平成7年3月），平成7年4月厚生省厚生科学課へ報告。

**国際性に配慮した医療用具基準の策定に関する研究**：中村晃忠，箭内博行\*

厚生科学研究（平成6年4月～平成9年3月），平成7年4月厚生省医療機器開発課へ報告。

\* (財)医療機器センター

**化学物質による健康リスク評価法に関する研究**：土屋利江，五十嵐良明，中村晃忠

厚生科学研究（平成5年4月～平成10年3月），平成7年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

**methyl-N-(2-benzimidazolyl)carbamate, N-1,3-dimethylbutyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine, 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone および 2-mercaptobenzimidazole の細胞毒性試験**：五十嵐良明，土屋利江

家庭用品等調査研究費（平成5年7月～平成6年6月），平成6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実態調査**：松村年郎，関田 寛，安藤正典

環境庁公害調査費（平成6年4月～平成7年3月），平成7年7月環境庁大気保全局自動車公害課へ報告。

**家庭用品に使用される化学物質の安全対策調査（トリス(2-クロロエチル)ホスフェートの毒性強度の体系的評価）**：松村年郎，関田 寛，安藤正典

家庭用品等試験検査費（平成6年11月～平成7年3月），平成7年4月厚生省生活衛生局企画課生活

化学安全対策室へ報告。

**化粧品原料規格作成に関する報告書**：木嶋敬二，安藤正典

厚生本省医薬品等審査業務庁費（平成6年4月～平成7年3月），平成7年3月厚生省薬務局審査課化粧品審査室に報告。

**化粧品原料成分の品質試験方法に関する研究**：木嶋敬二，鈴木助治\*<sup>1</sup>，中村 弘\*<sup>1</sup>，坂口 洋\*<sup>2</sup>，西島靖\*<sup>3</sup>

厚生科学研究（平成6年4月～平成7年3月），平成7年4月厚生省薬務局審査課化粧品審査室に報告。

\*<sup>1</sup> 東京都立衛生研究所

\*<sup>2</sup> 北里大学理学部

\*<sup>3</sup> 日本化粧品工業会技術委員会

**残留農薬簡易分析法の開発に関する研究**：根本 了，佐々木久美子，齋藤行生

食品等試験検査費（平成6年4月～平成7年3月）平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**保存検体中の残留農薬実態調査**：松田りえ子，佐々木久美子，齋藤行生

食品等試験検査費（平成6年4月～平成7年3月）平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**有機リン農薬の一斉分析法**：高附 巧，佐々木久美子，齋藤行生

食品等試験検査費（平成6年4月～平成7年3月）平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**エトフェンブロックスの分析法**：佐々木久美子，齋藤行生

食品等試験検査費（平成7年1月～平成7年3月）平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**アセフェートおよびメタミドホスの簡易分析法**：佐々木久美子，齋藤行生

食品等試験検査費（平成6年9月～平成7年3月）平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**輸入牛肉中のクロルフルアズロンの分析法**：佐々木久美子，齋藤行生

食品等試験検査費（平成6年11月）平成6年11月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

**輸入雑豆類のシアン配糖体に関する調査報告書**：村山三徳，鈴木 隆，齋藤行生

厚生科学研究（平成5年4月～平成6年3月），平成6年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

**輸入雑豆類のリナマリン含量に関する調査報告**：近藤一成，村山三徳，鈴木 隆，齋藤行生

食品等試験検査費（平成6年4月～平成6年12月），平成6年9月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

**ミネラルウォーター中の金属および硫化物の定量法概要**：近藤一成，村山三徳，鈴木 隆，齋藤行生  
食品等試験検査費（平成6年4月～平成6年12月），平成6年9月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

**ミネラルウォーター水質検査方法**：村山三徳，近藤一成，鈴木隆，齋藤行生

食品等試験検査費（平成6年4月～平成6年12月），平成6年12月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

**リナマリンに関する調査報告**：近藤一成，村山三徳，鈴木 隆，齋藤行生

食品等試験検査費（平成6年4月～平成7年3月），平成7年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

**オキシテトラサイクリンの残留実態調査および添加回収実験報告書**：村山三徳，齋藤行生

厚生科学研究（平成6年4月～平成7年3月），平成7年4月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

**必須アミノ酸等による健康影響に関する研究**：豊田正武

厚生科学研究費（平成6年4月～平成7年3月），平成7年4月厚生省食品保健課に報告。

**食品等の規格基準の設定等に係わる試験検査**：食品中のパツリンの分析：穂山 浩，豊田正武，齋藤行生

厚生科学研究（平成6年4月～平成7年3月），平成7年4月厚生省食品保健課に報告。

**食品中の食品添加物分析法の設定 分析法の改良**：山田 隆，石綿 肇，武田由比子，川崎洋子

食品添加物規格基準設定費（平成6年4月～平成7年3月），平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**プロピオン酸の食品添加物規格中の“易酸化物”および“アルデヒド類”の試験法について**：石綿 肇，武田由比子，山田 隆

平成6年度食品添加物規格基準設定費（平成6年4月～平成6年8月），平成6年8月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**食品添加物としての高度サラシ粉と亜塩素酸ナトリウムの分別定量法の検討**：武田由比子，石綿 肇，山田 隆

平成6年度食品添加物規格基準設定費（平成6年4月～平成6年8月），平成6年8月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**イズミダイ切身中の一酸化炭素の分析**：山田 隆，石綿 肇，武田由比子，川崎洋子，米谷民雄，佐藤恭子，坂元史歩，杉田たき子

特別行政試験（平成6年8月～平成6年9月），平成6年9月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。



**タイ国食品衛生強化プロジェクト (The Project for Strengthening of Food Sanitation Activities) における食品衛生および食品添加物分析の技術協力に関する活動**：石綿 肇  
国際協力事業団 (平成6年11月～平成7年2月)、国際協力事業団に報告。

**食品添加物としてのポリビニルポリピロリドンの規格に関する調査**：川崎洋子, 武田由比子, 石綿 肇, 山田 隆  
平成6年度食品添加物規格基準設定費 (平成6年4月～平成6年10月), 平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**市販鮮魚の一酸化炭素処理判定法の検討**：武田由比子, 川崎洋子, 石綿 肇, 山田 隆  
平成6年度食品添加物規格基準設定費 (平成6年8月～平成7年3月), 平成7年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**ポリソルベートのプレカラム法による高速液体クロマトグラフ分析法**：石綿 肇, 石橋 享<sup>\*1</sup>, 水野竹美<sup>\*1</sup>, 山田 隆, 渡辺芳則<sup>\*2</sup>, 細貝 猛<sup>\*2</sup>, 伊藤澄夫<sup>\*2</sup>, 桜井裕之<sup>\*2</sup>, 青木 岳<sup>\*2</sup>  
平成6年度厚生科学研究 (平成6年4月～平成7年3月), 平成7年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

<sup>\*1</sup> 日本医療食協会付属研究所・食品検査センター

<sup>\*2</sup> 横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター

**天然着色料アカネ色素中のモルジンの変異原性試験**：川崎洋子, 武田由比子, 石綿 肇, 山田 隆  
平成6年度食品添加物安全性再評価 1) 慢性毒性, 検体分析費 (平成6年10月～平成7年3月), 平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**天然添加物の規格基準の国際的整合性に関する研究**：山田 隆, 米谷民雄  
厚生科学研究 (平成4年4月～平成7年3月), 平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**食品中天然食品添加物分析法に関する研究**：米谷民雄, 合田幸広  
厚生科学研究 (平成5年4月～平成7年3月), 平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**ペニコウジ色素中不純物の分析法およびその慢性毒性試験用試料への応用**：坂元史歩, 佐藤恭子, 久保田浩樹, 合田幸広, 米谷民雄, 山田 隆  
食品添加物規格基準設定費 (平成6年4月～平成7年3月), 平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**化学的合成品以外の食品添加物の規格基準設定のための一般試験法について**：米谷民雄, 坂元史歩, 佐藤恭子, 久保田浩樹, 合田幸広, 山田 隆

食品添加物規格基準設定費 (平成6年4月～平成7年3月), 平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**木製器具中のホルムアルデヒドに関する研究**：山田隆, 河村葉子, 杉田たき子  
厚生科学研究 (平成6年4月～平成7年3月), 平成7年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

**ステンレス製品からの金属の溶出試験法に関する検討**：河村葉子, 杉田たき子, 山田 隆  
食品等の規格基準設定費 (平成6年4月～平成7年3月), 平成7年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

**ポリスチレン製品の溶出試験におけるオリーブ油中のスチレンおよびエチルベンゼンの分析**：河村葉子, 杉田たき子, 山田 隆  
食品添加物安全性再評価試験検査費 (平成6年4月～平成7年3月), 平成7年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**抗高脂血症薬市販後研究**：中村治雄<sup>\*1</sup>, 荒川規矩男<sup>\*2</sup>, 板倉弘重<sup>\*3</sup>, 衣非脩<sup>\*4</sup>, 北畠顕<sup>\*5</sup>, 後藤由夫<sup>\*6</sup>, 齋藤康<sup>\*7</sup>, 沢田純一, 椿広計<sup>\*8</sup>, 豊田隆謙<sup>\*9</sup>, 中谷矩章<sup>\*10</sup>, 西本昭二<sup>\*11</sup>, 松沢佑次<sup>\*12</sup>, 馬淵宏<sup>\*13</sup>, 村中正治<sup>\*14</sup>, 山本章<sup>\*15</sup>  
薬剤学的手法検討事業 (平成5年4月～平成7年3月), 平成6年10月厚生省薬務局安全課に報告。

<sup>\*1</sup> 防衛医科大学

<sup>\*2</sup> 福岡大学医学部

<sup>\*3</sup> 国立健康栄養研究所

<sup>\*4</sup> 日本製薬工業協会医薬品評価委員会

<sup>\*5</sup> 北海道大学医学部

<sup>\*6</sup> 東北厚生年金病院

<sup>\*7</sup> 山形大学医学部

<sup>\*8</sup> 慶応義塾大学理工学部

<sup>\*9</sup> 東北大学医学部

<sup>\*10</sup> 東海大学医学部

<sup>\*11</sup> 九州厚生年金病院

<sup>\*12</sup> 大阪大学医学部

<sup>\*13</sup> 金沢大学医学部

<sup>\*14</sup> 湯河原厚生年金病院

<sup>\*15</sup> 国立循環器病センター研究所

**ダイオキシンの免疫毒性の発現機構**：澤田純一  
厚生科学研究 (平成4年4月～平成7年3月), 平成7年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

**清涼飲料水の新殺菌 (除菌) 法の妥当性に関する研究**：小沼博隆, 桑原祥浩\*  
厚生科学研究 (平成7年3月～), 平成7年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

\* 女子栄養大学

**動物性加工食品の品質保証システムに関する研究：**小沼博隆，熊谷 進<sup>\*1</sup>，小久保彌太郎<sup>\*2</sup>，豊福繁<sup>\*3</sup>

厚生科学研究（平成7年3月～），平成7年3月厚生省生活衛生局肉肉衛生課に報告。

<sup>\*1</sup> 国立予防衛生研究所

<sup>\*2</sup> 東京都立衛生研究所

<sup>\*3</sup> 国立公衆衛生院

**残留農薬の分解，代謝に関する調査研究：**齋藤行生，関沢 純，外海泰秀，大沢貫寿<sup>\*1</sup>，加藤保博<sup>\*2</sup>

残留農薬安全対策総合調査研究（平成6年4月～平成7年3月）平成7年3月に厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

<sup>\*1</sup> 東京農業大学

<sup>\*2</sup> 残留農薬研究所

**医薬品等化学物質の急性毒性の分類と評価に関する**

**研究：**高江須義矩<sup>\*1</sup>，黒川雄二，関沢 純，内藤克司，香川 順<sup>\*2</sup>，山中すみへ<sup>\*1</sup>，小野 宏<sup>\*3</sup>，高月峰夫<sup>\*4</sup>，八十川欣勇<sup>\*5</sup>

厚生科学研究（平成6年4月～平成7年3月），平成7年3月に厚生省薬務局安全課に報告。

<sup>\*1</sup> 東京歯科大学

<sup>\*2</sup> 東京女子医科大学

<sup>\*3</sup> 食品薬品安全センター

<sup>\*4</sup> 化学品検査協会

<sup>\*5</sup> 海事検定協会

**家庭用品中に使用される化学物質の安全対策調査：**

中村晃忠，関沢 純

家庭用品等調査研究費（平成6年4月～平成7年3月），平成7年3月に厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

**指定化学物質（1,2-ジクロロエタンおよびクロロホルム）摂取量予測調査：**山本 都

既存化学物質等試験検査費（平成6年4月～7年3月），平成7年4月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

**化学物質による健康リスク評価法に関する研究：**化学物質安全性情報の提供について—化学物質の安全性，特にMSDSの作成に関連する用語について—：神沼二真

厚生科学研究費（平成6年4月～7年3月），平成7年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

**Chlorocyclohexaneの28日間反復投与毒性試験：**

黒川雄二，安原加寿雄，内藤克司，内田雄幸，高田幸一，梅村隆志，青柳千百合

厚生科学研究（平成元年1月～平成元年3月），平成7年4月4日厚生省生活衛生局生活化学安全対策室へ報告。

**実験動物を用いる急性毒性試験等の簡易法に関する**

**研究：**黒川雄二，内藤克司，内田雄幸，高田幸一，梅村隆志，青柳千百合

厚生科学研究（平成6年12月～平成7年3月），平成7年3月22日厚生省薬務局安全課へ報告。

**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，小川幸男，小野 敦  
厚生科学研究（平成4年4月～6年3月），平成6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：**黒川雄二，小野 敦，関田清司，降矢 強，小川幸男，金子豊蔵，鈴木幸子，川崎 靖，広瀬明彦，内藤克司，齋藤 実，田中 悟，松本清司\*

厚生科学研究（平成4年4月～6年3月），平成5年3月厚生省薬務局麻薬課に報告。

厚生科学研究（平成4年4月～6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

**dl- $\alpha$ -TocopherolおよびSodium erythorbateの**

**24ヶ月間併用毒性試験（最終報告書）：**落合敏秋，村上 治，関田清司，高田幸一，齋藤 実，降矢強，黒川雄二

食品添加物安全性評価費（昭和64年4月～平成6年3月），厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**酢酸ベンジルのラットにおける急性経口毒性試験：**

齋藤 実，江下希美，北嶋 聡，松島裕子，門馬純子，津田充宥，黒川雄二

家庭用品等調査研究費（平成6年4月～平成7年2月），平成7年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

**N,N'-Dimethyl-N'-phenyl-fluorodichloromethylthio-sulfamideのラットによる急性毒性試験および**

**28日間反復経口投与毒性試験：**齋藤 実，内田雄幸，川崎靖，門馬純子，松島裕子，伊佐間和朗，五十嵐良明，土屋利江，鹿庭正昭，鈴木孝昌，林真，祖父尼俊雄，中村晃忠，津田充宥，黒川雄二

家庭用品等調査研究費（平成5年4月～平成7年2月），平成7年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

家庭用品等調査研究費（平成5年4月～平成7年2月），平成7年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

家庭用品等調査研究費（平成5年4月～平成7年2月），平成7年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

**ヘキサクロロエタンのラットにおける急性経口毒性：**北嶋 聡，齋藤 実，松島裕子，門馬純子，津田充宥，黒川雄二

家庭用品等調査研究費（平成2年4月～平成3年3月），平成6年7月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

家庭用品等調査研究費（平成2年4月～平成3年3月），平成6年7月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

**ヘキサクロロエタンの毒性（文献報告）：**北嶋 聡，齋藤 実，松島裕子，門馬純子，津田充宥，黒川雄二

家庭用品等調査研究費（平成2年4月～平成3年3月），平成7年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

家庭用品等調査研究費（平成2年4月～平成3年3月），平成7年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

家庭用品等調査研究費（平成2年4月～平成3年3月），平成7年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

5-クロロ-2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オンの慢性毒性試験および経皮発がん性試験(中間報告): 北嶋 聡, 齊藤 実, 松島裕子, 門馬純子, 津田充有, 黒川雄二

家庭用品等調査研究費(昭和63年4月~平成2年3月), 平成7年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

UV吸収剤2-hydroxy-4-methoxybenzophenone(HMBP)のモルモットによる皮膚感作性試験: 門馬純子, 北嶋 聡, 津田充有, 黒川雄二

家庭用品等調査研究費(平成5年4月~平成6年3月), 平成6年7月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

ゴム老化防止剤N-1,3-Dimethylbutyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine(DMBPPD)のモルモットによる皮膚感作性試験: 門馬純子, 北嶋 聡, 津田充有, 黒川雄二

家庭用品等調査研究費(平成5年4月~平成6年3月), 平成6年8月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

塩化マグネシウム( $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ )のラットを用いた催奇形性試験: 大野泰雄, 川島邦夫, 宇佐見誠, 酒見和枝

食品等試験検査費(平成4年4月~平成7年1月), 平成7年1月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

Stevioside(ステビア抽出物)の慢性毒性・癌原性試験(最終報告): 豊田和弘, 畝山智香子, 川西 徹, 高橋道人

食品添加物安全性再評価費(平成3年4月~平成6年3月), 平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

パラオキシ安息香酸イソプロピル(パラベン)のラットにおける癌原性試験(中間報告): 小野寺博志, 三森国敏, 安原加寿雄, 高橋道人

食品添加物安全性再評価費(平成3年4月~平成6年3月), 平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

ヨウ化カリウムのF344ラットにおける長期毒性・癌原性試験(中間報告): 小野寺博志, 三森国敏, 安原加寿雄, 高橋道人

食品添加物安全性再評価費(平成3年4月~平成6年3月), 平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

$\beta$ -サイクロデキストリンの慢性・発癌性試験(中間報告): 豊田和弘, 川西 徹, 畝山智香子, 高橋道人

食品添加物安全性再評価費(平成3年4月~平成6年3月), 平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

ヒスチジン塩酸塩のF344ラットにおける長期毒性・癌原性試験(中間報告): 古川文夫, 今沢孝喜, 池崎信一郎, 西川秋佳, 高橋道人

食品添加物安全性再評価費(平成2年4月~平成6年3月), 平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

乳酸鉄のF344ラットにおける長期毒性・癌原性試験(中間報告): 安原加寿雄, 小野寺博志, 三森国敏, 高橋道人

食品添加物安全性再評価費(平成4年4月~平成6年3月), 平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

流動パラフィンの亜慢性毒性試験および慢性毒性・癌原性試験(中間報告): 豊田和弘, 川西 徹, 畝山智香子, 高橋道人

食品添加物安全性再評価費(平成5年4月~平成6年3月), 平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

クチナシ青色素のF344ラットにおける亜慢性毒性試験(中間報告): 今沢孝喜, 古川文夫, 西川秋佳, 高橋道人

食品添加物安全性再評価費(平成6年4月~平成7年3月), 平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

ジョサマイシンのF344ラットにおける長期毒性・癌原性試験(中間報告): 古川文夫, 今沢孝喜, 池崎信一郎, 西川秋佳, 高橋道人

食品等試験検査費(平成4年4月~平成6年3月), 平成7年3月厚生省生活衛生局肉衛生課報告。

食品添加物の変異原性に関する研究—天然添加物のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験: 松岡厚子, 本間正充, 鈴木孝昌, 林 真, 祖父尼俊雄(昭和63年10月~平成7年3月), 平成7年3月生活衛生局食品化学課に報告。

残留農薬安全対策総合調査研究: 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(平成3年4月~平成7年3月), 平成7年3月生活衛生局食品化学課に報告。

生体外染色体異常試験の精度に関する研究: 林真, 松岡厚子, 本間正充, 鈴木孝昌, 祖父尼俊雄(平成1年4月~平成7年3月), 平成7年3月労働省化学物質情報課に報告。

化学物質による健康リスク評価法に関する研究: 鈴木孝昌, 林 真, 祖父尼俊雄(平成5年4月~平成7年3月), 平成7年3月生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

医薬品規制ハーモナイゼーションに関する国際共同

研究：本間正充，林 真，祖父尼俊雄  
(平成4年4月～平成7年3月)，平成7年3月薬務局審査課に報告。

培養細胞研究資源の標準化および培養研究資源情報の統合化に関する研究：祖父尼俊雄，水沢 博  
(平成6年4月～平成7年3月)，平成7年3月厚生科学課に報告。

培養細胞の大量育成維持時の品質管理に関する研究：水沢 博，祖父尼俊雄  
(平成6年4月～平成7年3月)，平成7年3月厚生科学課に報告。

化学物質による健康リスク評価法に関する研究：大森義仁，林 裕造，黒川雄二，大野泰雄，高橋道人，祖父尼俊雄，中館正弘，齋藤行生，中村晃忠，高橋淳，神沼二真  
厚生科学研究(平成5年4月～平成10年3月)，平成7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。

化学物質による健康リスク評価法に関する研究—予測手法と既存情報を用いたリスクアセスメント評価に関する研究：中館正弘，會田喜崇，鎌田栄一  
厚生科学研究(平成5年4月～平成10年3月)，平成7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。

食品等の安全性評価の在り方に関する研究：和田攻<sup>\*1</sup>，佐藤茂秋<sup>\*2</sup>，栗原伸公<sup>\*3</sup>，中館正弘  
厚生科学研究(平成6年度)，平成7年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

<sup>\*1</sup> 東京大学医学部

<sup>\*2</sup> 神戸大学医学部

<sup>\*3</sup> 東京大学医学部

医薬品規制ハーモナイゼーション推進国際共同研究—動物実験等による薬物代謝および安全性評価等のための国際共同研究—：林 裕造，黒川雄二，高仲正，高橋道人，祖父尼俊雄，中館正弘，田中 悟  
厚生科学研究(平成4年4月～平成9年3月)，平成7年3月厚生省薬務局審査課に報告。

医薬品規制ハーモナイゼーション推進国際共同研究—動物実験等による薬物代謝および安全性評価等のための国際共同研究—，毒性試験関連用語の国際的ハーモナイゼーションに関する研究：中館正弘，鎌田栄一  
厚生科学研究(平成4年4月～平成7年3月)，平成7年3月厚生省薬務局審査課に報告。

ダイオキシンの毒性発現機構に関する研究：中館正弘，小島康平<sup>\*1</sup>，林 裕造，安田峯生<sup>\*2</sup>，(研究協力者：黒川雄二，大野泰雄，高橋道人，祖父尼俊雄，沢田純一)  
厚生科学研究(平成4年4月～平成7年3月)，平

成7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。

<sup>\*1</sup> 麻布大学環境保健学部

<sup>\*2</sup> 広島大学医学部

OECD/HPV点検化学物質安全性調査：中館正弘，鎌田栄一，會田喜崇  
家庭用品等試験検査費(平成3年4月～平成13年3月)，平成7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。

食品中残留農薬簡易分析法開発検討委員会平成6年度報告書：中村優美子，津村ゆかり，外海泰秀，柴田 正  
残留農薬簡易判定法開発検討費(平成6年4月～平成7年3月)，平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

輸入農産物の分析，試験法等に関する研究；各種輸入食品中残留農薬のGC，GC/MS(EIおよびCI法)による多成分系統分析法の検討：外海泰秀，中村優美子，津村ゆかり，柴田 正  
厚生科学研究(平成6年4月～平成7年3月)，平成7年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

含窒素5種農薬(ジメピレレート，テニルクロル，トリシクラゾール，プロベナゾール，プロモブチド)の告示分析法作成に関する検討：津村ゆかり，中村優美子，外海泰秀，柴田 正  
収穫後使用農薬衛生対策推進費(平成6年4月～平成7年3月)，平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

残留農薬の分解，代謝に関する調査研究；茶葉中のピレスロイド系農薬およびそれらの代謝物PBAの系統的分析法：津村ゆかり，中村優美子，外海泰秀，柴田 正  
厚生科学研究(平成6年4月～平成7年3月)，平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

新開発食品素材健康影響評価研究，スクアレンの生体影響に関する研究：中村優美子，津村ゆかり，外海泰秀，柴田 正，内山 充  
厚生科学研究(平成6年4月～平成7年3月)，平成6年3月厚生省厚生科学課に報告。

食品添加物の規格基準および試験法の設定，食用タール色素の製品検査法の開発に関する研究：石光進，柴田 正  
食品等試験検査費(平成6年4月～平成7年3月)，平成7年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品中の食品添加物分析法の設定，食品中の亜硝酸塩の分析法の改良：辻 澄子，石光進，柴田 正  
食品等試験検査費(平成6年4月～平成7年3月)，平成7年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

Aoyagi, N.: Bioequivalence test for oral controlled release dosage forms in Japan

Bio-international 94 Conference, Munich, Germany (1994.6)

香取典子, Mohammed Shameem, 青柳伸男, 小嶋茂雄: 徐放性製剤の評価: 放出に及ぼす機械的刺激の影響および結腸での放出性  
日本薬剤学会第10年会 (1994.9)

鹿庭なほ子: 生物学的同等性評価へのNONMEMの適用—モンテ・カルロ法による検討  
第10回NONMEM研究会 (1994.10)

鹿庭なほ子: ファルマコキネティクスから見た毒性試験—ポピュレーション・ファルマコキネティクスの応用  
医薬安全性研究会15周年記念講演会 (1994.10)

青柳伸男: 生物学的同等性試験の今後の方向  
第4回固形製剤処方研究会シンポジウム (1994.11)

鹿庭なほ子, モハメッド シャミーム, 香取典子, 青柳伸男, 小嶋茂雄: 硝酸イソソルビッド徐放性製剤の溶出試験  
第31回全国衛生化学技術協議会年会 (1994.11)

青柳伸男, 香取典子, 鹿庭なほ子, 小嶋茂雄: 回転透析セル法での坐剤の放出速度とバイオアベイラビリティとの関連性  
日本薬学会第115年会 (1995.3)

香取典子, 青柳伸男, 小嶋茂雄: 日本薬局方含量均一性試験法へのJIS-Z9004計量基準型1回抜取検査(標準偏差未知)の応用—両側規格でのOC曲線の求めかた  
日本薬学会第115年会 (1995.3)

Izutsu, K., Yoshioka, S., and Kojima, S.: Effects of High-temperature Storage on the Physical Stability and Protein Stability of Freeze-dried Cakes

1994 Colorado Protein Stability Conference, Breckenridge, Colorado, USA (1994.7)

吉岡澄江, 阿曾幸男, 伊豆津健一, 小嶋茂雄: タンパク質医薬品の安定性予測に加速試験の適用は可能か?  $\beta$ -ガラクトシダーゼの水溶液中における変性速度論  
日本薬剤学会第10年会 (1994.9)

吉岡澄江, 阿曾幸男, 大塚知子, 小嶋茂雄: 誘電緩和時間, NMR緩和時間, 水分活性を指標とした高分子添加剤—水の相互作用の検討

日本薬学会第115年会 (1995.3)

大塚知子, 吉岡澄江, 阿曾幸男, 小嶋茂雄: 水溶性高分子溶液中における医薬品の分解と水の動的状態との関係について  
日本薬学会第115年会 (1995.3)

阿曾幸男, 吉岡澄江, 大塚知子, 小嶋茂雄: WLF式によるニフェジピンの結晶化速度の解析  
日本薬学会第115年会 (1995.3)

伊豆津健一, 吉岡澄江, 小嶋茂雄: 凍結溶液中の溶質の状態についての熱分析およびパルスNMR測定による検討  
日本薬学会第115年会 (1995.3)

石橋無味雄: 日本薬局方にみがきをかけるために一定量法について—  
日本薬学会第115年会 (1995.3)

Ishibashi, M.: Basic principles on the establishment of the pharmacopoeia of Japan  
FAPA 1994, Bangkok, Thailand (1994.11)

中原雄二: 大麻成分の法科学的分析  
日本法中毒第13回年会 (1994.6)

木倉瑠理, 高橋一徳, 中原雄二, 涌谷桐子\*, 沼野弘子\*: 妊娠中の覚せい剤乱用に起因した新生児の毛髪中の覚せい剤の検出例  
日本法中毒第13回年会 (1994.6)

\* まつしま病院

中原雄二, 高橋一徳, 木倉瑠理, 坂本知昭\*<sup>1</sup>, 平井慎二\*<sup>2</sup>, 和田清\*<sup>3</sup>: 過去1年間に覚せい剤, コカイン, 大麻およびシンナー乱用した患者の毛髪分析と臨床所見  
日本法中毒第13回年会 (1994.6)

\*<sup>1</sup> 昭和薬大

\*<sup>2</sup> 国立下総療養所

\*<sup>3</sup> 国立精神保健研究所

伊藤 茂\*<sup>1</sup>, 相 朗子\*<sup>1</sup>, 菰田泰夫\*<sup>1</sup>, 関根 均\*<sup>2</sup>, 中原雄二: 覚せい剤のタバコ喫煙の熱分解生成物の分解機構  
日本法中毒第13回年会 (1994.6)

\*<sup>1</sup> 東京医歯大

\*<sup>2</sup> 埼玉県警科捜研

仁平 信\*, 林田真喜子\*, 平川慶子\*, 植草協子\*, 大野曜吉\*, 中原雄二: ケシの実含有食品摂取後の尿中モルヒネの分析  
日本法中毒第13回年会 (1994.6)

\* 日本医科大学

Nakahara, Y.: **Effect of the physicochemical properties on the incorporation rates of drugs into hair**

2nd International Meeting on Clinical and Forensic Aspects of Hair Analysis (1994. 6)

Nakahara, Y.: **Pharmacological study on amphetamines in hair**

International Conference on Drug Testing in Hair (1994. 10)

Nakahara, Y., Takahashi, K. and Kikura, R., Foltz R. L.\*<sup>1</sup>, Mieczkowski T.\*<sup>2</sup>: **Detection of LSD and norLSD in Rat Hair and Human Hair**  
International Congress of TIAFT-SOFT (1994. 11)

\*<sup>1</sup> University of Utah

\*<sup>2</sup> University of South Florida

Sakamoto, T.\*, Tanaka, A.\* and Nakahara, Y.: **Detection of PCP and its metabolites in rat hair**  
International Congress of TIAFT-SOFT (1994. 11)

\* 昭和薬科大学

Kikura, R., Nakahara, Y.: **Distinction by hair analysis between amphetamine-like OTC drugs and illegal use**

International Congress of TIAFT-SOFT (1994. 11)

高橋一徳, 中原雄二, 小嶋茂雄: **薬物乱用歴推定のための毛髪分析. 毛髪中薬物 (覚せい剤, コカイン, ヘロイン他) の GC/MS によるスクリーニング法の検討**

日本薬学会第 114 年会 (1995. 3)

木倉瑠理, 中原雄二, 小嶋茂雄: **薬物乱用歴推定のための毛髪分析. MDMA の毛髪への移行と毛髪の裁判化学的利用**

日本薬学会第 114 年会 (1995. 3)

坂本知昭\*, 田中彰\*, 中原雄二: **薬物乱用歴推定のための毛髪分析 XVI Phencyclidine 代謝物の立体異性体と毛髪への移行率**

日本薬学会第 114 年会 (1995. 3)

\* 昭和薬科大学

仁平 信\*, 林田真喜子\*, 大野曜吉\*, 中原雄二: **尿中薬物スクリーニングにおける EMIT 妨害物質の影響**

日本薬学会第 114 年会 (1995. 3)

\* 日本医科大学

中野賢人\*<sup>1</sup>, 渡辺和人\*<sup>1</sup>, 山本郁男\*<sup>1</sup>, 中原雄二, 吉村英敏\*<sup>2</sup>: **尿中 Tetrahydrocannabinol-11-oic acid の鑑定—ヒト尿中での安定性について**  
日本薬学会第 114 年会 (1995. 3)

\*<sup>1</sup> 北陸大学薬学部

\*<sup>2</sup> 中村学園大学

内田恵理子, 川崎ナナ, 森本和滋, A. A. SAID, 早川堯夫: **エリスロポエチンの生物活性と蛋白質構造および糖鎖構造に及ぼす活性酸素の影響**  
第 67 回日本生化学会 (1994. 9)

山口高正, 山口照英, 山本行男\*, 鈴木和博, 高橋惇, 早川堯夫: **HL-60 細胞の分化誘導における G-CSF の影響について**

第 67 回日本生化学会大会 (1994. 9)

\* 東京都臨床医学総合研究所

山口照英, 山口高正, 早川堯夫: **ヒト G-CSF による HL-60 細胞の増殖・機能分化には G-CSF の N-末端ドメインが重要な機能を果たしている**

第 67 回日本生化学会大会 (1994. 9)

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 67 回日本生化学会大会 (1994. 9)

山口照英, 山口高正, 鈴木和博, 高橋 惇, 早川堯夫: **G-CSF による HL-60 細胞の分化誘導の促進作用について**

第 47 回日本細胞生物学会 (1994. 9)

福岡正道, 小林 哲, 周 玉\*<sup>1</sup>, 池本 庸\*<sup>2</sup>, 新見伸吾, 田中 彰\*<sup>3</sup>, 早川堯夫: **フタル酸エステルによる精巣障害メカニズムについて**

第 20 回環境トキシコロジーシンポジウム (1994. 9)

\*<sup>1</sup> 現在, 静岡県立大学

\*<sup>2</sup> 東京慈恵会医科大学

\*<sup>3</sup> 現在, 昭和薬科大学

Hayakawa, T.: **Recombinant Human Growth Hormone: Point of view of Japanese registration authorities**

International Meeting for Somatropin Requirements: specifications, reference methodologies, standards, expression of potency, Strasbourg, France (1994. 9)

Hayakawa, T.: **Recombinant Human Growth Hormone: Points of view of Japanese pharmacopoeias: current situation and development**

International Meeting for Somatropin Requirements: specifications, reference methodologies, standards, expression of potency, Strasbourg, France (1994. 9)

森本和滋, A. A. SAID, 内田恵理子, 早川堯夫, 津田英資\*, 畠山 恵\*, 上田正次\*: 陰イオン交換クロマトで分画した組換え型 EPO の糖鎖と生物活性の改変

日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

\* 雪印乳業生物科学研究所

川崎ナナ, 森本和滋, 谷本 剛, 早川堯夫: K562 細胞の赤芽球分化過程におけるトランスフェリン鉄 (FeTf) の役割について

日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

春日井勲, 森本和滋, 早川堯夫: HL-60 細胞における M-CSF レセプター高発現細胞株の樹立

日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

太田美矢子, 谷本剛, 早川堯夫, 岡本和男\*<sup>1</sup>, 水野耕治\*<sup>2</sup>: 血小板凝集に及ぼす血栓溶解酵素剤の影響

日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

\*<sup>1</sup> テルモ研究開発セ

\*<sup>2</sup> 日本商事医薬研

小林 哲, 福岡正道, 早川堯夫: AFP・EIA キット間のばらつきの原因としての AFP の糖鎖

日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

佐竹元吉: 薬用植物の探索

第 1 回植物資源に関する富山シンポジウム (1994. 10)

佐竹元吉: 生薬および生薬製剤の品質について

第 14 回家庭薬開発研究会シンポジウム (1994. 11. 14)

尾崎幸紘, 佐竹元吉: 漢方処方薬の抗炎症作用

第 68 回日本薬理学会年会 (1995. 3)

Ono, K., Eto, K.\*<sup>1</sup>, Sakamoto, A.\*<sup>1</sup>, Masaki, T.\*<sup>2</sup>, Tsujimoto, G.\*<sup>1</sup> and Satake, M.: **ET<sub>A</sub> receptor-mediated modulation of calcium and potassium currents in guinea-pig and rabbit atrial myocytes**

Tokyo Women's Medical College International Symposium '94, Tokyo, Japan (1994. 7)

\*<sup>1</sup> National Children's Medical Research Center

\*<sup>2</sup> Kyoto University, Faculty of Medicine

Etoh, K.\*<sup>1</sup>, Ono, K., Sakamoto, A.\*<sup>2</sup>, Tsujimoto, G.\*<sup>2</sup> and Hashimoto, K.\*<sup>1</sup>: **Negative chronotropic effect by endothelin-1 mediated through ET<sub>A</sub> receptor in the guinea-pig atria**

12th International Congress of Pharmacology, Montreal, Canada (1994. 7)

\*<sup>1</sup> Yamanashi Medical University

\*<sup>2</sup> National Children's Medical Research Center

Ono, K., Eto, K.\*<sup>1</sup>, Sakamoto, A.\*<sup>2</sup>, Tsujimoto, G.\*<sup>2</sup> and Satake, M.: **ET<sub>A</sub> receptor-mediated modulation of calcium and potassium currents by endothelin-1 in the guinea pig atrial myocytes**

12th International Congress of Pharmacology, Montreal, Canada (1994. 7)

\*<sup>1</sup> Yamanashi Medical University

\*<sup>2</sup> National Children's Medical Research Center

小野景義, 江藤浩之\*<sup>1</sup>, 橋本敬太郎\*<sup>1</sup>, 眞崎知生\*<sup>2</sup>, 阪本英二\*<sup>3</sup>, 佐田登志夫\*<sup>3</sup>, 柴田克志\*<sup>3</sup>, 與水崇鏡\*<sup>3</sup>, 辻本豪三\*<sup>3</sup>: **エンドセリンの新しい心筋作用のイオン機序**

第 68 回日本薬理学会年会 (1995. 3)

\*<sup>1</sup> 山梨医科大学

\*<sup>2</sup> 京都大学医学部

\*<sup>3</sup> 国立小児病院小児薬理

與水崇鏡\*<sup>1</sup>, 辻本豪三\*<sup>1</sup>, 阪本英二\*<sup>1</sup>, 小野景義, 眞崎知生\*<sup>2</sup>: **ヒト ET<sub>B</sub> エンドセリン受容体カルボキシル末端の機能的役割**

第 68 回日本薬理学会年会 (1995. 3)

\*<sup>1</sup> 国立小児病院小児薬理

\*<sup>2</sup> 京都大学医学部

小野景義, 眞崎知生\*<sup>1</sup>, 阪本英二\*<sup>2</sup>, 與水崇鏡\*<sup>2</sup>, 佐田登志夫\*<sup>2</sup>, 辻本豪三\*<sup>2</sup>: **ラット右心房心拍数調節における ET<sub>A</sub>・ET<sub>B</sub> エンドセリン受容体の機能分担**

第 68 回日本薬理学会年会 (1995. 3)

\*<sup>1</sup> 京都大学医学部

\*<sup>2</sup> 国立小児病院小児薬理

本間信生\*<sup>1</sup>, 小野景義, 柴田克志\*<sup>2</sup>, 小比賀健司\*<sup>2</sup>, 橋本敬太郎\*<sup>1</sup>, 辻本豪三\*<sup>2</sup>: **ラット心室筋一過性外向電流における α<sub>1</sub> アドレナリン受容体サブタイプの関与について**

第 68 回日本薬理学会年会 (1995. 3)

\*<sup>1</sup> 山梨医科大学

\*<sup>2</sup> 国立小児病院小児薬理

Sugiyama, R., Shimomura, H. and Satake, M.: **Microscopical anatomy of powdered Geranium** The 4th International Congress on Traditional Asian Medicine, Tokyo, Japan (1994. 8)

Hossain, C. F., Sekita, S. and Satake, M.: **Chemical constituents of the seeds of *Pakkia roux-berghii* (Mimosaceae)**

The 4th International Congress on Traditional

Asian Medicine, Tokyo, Japan (1994. 8)

Sekita, S., Satake, M., Kameyama, S.\*, Hirayama, Y.\* and Yanagawa, T.\*: **Anti-androgen active compounds from medicinal plants**

The 4th International Congress on Traditional Asian Medicine, Tokyo, Japan (1994. 8)

\* ライオン(株)生物科学センター

Shirota, O., Sekita, S., Satake, M., Ni, Y.\* and Weiyi, H.\*: **Activity and chemical constituent of the chinese folk medicine "san leng" (part 2)-*Sparganium stoloniferum* Buch.-Hamil**

The 4th International Congress on Traditional Asian Medicine, Tokyo, Japan (1994. 8)

\* 天津薬物研究院

関田節子：諸外国の生薬に対する微生物汚染対策について

第6回生薬漢方製剤の微生物および異物汚染対策ならびに品質管理に関するシンポジウム (1994. 9)

Chowdhury Faiz Hossain, 関田節子, 佐竹元吉, 亀山省司\*, 平山 豊\*, 柳川琢磨\*: **Chemical constituents of *Lespedeza bicolor* (yamahagi)**

日本薬学会第115回年会 (1995. 3)

\* ライオン(株)生物科学センター

川原信夫, Flores Diana, 関田節子, 佐竹元吉, 川合源四郎\*: ***Balansia cyperi* の代謝産物の研究 (1)**

日本薬学会第115回年会 (1995. 3)

\* キッコーマン(株)技術研究センター

代田 修, 関田節子, 佐竹元吉：三稜の成分に関する研究—ミクリ (*Sparganium Rizoma*) の成分について—

日本薬学会第115回年会 (1995. 3)

関田節子, 代田 修, Chowdhury Faiz Hossain, 佐竹元吉, 矢口貴志\*<sup>1</sup>, 宇田川俊一\*<sup>2</sup>, 梅原 薫\*<sup>3</sup>, 黒柳正典\*<sup>3</sup>： ***Chromocleista* sp. の産生する分化誘導活性物質について**

日本薬学会第115回年会 (1995. 3)

\*<sup>1</sup> 明治製菓(株)総合研

\*<sup>2</sup> 東京農業大学

\*<sup>3</sup> 静岡県立大学薬学部

奥山恵美\*, 岡本佳子\*, 山崎幹夫\*, 佐竹元吉： **ペル—民間薬 *Iluanarpo* (*Jatropha cillata* W. Arg.) の抗不安作用成分**

日本薬学会第115回年会 (1995. 3)

\* 千葉大学薬学部

齋藤 洋\*<sup>1</sup>, 佐竹元吉, 滋野宣明\*<sup>2</sup>, 津谷喜一郎\*<sup>3</sup>,

渡辺 徹\*<sup>4</sup>： **生薬製剤の Globalization における我が国の役割**

日本薬学会第115回年会 (1995. 3)

\*<sup>1</sup> 東京大学薬学部

\*<sup>2</sup> 前 WHO 事務局

\*<sup>3</sup> 東京医科歯科大学難治研

\*<sup>4</sup> 日本薬剤師会

鎌倉浩之, 佐竹元吉： **ラット肝ミクロソームによるノルエフェドリン光学異性体の代謝と立体選択性の検討**

日本薬学会第115回年会 (1995. 3)

林 謙, 松田りえ子： **分析機器における 1/f ゆらぎと定量精度について I. HPLC の基礎的考察**

1994年分析機器と解析システムに関する東京討論会 (1994. 10)

Hayashi, Y. and Matsuda, R.: **1/f Noise and Measurement Precision in Analytical Instruments**

International Symposium on Chromatography (1995. 1)

林 謙, 松田りえ子： **分析機器における 1/f ゆらぎと定量精度について II. クロマトグラフィの検出限界**

分析化学会第43年会 (1994. 10)

林 謙, ラッセル B. ポウ, 松田りえ子： **キャピラリー電気泳動の不確定性構造とオブジェクトを指向した最適化 I. 測定精度とベースラインの 1/f ゆらぎの関係について**

第14回キャピラリー電気泳動シンポジウム (1994. 12)

ラッセル B. ポウ, 松田りえ子, 林 謙： **キャピラリー電気泳動の不確定性構造とオブジェクトを指向した最適化 III. ベースラインゆらぎの確率論的性質に基づいた測定波長の最適化**

第14回キャピラリー電気泳動シンポジウム (1994. 12)

林 謙： **分析機器の 1/f 揺らぎから予測できる定量値の精度と分析条件のオブジェクト指向な最適化**

日本薬学会第115回年会 (1995. 3)

林 謙, 松田りえ子, ラッセル B. ポウ： **検量線を用いて推定される試料濃度の信頼性 I. 測定誤差と濃度推定値の精度の関係**

日本薬学会第115回年会 (1995. 3)

Yagami, T., Sato, M., Nakamura, A. and Shono, M.\*: **One of the Rubber Latex Allergens has Lysozyme Activity: Do the allergens correspond to defense-related proteins?**



Latex Allergy Symposium, Toronto, Ontario, Canada (1994. 9)

\* しょうの皮膚科

矢上 健, 佐藤道夫, 中村晃忠, 生野麻美子\*: 天然ゴム製品による即時型アレルギーと天然ゴム由来するエステラーゼとの関連  
日本薬学会第115年会 (1995. 3)

\* しょうの皮膚科

矢上 健, 北川幸己<sup>\*1</sup>, 二木史朗<sup>\*2</sup>: LSIMS による硫酸化チロシン [Tyr(SO<sub>3</sub>H)] 含有ペプチドの分析  
1995年度質量分析連合討論会 (1995. 5)

<sup>\*1</sup> 新潟薬科大学

<sup>\*2</sup> 徳島大学薬学部附属医薬資源教育研究センター

五十嵐良明, 土屋利江, 門馬純子, 中村晃忠: チオウレア系ゴム加硫促進剤の3種の感作性試験法による結果の比較  
第21回日本毒科学会学術年会 (1994. 6)

五十嵐良明, 土屋利江, 中村晃忠, 豊田和弘, 高橋道人, 内間高夫<sup>\*1</sup>, 土居 寿<sup>\*2</sup>, 米山隆之<sup>\*2</sup>, 浜中人士<sup>\*2</sup>: 金属材料の生体適合性に関する研究 (3): 鉄-クロム合金の感作性と組織反応性  
第16回日本バイオマテリアル学会大会 (1994. 11)

<sup>\*1</sup> 民生科学協会研究所

<sup>\*2</sup> 東京医科歯科大学

中村晃忠: 摘出インプラントの解析とそのデータ蓄積のための組織について  
第16回日本バイオマテリアル学会大会: シンポジウム「摘出インプラントからみたバイオマテリアルの問題点」 (1994. 11)

Nakamura, A.: Classification of medical devices, tracking, and retrieval and analysis: Japanese trends

Symposium: Towards an International Implant Tracking and Data System, Melbourne, Australia (1995. 1)

新谷英晴: 局方微生物試験法と ISO/TC 198  
日本 PDA シンポジウム (1994. 8)

新谷英晴: ISO/TC 198 の動向, WG3, WG4 について  
医科器械学会第1回学術研修会 (1994. 11)

Shintani, H.: Comparison of D value accuracy between LSKP and SMCP  
PDA Asia symposium (1994. 11)

Shintani, H.: Toxic and carcinogenic compound

formation when exposed to gamma-ray irradiation, autoclave and ethylene oxide sterilization to medical use polyurethane  
Pitts. Conf. '95 New Orleans (1995. 3)

Shintani, H.: Leaching of toxic and carcinogenic additives and residual monomer from dental plate  
Pitts. Conf. '95 New Orleans (1995. 3)

Shintani, H.: What are the safest sterilization methods for medical devices?  
30th Annual AAMI Meeting & Exposition, Anaheim, CA (1995. 5)

早川律子\*, 鈴木真理\*, 鹿庭正昭: *p-tert-butylphenol formaldehyde resin* による接触皮膚炎  
第24回日本皮膚アレルギー学会 (1994. 7)

\* 名古屋大学医学部付属病院分院

鹿庭正昭, 伊佐間和郎, 中村晃忠: 防水スプレーによる急性中毒事故の原因究明: 取り組みの成果と今後の課題  
第31回全国衛生化学技術協議会 (1994. 11)

伊佐間和郎, 鹿庭正昭, 中村晃忠: ポリエステル製品中の cyclic oligomer の分析  
第31回全国衛生化学技術協議会 (1994. 11)

鹿庭正昭, 伊佐間和郎, 中村晃忠, 都 深<sup>\*1</sup>, 地土井襄瑩<sup>\*1</sup>, 西岡和恵<sup>\*2</sup>: 農作業用ゴム長靴によるアレルギー性接触皮膚炎の原因究明  
第19回日本接触皮膚炎学会 (1994. 11)

<sup>\*1</sup> 島根医科大学

<sup>\*2</sup> 山口赤十字病院

上田恵一<sup>\*1</sup>, 山本由美子<sup>\*1</sup>, 天井 周<sup>\*1</sup>, 鹿庭正昭, 小嶋茂雄, 高石公子<sup>\*2</sup>: ネル寝間着または半纏による色素沈着性接触皮膚炎の2例  
第19回日本接触皮膚炎学会 (1994. 11)

<sup>\*1</sup> 福井医科大学

<sup>\*2</sup> 交野市

Kaniwa, M., Isama, K., Nakamura, A., Nishioka, K.<sup>\*1</sup>, Miyako, F.<sup>\*2</sup> and Jidoi, J.<sup>\*2</sup>: Chemical investigative study on rubber boots for agricultural uses causing allergic contact dermatitis and the alternative trial products  
3rd Asia-Pacific Environmental and Occupational Dermatology Symposium, Nagoya, Japan (1995. 3)

<sup>\*1</sup> 山口赤十字病院

<sup>\*2</sup> 島根医科大学

Kaniwa, M.: Chemical analysis to confirm rele-

vance between causative products and chemicals  
10th International Symposium on Contact Dermatitis, Nagoya, Japan (1995. 3)

Kantoh, H.\*<sup>1</sup>, Kurikawa, S.\*<sup>1</sup>, Itoh, M.\*<sup>2</sup> and Kaniwa, M.: A case of contact dermatitis due to tightening shorts  
10th International Symposium on Contact Dermatitis, Nagoya, Japan (1995. 3)

\*<sup>1</sup> 日産玉川病院

\*<sup>2</sup> 東邦大学医学部

Nishioka, K.\*, Murata, M.\*, Ishikawa, T.\* and Kaniwa, M.: A study of contact dermatitis due to rubber boots in Japanese farmers  
10th International Symposium on Contact Dermatitis, Nagoya, Japan (1995. 3)

\* 山口赤十字病院

土居 寿\*, 米山隆之\*, 小林郁夫\*, 浜中人士\*, 土屋利江, 五十嵐良明, 中村晃忠: 金属材料の生体適合性に関する研究 (1) 鉄-クロム 2 元系合金の腐食とイオンの溶出挙動

第 16 回日本バイオマテリアル学会 (1994. 11)

\* 東京医科歯科大学医用器材研究所

土屋利江, 五十嵐良明, 中村晃忠, 豊田和弘, 高橋道人, 内間高夫\*<sup>1</sup>, 土居 寿\*<sup>2</sup>, 米山隆之\*<sup>2</sup>, 浜中人士\*<sup>2</sup>: 金属材料の生体適合性に関する研究 (2) 鉄-クロム合金の生体内イオン溶出挙動

第 16 回日本バイオマテリアル学会 (1994. 11)

\*<sup>1</sup> 民生科学協会総合研究所

\*<sup>2</sup> 東京医科歯科大学医用器材研究所

土屋利江, 中岡竜介, 出川宏規, 中村晃忠: 高分子材料の発癌性の素因の解析に関する研究: ポリウレタン構成モノマー等の Balb/3T3 トランスフォーメーション活性について

第 16 回日本バイオマテリアル学会 (1994. 11)

中岡竜介, 土屋利江, 中村晃忠: 高分子材料の発癌プロモーター作用に関する研究: ポリエチレンの代謝協同阻害作用について

第 16 回日本バイオマテリアル学会 (1994. 11)

出川宏規, 土屋利江, 中村晃忠: 高分子材料の添加剤の発ガンプロモーター作用に関する研究: 紫外線吸収剤の代謝協同阻害活性について

第 16 回日本バイオマテリアル学会 (1994. 11)

土屋利江, 中岡竜介, 出川宏規, 中村晃忠: 高分子材料の発癌性の素因の解析に関する研究: ポリウレタン構成モノマー等の Balb/3T3 トランスフォーメーション活性について

第 16 回日本バイオマテリアル学会 (1994. 11)

土屋利江, 五十嵐良明, 中村晃忠: 医用材料の *in vivo* 組織刺激性を予測するための細胞毒性試験法の確立に関する研究

第 8 回日本動物実験代替法学会 (1994. 11)

土屋利江, 山越葉子, 中村晃忠, 宮田直樹: フラレンのラット胎仔軟骨分化促進作用について

第 8 回フラレン総合シンポジウム (1995. 1)

土屋利江: 医療用材料等の安全性評価: 細胞毒性, 感作性, 発癌性について

食品薬品安全センター秦野研究所セミナー (1993. 11)

Tsuchiya, T., Nakaoka, R., Degawa, H., Oguri, I., Haruyama, N., Ikarashi, Y. and Nakamura, A.: Studies on the mechanisms of the tumorigenesis induced by polyetherurethanes in the animals: a new approach for detecting the tumorigenic factors

5th Annual Conference, Australian Society For Biomaterials, Melbourne, Australia (1995. 1)

松村年郎, 関田 寛, 安藤正典: 化学物質による室内汚染 (12) ホルムアルデヒドの自動計測器の性能試験について

第 35 回大気汚染学会 (1994. 11)

松村年郎, 関田 寛, 安藤正典, 希代 誠\*: 化学物質による室内汚染 (13) 空気中の粒子状ヒドロキシメタンスルホン酸塩とホルムアルデヒドの同時測定法について

第 35 回大気汚染学会 (1994. 11)

\* ガステック(株)

松村年郎, 関田 寛, 安藤正典, 大塚健二\*: 化学物質による室内汚染 (14) 室内空気中の粒子状ヒドロキシメタンスルホン酸塩とホルムアルデヒドの同時測定結果について

第 35 回大気汚染学会 (1994. 11)

\* 鋼管計測(株)

松村年郎, 関田 寛, 安藤正典, 長田英二\*: 化学物質による室内汚染 (15) 一般住宅内における空気汚染物質の測定結果について

第 35 回大気汚染学会 (1994. 11)

\* 電気化学計器(株)

松村年郎, 関田 寛, 安藤正典: 揮発性有機化合物の拡散型サンプラーの開発と個人暴露量測定への適用-パラジクロロベンゼン-

第 31 回全国衛生化学技術協議会年会 (1994. 11)

松村年郎, 安藤正典: 揮発性有機化合物による室内空気汚染について

第 22 回建築物環境衛生管理全国大会 (1995. 1)

鈴木助治\*, 渡辺四男也\*, 木嶋敬二: 高速液体クロマトグラフィーによる化粧品中のグリチルリチン酸およびグリチルレチン酸の簡易迅速分析法  
第31回全国衛生化学技術協議会年会 (1994. 11)

\* 東京都立衛生研究所

岸 美智子\*, 土井佳子\*, 木嶋敬二: 化粧品中色素のTLCによる分析について  
第31回全国衛生化学技術協議会年会 (1994. 11)

\* 神奈川県衛生研究所

石川雅章\*, 勝岡真由美\*, 小畑順一\*, 佐藤四郎\*, 永野隆雄\*, 木嶋敬二: フォトダイオードアレイ検出器付きHPLCによる化粧品中の水溶性タール色素の分析  
第31回全国衛生化学技術協議会年会 (1994. 11)

\* 静岡県衛生環境センター

大貫奈穂美\*, 森 謙一郎\*, 伊藤弘一\*, 鈴木助治\*, 中村 弘\*, 木嶋敬二: 高速液体クロマトグラフィーによる化粧品中のアラントインの分析法  
第31回全国衛生化学技術協議会年会 (1994. 11)

\* 東京都立衛生研究所

木嶋敬二, 鈴木助治\*<sup>1</sup>, 伊藤弘一\*<sup>1</sup>, 石川雅章\*<sup>2</sup>, 岸 美智子\*<sup>3</sup>, 坂口 洋\*<sup>4</sup>, 原田裕文\*<sup>5</sup>, 廣田 博\*<sup>5</sup>, 佐藤信夫\*<sup>6</sup>, 澤村邦夫\*<sup>7</sup>, 高橋 守\*<sup>8</sup>, 高松 翼\*<sup>9</sup>, 西島 靖\*<sup>10</sup>, 平松 功\*<sup>11</sup>, 齋藤恵美子\*<sup>12</sup>: 生活用品試験法・化粧品試験法, 有機性着色料  
日本薬学会第115年会 (1995. 3)

\*<sup>1</sup> 東京都立衛生研究所

\*<sup>2</sup> 静岡県衛生環境センター

\*<sup>3</sup> 神奈川県衛生研究所

\*<sup>4</sup> 北里大学薬学部

\*<sup>5</sup> 日本毛髪協会研究所

\*<sup>6</sup> コーサー研究所

\*<sup>7</sup> ライオン(株)品質研究部

\*<sup>8</sup> 伊勢半研究所

\*<sup>9</sup> 資生堂(株)安全・分析センター

\*<sup>10</sup> 鐘紡(株)化粧品研究所

\*<sup>11</sup> ポーラ研究所

\*<sup>12</sup> 日本化粧品工業会連合会

徳永裕司, 木嶋敬二, 安藤正典: メチルパラベンを透過指標物質とした剝離皮膚への界面活性剤の影響(第2報)  
日本化粧品科学会第19回学術大会 (1994. 6)

徳永裕司: 透過指標物質を用いた皮膚安全性評価へのアプローチ  
日本動物代替法学会第8回大会 (1994. 11)

徳永裕司, 木嶋敬二, 安藤正典: サリチル酸を透過指標物質とした剝離皮膚への界面活性剤の影響  
日本薬学会第115年会 (1995. 3)

徳永裕司, 木嶋敬二, 安藤正典: エチルパラベンを透過指標物質とした剝離皮膚への界面活性剤の影響  
日本化粧品科学会第20回学術大会 (1995. 5)

内野 正, 木嶋敬二, 安藤正典, 濁川雄一郎\*: ヘマトポルフィリンのUVA増感による溶血と紫外線吸収剤の評価  
日本薬学会第115年会 (1995. 3)

\* 北里大学

埴岡伸光, 神野透人, 豊岡利正, 安藤正典: テトラクロロエチレンによるラット肝薬物代謝酵素の誘導  
第67回日本生化学会 (1994. 9)

埴岡伸光, 神野透人, 西村哲治, 安藤正典: 肝薬物代謝酵素に及ぼすテトラクロロエチレンの影響: ラット肝ミクロソームにおけるチトクロームP450依存性酵素の速度論的解析  
第3回バイオアッセイ研究集会 (1994. 9)

Hanioka, N., Jinno, H., Nishimura, T. and Ando, M.: Effect of chlorinated dibenzo-*p*-dioxins on drug-metabolizing enzymes in the rat liver  
14th International Symposium on Chlorinated Dioxins, PCB and Related Compounds. Kyoto, Japan (1994. 11)

仲野恭子\*, 埴岡伸光, 神野透人, 与田玲子\*, 西村哲治, 安藤正典: 肝薬物代謝酵素に及ぼすクロロニトロフェン(CNP)およびCNPアミノ体の影響  
第29回日本水環境学会年会 (1995. 3)

\* 共立薬科大学

大湾雅一\*, 神野透人, 羽生 努, 埴岡伸光, 豊岡利正, 安藤正典: クライオフォーカシング装置付きヘッドスペース-GC/MSによる揮発性有機化合物の高感度一斉分析  
第45回全国水道研究発表会 (1994. 5)

\* 那覇市水道局

神野透人, 畠山尚子\*, 埴岡伸光, 与田玲子\*, 西村哲治, 安藤正典: ジフェニルエーテル系除草剤の培養ラット肝細胞に対する影響  
日本薬学会 (1995. 3)

\* 共立薬科大学

根本 了, 佐々木久美子, 齋藤行生, 忠田吉弘\*<sup>1</sup>, 禅院洋光\*<sup>2</sup>: 農産物中の有機塩素系農薬およびピレスロイド系農薬の同時分析法の検討  
第31回全国衛生化学技術協議会年会 (1994. 11)

\*<sup>1</sup> 農林水産省東京農林水産消費技術センター

\*<sup>2</sup> 食糧庁

根本 了, 佐々木久美子, 齋藤行生: 超臨界流体抽出による農産物中の残留農薬分析法に関する基礎的

## 検討

日本食品衛生学会第 69 回学術講演会 (1995. 5)

松田りえ子, 林 謙, 佐々木久美子, 齋藤行生:  
分析機器における  $1/f$  ゆらぎと定量精度について  
III. クロマトグラフィピークの最適積分区間  
日本分析化学会第 43 年会 (1994. 10)

松田りえ子, 林 謙, Russell B. Poe, 佐々木久美子, 齋藤行生: キャピラリー電気泳動の不確定性構造とオブジェクトを指向した最適化 (II) 検出限界について  
第 14 回キャピラリー電気泳動シンポジウム (1994. 12)

松田りえ子, 林 謙, Russell B. Poe, 佐々木久美子, 齋藤行生: 検量線によって推定された試料濃度の信頼性について II. 高い信頼性を得るための検量線的设计  
日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

松田りえ子, 林 謙, Russell B. Poe, 佐々木久美子, 齋藤行生: 機器出力ゆらぎの確率過程論と検出限界の推定  
第 56 回分析化学討論会 ミニシンポジウム 分析における定義 (1995. 5)

豊田正武: 米をめぐるカビとカビ毒: 輸入米の検査体制の現状  
第 39 回マイコトキシン研究会 (1994. 8)

宮原 誠, 穂山 浩, 豊田正武, 齋藤行生: トポイソメレース阻害を指標とする抗腫瘍物質の検索—アロエの成分を中心にして—  
日本薬学会第 115 年会 (1995. 4)

Makoto Miyahara, Hiroshi Akiyama, Masatake Toyoda and Yukio Saito: **Determination of Fumonisin by in-Line Post-Column Fluorometric Technique**  
The 108th Annual AOAC International Meeting and Exposition, Portland, Oregon, USA (1994. 9)

穂山 浩, 宮原 誠, 豊田正武, 齋藤行生: 食品の種類別におけるモニシン分析法の検討  
日本食品衛生学会第 68 回学術講演会 (1994. 10)

穂山 浩, 宮原 誠, 豊田正武, 齋藤行生: フモニシンの化学的安定性の検討およびコーンスターチ製造における消長  
日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

西島基弘\*, 伊藤登志男, 加藤嘉昭\*, 川名清子\*, 齋藤和夫, 白石隆幸\*, 鈴木忍\*, 成田弘子\*, 浜野孝\*, 本間 浩\*, 山田 隆, 渡部健二郎\*: **アセスルファミン, サッカリンおよびアスパルテームの高速**

**液体クロマトグラフィーによる定性および定量**  
日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

\* 日本薬学会 衛生試験法部会 食品添加物専門委員会

Ishiwata, H.: **Food additives usage in accordance with the Japanese Food Sanitation Law**  
Seminar on Precertification System, Bangkok, Thailand (1994. 11)

Ishiwata, H.: **New problems of food additives in Japan, concerning food trading**  
Seminar on Food Sanitation/Food Safety System Development, Bangkok, Thailand (1994. 12)

Ishiwata, H.: **Food safety assurance on international trading**  
Seminar on Food Additives/Violation Cases of Food/Rapid Test Methods, Bangkok, Thailand (1995. 1)

武田由比子, 吉田 良\*, 坂元史歩, 杉田たき子, 川崎洋子, 石綿 肇, 山田 隆: **一酸化炭素処理魚肉中の一酸化炭素濃度とその消長について**  
日本食品衛生学会第 69 回学術講演会 (1995. 5)

\* 日本大学農獣医学部

米谷民雄, 岩崎京子, 久保田浩樹, 山田 隆: **マルチールおよびコウジ酸の共存下におけるアルミニウムの体内挙動**  
第 5 回日本微量元素学会 (1994. 6)

米谷民雄, 久保田浩樹, 鈴木資子, 山田 隆: **カドミウム 1 回投与時の肝障害および連続投与時の腎機能異常におけるマウス系統差**  
日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

合田幸広, 米谷民雄, 山田 隆, 加藤喜昭\*<sup>1</sup>, 中村幹雄\*<sup>1</sup>, 寺原典彦\*<sup>2</sup>, 山口雅篤\*<sup>2</sup>: **傾斜磁場 NMR によるムラサキイモ色素の構造解析**  
日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

\*<sup>1</sup> 三栄源 FFI

\*<sup>2</sup> 南九州大学

合田幸広, 坂元史歩, 米谷民雄, 山田 隆: **高速液体クロマトグラフィーを用いたオパイン分析とその応用—ククモピン, ミキモピンについて—**  
日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

合田幸広, 中西俊元, 坂元史歩, 佐藤恭子, 米谷民雄, 山田 隆: **市販パブリカ (トウガラシ) 色素中の色素成分の分析**  
日本食品衛生学会第 69 回学術講演会 (1995. 5)

加藤喜昭\*, 川原章弘\*, 室井てる子\*, 中村幹雄\*, 山田 隆, 米谷民雄, 合田幸広: **食品中からの天然**

添加物分析法 (その1) LC/MSならびに3D-HPLCを用いたアントシアニン系色素の分析法  
日本食品衛生学会第69回学術講演会 (1995.5)

\* 三栄源 FFI

坂元史歩, 中西俊元, 佐藤恭子, 合田幸広, 米谷民雄, 山田 隆, 布村 伊<sup>\*1</sup>, 石川恵子<sup>\*2</sup>: 各種 *Cap-sicum* 属植物果皮由来の色素成分の分析  
第9回日本香辛料研究会学術講演会 (1994.11)

<sup>\*1</sup> 日本園芸生産研究所

<sup>\*2</sup> 千葉大学園芸学部

久保田浩樹, 米谷民雄, 山田 隆: セイヨウアカネ培養根における種々の金属によるフィトケラチンの誘導と結合金属の分析  
日本薬学会第115年会 (1995.3)

Kawamura, Y., Murayama, M., Saito, Y. and Uchiyama, S.\*: **Thermoluminescence Analysis for Irradiated Spices**  
The International Meeting on Analytical Detection Methods for Irradiation Treatment of Foods, Belfast, United Kingdom (1994.6)

\* Food and Drug Safety Center

Kawamura, Y., Murayama, M., Saito, Y. and Uchiyama, S.\*: **Development of Half-embryo test for Irradiated Citrus Fruits, Apples and Cherries**

The International Meeting on Analytical Detection Methods for Irradiation Treatment of Foods, Belfast, United Kingdom (1994.6)

\* Food and Drug Safety Center

河村葉子, 杉田たき子, 山田 隆, 斉藤行生, 三浦綾\*: **Half-embryo Test** による照射リンゴおよび照射サクランボの検知法  
日本食品衛生学会第68回学術講演会 (1994.10)

\* 共立薬科大学

辰濃 隆\*, 河村葉子, 杉田たき子, 大出 讓\*, 風間成孔\*, 渡辺悠二\*, 小松美博\*, 里見弘治\*, 高橋明\*, 中澤裕之\*, 中村好志\*, 西村正美\*, 馬場二夫\*, 平山クニ\*: **ビスフェノール A およびジフェニルカーボネート**; 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115年会 (1995.3)

\* 日本薬学会 衛生試験法部会 容器・包装専門委員会

河村葉子, 杉田たき子, 山田 隆, 船越かやの\*: **食品用木製器具の安全性に関する研究—木製品中のホルムアルデヒドについて**  
日本食品衛生学会第69回学術講演会 (1995.5)

\* 日本大学農獣医学部

杉田たき子, 河村葉子, 山田 隆: **ポリスチレン製品の溶出試験におけるオリーブ油中のスチレンおよびエチルベンゼンの分析**

日本食品衛生学会第69回学術講演会 (1995.5)

馬場二夫\*, 仲村智子\*, 森田 茂\*, 河村葉子, 杉田たき子, 山田 隆: **食品用木製器具の安全性に関する研究—材質中の金属含有量およびその溶出について**

日本食品衛生学会第69回学術講演会 (1995.5)

\* 大阪市立環境科学研究所

丹野雅幸, 末吉祥子, 宮田直樹: **芳香族 N-ニトロソ尿素類の固体状態における熱分解: 一酸化窒素およびトリアゼンの選択的生成反応**

第20回反応と合成の進歩シンポジウム-ライフサイエンスを志向した理論, 反応および合成 (1994.11)

福原 潔, 内藤有紀, 宮崎 淳, 上田ゆみ子, 宮田直樹: **ニトロアレーンのキノン誘導体による酸化的DNA障害**

日本環境変異原学会第23回大会 (1994.11)

山越葉子, 葛 蔚穎\*, 杉田 淳\*, 岡山和也\*, 高橋たみ子\*, 小泉 徹\*: **2-エキソ-ヒドロキシ-10-ボルニルスルフィニルアクリル酸誘導体を用いる不斉 Diels-Alder 反応の研究**

日本薬学会北陸支部91回例会 (1994.12)

\* 富山医科薬科大学薬学部

宮田直樹: **生体内で NO を発生する化合物**

第7回生体フリーラジカル実験交流会 (1994.12)

宮田直樹: **フラレンの *in vitro* 生物作用**

第8回フラレン総合シンポジウム (1995.1)

末吉祥子, 丹野雅幸, 平野恵子, 福原 潔, 宮田直樹: **代謝活性型 NO 発生化合物の合成と NO 発生能**

日本薬学会第115年会 (1995.3)

丹野雅幸, 末吉祥子, 平野恵子, 宮田直樹: **簡易型 NO 測定法を利用した NO-Donating 化合物の評価**

日本薬学会第115年会 (1995.3)

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 (3)**

日本薬学会第115年会 (1995.3)

栗原正明, 袴田 航, 宮田直樹: **ジオキシシランを用いた酸化反応 (5) 立体選択的エポキシ化反応の応用**

日本薬学会第115年会 (1995.3)

山越葉子, 葛 蔚穎\*, 岡山和也\*, 高橋たみ子\*,

小泉 徹\*: 2-エキソ-ヒドロキシ-10-ボルニルスル  
フィニルアクリル酸誘導体の不斉 Diels-Alder 反  
応の研究 2.

日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

\* 富山医科薬科大学薬学部

内藤有紀, 福原 潔, 宮田直樹: キノンによる核酸  
の酸化的損傷反応の化学的解析

日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

丹野雅幸, 末吉祥子, 宮田直樹, 梅原 薫\*: 一酸  
化窒素 (NO) 発生剤の研究 (1): 自発発生化合物  
の開発と NO 検出法

第 17 回磁気共鳴医学会 (1995. 5)

\* 静岡県立大学薬学部

末吉祥子, 丹野雅幸, 平野恵子, 宮田直樹, 小野景  
義, 佐竹元吉: 一酸化窒素 (NO) 発生剤の研究  
(2): Biotransformation モデル化合物の合成と  
NO 発生および筋弛緩作用

第 17 回磁気共鳴医学会 (1995. 5)

世良暢之\*, 常盤 寛\*, 山越葉子, 宮田直樹:  
Ames 試験を用いた C<sub>60</sub> の変異原性

第 7 回 C<sub>60</sub> 総合シンポジウム (1994. 8)

\*1 福岡県保健環境研究所

\*2 九州女子大学

大森清美\*, 岸 美智子\*, 福原 潔, 宮田直樹: ニ  
トロアレーン類の変異原性に及ぼすキノン化合物の  
影響

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

\* 神奈川衛研

岩田修永\*, 向井敏二\*, 山越葉子, 原 修一\*,  
梁瀬武史\*, 庄司宗介\*, 遠藤任彦\*, 宮田直樹:  
肝グルタチオン S-トランスフェラーゼおよびグル  
タチオン関連酵素活性に及ぼす炭素クラスター  
(C<sub>60</sub>) の影響

第 8 回フラーレン総合シンポジウム (1995. 1)

\*1 東京医科大学

\*2 東京都監察医務院

世良暢之\*, 常盤 寛\*, 山越葉子, 宮田直樹: 活  
性酸素感受性株を用いた C<sub>60</sub> の突然変異誘発能の解  
析

第 8 回フラーレン総合シンポジウム (1995. 1)

\*1 福岡県保健環境研究所

\*2 九州女子大学

斎藤嘉朗, 手島玲子, 山崎 壮, 池淵秀治, 澤田純  
一: ヒト成長ホルモン受容体の down-regulation  
の機構について

第 67 回日本生化学会大会 (1994. 9)

斎藤嘉朗, 山崎 壮, 澤田純一: ヒト IM-9 細胞に  
おける成長ホルモン結合蛋白の生成

第 47 回日本細胞生物学会大会 (1994. 9)

斎藤嘉朗, 山崎 壮, 池淵秀治, 澤田純一: ヒト  
IM-9 細胞における成長ホルモン結合蛋白の生成機  
構について

日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

蜂須賀暁子, 山崎 壮, 澤田純一, 三森国敏, 高橋  
道人, 井上和秀, 高仲 正: Opioid-binding cell  
adhesion molecule (OBCAM) の組織分布

第 67 回日本生化学会大会 (1994. 9)

蜂須賀暁子, 中島 治, 山崎 壮, 三森国敏, 高橋  
道人, 澤田純一: オピオイド結合タンパク (OB-  
CAM) のラットにおける発現

日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

Teshima, R., Ikebuchi, H., Sawada, J. and Na-  
kanishi, M.: The Role of Protein Tyrosine  
Phosphorylation in Calcium Signaling and His-  
tamine Secretion of RBL-2H3 Cells

The 85th Annual Meeting of American Society for  
Biochemistry and Molecular Biology, Washington  
DC, USA (1994. 5)

\* 名古屋市立大学薬学部

古野忠秀\*, 堀越由美子\*, 手島玲子, 澤田純一, 中  
西 守\*: 好塩基球のカルシウムシグナルと CD63  
抗原の動態

第 67 回日本生化学会大会 (1994. 9)

\* 名古屋市立大学薬学部

手島玲子, 池淵秀治, 澤田純一, 古野忠秀\*, 中西  
守\*: 好塩基球の pervanadate 刺激に伴う Ca<sup>2+</sup> 動  
態ならびに CD63 抗原の細胞膜への移行について

第 67 回日本生化学会大会 (1994. 9)

\* 名古屋市立大学薬学部

手島玲子, 池淵秀治, 澤田純一, 木谷誠一\*, 一戸  
正勝: Wallemia sebi 中に存在するアレルゲンの解  
析

第 44 回日本アレルギー学会 (1994. 10)

\* 東京大学医学部

木谷誠一\*, Niu Yeen Wen\*, 冠真理子\*, 森田寛\*,  
伊藤幸治\*, 手島玲子: Sodium vanadate と H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  
との好塩基球からのヒスタミン遊離に及ぼす影響

第 44 回日本アレルギー学会 (1994. 10)

\* 東京大学医学部

北嶋 聡, 門馬純子, 津田充寿, 黒川雄二, 手島玲  
子, 澤田純一: ジブチルハイドロキシキノンのラッ  
ト好塩基球由来細胞への影響

## 第68回日本薬理学会 (1995.3)

手島玲子, 池淵秀治, 澤田純一, 中西 守\*: 変異 IgE 受容体導入肥満細胞の Ca<sup>2+</sup> 動態の解析  
日本薬学会第115年会 (1995.3)

\* 名古屋市立大学薬学部

岡田昌二<sup>\*1</sup>, 池淵秀治, 寺尾允男, 岩島 清<sup>\*2</sup>, 笠井 篤<sup>\*3</sup>, 木村敏正<sup>\*4</sup>, 野口正安<sup>\*4</sup>, 武田 洋<sup>\*5</sup>, 森田茂樹<sup>\*6</sup>: 放射性物質試験法・改訂の概要  
日本薬学会第115年会 (1995.3)

<sup>\*1</sup> 静岡県立大学薬学部

<sup>\*2</sup> 環境管理センター

<sup>\*3</sup> 数理統計係

<sup>\*4</sup> 日本分析センター

<sup>\*5</sup> 放射線医学総合研究所

<sup>\*6</sup> 茨城県公害技術センター

池淵秀治, 岡田昌二<sup>\*1</sup>, 寺尾允男, 岩島 清<sup>\*2</sup>, 笠井 篤<sup>\*3</sup>, 木村敏正<sup>\*4</sup>, 野口正安<sup>\*4</sup>, 武田 洋<sup>\*5</sup>, 森田茂樹<sup>\*6</sup>: 放射性物質試験法・放射能測定法について  
日本薬学会第115年会 (1995.3)

<sup>\*1</sup> 静岡県立大学薬学部

<sup>\*2</sup> 環境管理センター

<sup>\*3</sup> 数理統計係

<sup>\*4</sup> 日本分析センター

<sup>\*5</sup> 放射線医学総合研究所

<sup>\*6</sup> 茨城県公害技術センター

池淵秀治, 岡田昌二<sup>\*1</sup>, 寺尾允男, 岩島 清<sup>\*2</sup>, 笠井 篤<sup>\*3</sup>, 木村敏正<sup>\*4</sup>, 野口正安<sup>\*4</sup>, 武田 洋<sup>\*5</sup>, 森田茂樹<sup>\*6</sup>: 放射性物質試験法・個別放射性核種について  
日本薬学会第115年会 (1995.3)

<sup>\*1</sup> 静岡県立大学薬学部

<sup>\*2</sup> 環境管理センター

<sup>\*3</sup> 数理統計係

<sup>\*4</sup> 日本分析センター

<sup>\*5</sup> 放射線医学総合研究所

<sup>\*6</sup> 茨城県公害技術センター

嶺岸謙一郎, 広瀬明彦, 金子豊蔵, 黒川雄二, 高橋 惇: 5-FP (ペンタフルオロプロパノール) のラットにおける毒性と代謝  
第20回環境トキシコロジーシンポジウム (1994.9)

鈴木和博, 田中寿一, 最上(西巻)知子, 山口照英, 押澤 正, 早川堯夫, 高橋 惇: 分化型 HL-60 細胞の活性化時に脱リン酸化される蛋白について  
第67回日本生化学会大会 (1994.9)

鈴木和博, 山口照英, 田中寿一, 最上(西巻)知子, 早川堯夫, 高橋 惇: 白血球の活性化時に脱リン酸化される蛋白について

## 第47回日本細胞生物学会大会 (1994.9)

最上(西巻)知子, 鈴木和博, 高橋 惇: ホスファチジルエタノールアミン N-メチル化を介する肝 VL-DL 分泌調節機構  
日本薬学会第115年会 (1995.3)

田中寿一, 鈴木和博, 山口照英, 最上(西巻)知子, 山本一夫\*, 辻 勉\*, 入村達郎\*, 早川堯夫, 高橋 惇: 分化型 HL-60 細胞の活性酸素産生時に脱リン酸化される蛋白質の同定  
第17回日本分子生物学会年会 (1995.12)

\* 東京大学薬学部

棚元憲一, 飯田貴敏, 安住聡子, 配島由二, 熊田秀文\*, 梅本俊夫\*: Porphyromonas gingivalis リピド A の生物活性: 特に内毒素不応性マウスに対する作用  
第68回日本細菌学会総会 (1995.3)

\* 神奈川歯科大

安住聡子, 谷村顕雄<sup>\*1</sup>, 小島保彦<sup>\*2</sup>, 高橋 徹<sup>\*2</sup>, 棚元憲一: 桂皮中に存在する内毒素活性抑制物質の性状  
第68回日本細菌学会総会 (1995.3)

<sup>\*1</sup> 昭和女子大

<sup>\*2</sup> 山之内製薬・健康科学研

飯田貴敏, 加藤仁美, 配島由二, 田中 彰\*, 棚元憲一: 無毒性内毒素リピド A の化学構造  
第68回日本細菌学会総会 (1995.3)

\* 昭和薬科大学

配島由二, 隅田泰生\*, 深瀬浩一\*, 楠本正一\*, 棚元憲一: 内毒素活性体-アタゴニスト構造体交換の決定因子証明のためのリピド A 類縁体の化学合成  
第68回日本細菌学会総会 (1995.3)

\* 大阪大学理学部

渡辺清子\*, 熊田秀文\*, 梅本俊夫\*, 配島由二, 棚元憲一: Porphyromonas gingivalis 精製リピド A のサイトカイン産生誘導能  
第68回日本細菌学会総会 (1995.3)

\* 神奈川歯科大

久恒和仁<sup>\*1</sup>, 一色恭徳<sup>\*2</sup>, 佐野保広<sup>\*1</sup>, 配島由二: O1 コレラ菌のイナバ抗原因子をもつ Vibrio fluvi-  
alis 181-86 (Kobe) の O 抗原リポ多糖 (LPS) の構造解析  
第68回日本細菌学会総会 (1995.3)

<sup>\*1</sup> 城西大学

<sup>\*2</sup> 北里研究所

石渡尚子, 谷村顕雄, 宮原美知子, 三瀬勝利: チフ

ス菌由来の制限酵素産生プラスミドの性状について  
日本食品衛生学会第 68 回学術講演会 (1994. 10)

石渡尚子, 谷村顕雄, 宮原美知子, 三瀬勝利: チフ  
ス菌由来の StyD4I 制限酵素遺伝子のクローニング  
と解析

第 17 回日本分子生物学会 (1994. 12)

宮原美知子, 大久保豊司, 三瀬勝利: 黄色ブドウ球  
菌からの制限酵素の検索

第 68 回日本細菌学会総会 (1995. 3)

宮原美知子, 三瀬勝利: 黄色ブドウ球菌の制限酵素  
日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

小沼博隆: 食品衛生における微生物制御の基本的考  
え方

日本防菌防霉学会第 21 回年次大会 (1994. 5)

Konuma, H., Shinagawa, K.\*<sup>1</sup> and Okayama,  
H.\*<sup>2</sup>: Establishment of Evaluation Methods for  
Microbial Controls at Beef Slaughterhouses in  
Japan

40th International Congress of Meat Science and  
Technology, Hague, Netherlands (1994. 8)

\*<sup>1</sup> Faculty of Agriculture, Iwate University

\*<sup>2</sup> Environmental Health Bureau, Ministry of  
Health & Welfare

後藤公吉\*<sup>1</sup>, 増田高志\*<sup>2</sup>, 村山尚子\*<sup>3</sup>, 今井忠平\*<sup>4</sup>,  
小沼博隆, 品川邦汎\*<sup>5</sup>: 卵殻表面汚染サルモネラの  
洗浄殺菌法について

第 15 回日本食品微生物学会学術総会 (1994. 11)

\*<sup>1</sup> 新潟県衛生公署研究所

\*<sup>2</sup> 静岡県衛生環境センター

\*<sup>3</sup> 山形県衛生研究所

\*<sup>4</sup> 全国鶏卵加工協議会

\*<sup>5</sup> 岩手大学

小沼博隆: 食品製造における微生物管理

第 15 回日本食品微生物学会学術総会 (1994. 11)

上田成子\*<sup>1</sup>, 桑原祥浩\*<sup>1</sup>, 安形則雄\*<sup>2</sup>, 小沼博隆,  
品川邦汎\*<sup>3</sup>: 豆腐原料大豆と豆腐の *Bacillus thur-*  
*tingiensis* について

第 15 回日本食品微生物学会学術総会 (1994. 11)

\*<sup>1</sup> 女子栄養大学

\*<sup>2</sup> 名古屋市衛生研究所

\*<sup>3</sup> 岩手大学

安形則雄\*<sup>1</sup>, 森 正司\*<sup>1</sup>, 小沼博隆, 品川邦汎\*<sup>2</sup>:  
*Bacillus cereus* による嘔吐型食中毒と HEp-2 細胞  
空胞化因子との関連

第 15 回日本食品微生物学会学術総会 (1994. 11)

\*<sup>1</sup> 名古屋市衛生研究所

\*<sup>2</sup> 岩手大学

小沼博隆: 卵加工過程とサルモネラ

第 10 回日本獣医畜産大学学術交流会 (1994. 11)

酒井綾子, 山越葉子, 宮田直樹: フラーレンの安全  
性の研究—培養細胞トランスフォーメーション試験  
を用いて

第 7 回 C60 総合シンポジウム (1994. 8)

酒井綾子: BALB/3T3 細胞トランスフォーメーシ  
ョンに及ぼす BHA の促進作用の解析

第 53 回日本癌学会総会 (1994. 10)

外側正之\*, 一戸正勝, 成田紀子, 鈴木明子\*: アテ  
モヤの立枯れ症状から分離された *Fusarium de-*  
*cemcellulare*

平成 6 年度日本植物病理学会大会 (1994. 4)

\* 静岡柑橘試

高橋治男\*<sup>1</sup>, 鈴木明子, 成田紀子, 菊池 裕, 田端  
節子\*<sup>2</sup>, 上村 尚\*<sup>2</sup>, 一戸正勝\*<sup>3</sup>: 本邦南西諸島畑  
地土壌における *Aspergillus flavus* および *A. par-*  
*asiticus* の分布について

日本食品衛生学会第 68 回学術講演会 (1994. 10)

\*<sup>1</sup> 千葉県衛生試験所

\*<sup>2</sup> 都立衛生試験所

\*<sup>3</sup> 東京家政大学

Kikuchi, Y., Yamada, M., Takatori, K. and  
Ichinoe, M.\*: Mouse minisatellite DNA probe  
detects the aflatoxin productivity in *Aspergillus*  
*flavus*

8th Int. symposium on toxic microorganisms  
(1994. 11)

\* 東京家政大学

上猶 稔\*<sup>1</sup>, 中野達也, 神沼二真: スーパーバソ  
ン上の分子計算環境

化学ソフトウェア学会 '94 研究討論会 (1994. 8)

\*<sup>1</sup> (株)アドイン研究所

平山令明\*<sup>1</sup>, 長谷川式子, 中野達也, 山本 都, 神  
沼二真, 河野光男\*<sup>2</sup>: 構造情報をもつ副作用デー  
タベースの開発

化学ソフトウェア学会 '94 研究討論会 (1994. 8)

\*<sup>1</sup> 東海大学

\*<sup>2</sup> (株)日本医薬情報センター

中野達也, 神沼二真: 分子の 3 次元構造に基づいた  
原子電荷の近似計算法

1994 年分子構造総合討論会 (1994. 9)

上猶 稔\*<sup>1</sup>, 向井礼子\*<sup>1</sup>, 中野達也, 仲西 功\*<sup>2</sup>,  
平山令明\*<sup>3</sup>, 神沼二真: Windows 上の発がん・変異



## 原物質データベース

第17回情報化学討論会 (1994. 11)

\*1 (株)アドイン研究所

\*2 藤沢薬品工業(株)

\*3 東海大学

中野達也, 神沼二真: 分子の3次元構造に基づいた電荷分布の近似計算法

日本化学会第69春季年会 (1995. 3)

Nakata, K.: Secondary Structure Analysis of Protein Sequences

Protein Society Eighth Symposium, San Diego, California, USA (1994. 7)

中田琴子, 神沼二真: 受容体データベースの高次化

第17回日本分子生物学会年会 (1994. 12)

Nakata, K.: Protein Secondary Structure Analysis Using Neural Network

Genome Informatics Workshop V, Yokohama (1994. 12)

関沢 純, 大島輝夫\*1, 武井玲子\*2, 河岸園子\*3: 化学品のリスクコミュニケーションにおける「表示」の役割

日本リスク研究学会第7回研究発表会 (1994. 11)

\*1 化学品安全管理研究所

\*2 ライオン(株)

\*3 昭和女子大学

Yamamoto, M.: Translation of International Chemical Safety Cards (ICSC) into Japanese

International Workshop on Chemical Safety &amp; Chemical Hazard Communication, Alexandria, Egypt (1994. 10)

長谷川式子, 中野達也, 山本 都, 神沼二真, 平山令明\*1, 川出 達\*2, 河野光男\*3: 医薬品の適正使用のためのデータベースの開発—構造情報を有するデータベースの作成—

日本薬学会第115年会 (1995. 3)

\*1 東海大学

\*2 データインデックス KK

\*3 日本医薬情報センター

五十嵐貴子, 古谷利夫\*1, 灘岡陽子\*2, 湯川真澄, 三輪錠司\*3, 神沼二真: リン酸化と脱リン酸化のデータベース化

第17回情報化学討論会 (1994. 11)

\*1 山之内製薬(株)

\*2 (株)都臨床研

\*3 日本電気(株)

五十嵐貴子, 灘岡陽子\*1, 神沼二真: ACEDB を用

いた信号伝達ネットワークの表現

第17回日本分子生物学会年会 (1994. 12)

\*1 (株)都臨床研

Igarashi T., Nadaoka Y.\*1, Kaminuma T.: Data and knowledge base for cell signaling networks  
ACEDB Conference 95, California, U.S.A. (1995. 5)

\*1 Tokyo Metropolitan Inst. Med. Sci.

大竹千代子, 由井秀人\*1, 中野達也, 神沼二真: WWWサーバによる化学物質安全性情報の提供

第17回情報化学討論会 (1994. 11)

\*1 富士通エフ・アイ・ピー

梅村隆志, 佐井君江, 高木篤也, 長谷川隆一, 黒川雄二: A possible role of oxidative damage to nuclear DNA in potassium bromate carcinogenesis

日本環境変異学会・日本放射線影響学会共同シンポジウム (1994. 5)

梅村隆志, 黒川雄二, Gebhardt, R.\*1, Schurz, C.\*1, Williams, G. M.\*2: p-Dichlorobenzene (p-DCB) 投与におけるラットおよびマウス肝臓および腎臓の細胞増殖と発癌性との関連性について

第53回日本癌学会 (1994. 10)

\*1 Universitat Tubingen, Germany

\*2 American Health Foundation, U.S.A.

梅村隆志, 佐井君江, 高木篤也, 長谷川隆一, 黒川雄二: A possible role for oxidative stress in potassium bromate carcinogenesis

第7回国際フリーラジカル学会 (1994. 11)

梅村隆志, 加藤(佐井)君江, 斎藤 実, 長谷川隆一, 黒川雄二, 谷村顕雄: ペンタクロロフェノール投与によるマウス肝細胞増殖と酸化了的 DNA 損傷

第11回日本毒性病理学会 (1995. 1)

落合敏秋\*1, 二村芳弘\*1, 牧野博通\*2, 斎藤敬司\*2, 辻紘一郎\*2, 降矢 強, 松本 清司\*3: チンチラの血液学的検査値 (第一報)

第41回日本実験動物学会 (1994. 5)

\*1 持田製薬(株)

\*2 CSK リサーチパーク(株)

\*3 信州大学医学部

二村芳弘\*1, 落合敏秋\*1, 小田康弘\*2, 斎藤敬司\*2, 辻紘一郎\*2, 降矢 強, 松本清司\*3: チンチラの血液性状について (第二報)

第41回日本実験動物学会 (1994. 5)

\*1 持田製薬(株)

\*2 CSK リサーチパーク(株)

\*3 信州大学医学部

長谷川隆一, 高木篤也, 佐井君江, 梅村隆志, 黒川雄二: 2-ニトロプロパンによるラット肝 DNA 酸化損傷に対する抗酸化物質の影響  
第 53 回日本癌学会総会 (1994. 10)

佐井君江, Carles A. Tyson\*, David W. Thomas\*, 長谷川隆一, 黒川雄二: ラット腎近位尿管を用いた *in vitro* の臭素酸カリウムによる 8-hydroxy-deoxyguanosine の生成  
第 53 回日本癌学会総会 (1994. 10)

\* SRI International/(USA)

長谷川隆一, 梅村隆志, 加藤(佐井)君江, 古川文夫, 西川秋佳, 黒川雄二: テオール化合物の鉄ニトリロ三酢酸投与によるラット腎臓 DNA 中の 8-ハイドロキシデオキシグアノシン生成に対する抑制効果  
第 23 回日本環境変異原学会 (1994. 11)

北嶋 聡, 門馬純子, 津田充宥, 黒川雄二, 手島玲子, 澤田純一: ジブチルヒドロキノンの好塩基球由来培養細胞への影響  
第 68 回日本薬理学会年会 (1995. 3)

門馬純子, 関口裕巳, 金沢由基子\*, 鹿庭正昭, 川崎 靖, 津田充宥, 黒川雄二: ホルムアルデヒドおよびグルタルアルデヒドのモルモットにおける皮膚感作性ならびに抗原性について  
第 21 回日本毒科学学会学術年会 (1994. 6)

\* 食品薬品安全センター

Momma, J., Kitajima, S., Isama, K., Kaniwa, M., Kojima, K.\*<sup>1</sup>, Yokoyama, Y.\*<sup>2</sup>, Hirao, M.\*<sup>2</sup>, Tsuda, M. and Kurokawa M.: Skin sensitization potencies of the selected aldehydes in guinea pigs  
10th International Symposium on Contact Dermatitis, Nagoya (1995. 3)

\*<sup>1</sup> Hatano Research Institute of Food and Drugs Safety Center, Kanagawa

\*<sup>2</sup> Vision Care Division, Hoya Coporation, Saitama

川崎 靖, 梅村隆志, 齊藤 実, 門馬純子, 松島裕子, 関口裕巳, 松本真美, 伊佐間和郎, 津田充宥, 黒川雄二: ゴム老化防止剤 2-Mercaptobenzimidazole のラット 28 日間経口投与による甲状腺障害について  
第 21 回日本毒科学学会学術年会 (1994. 6)

金子豊蔵, 門馬純子, 井上 達, 鈴木登志郎, 柿島博, 増田光揮, 小林敏明, 高伸 正他: ドレイズ眼粘膜刺激性試験代替法の一次バリデーションのためのドレイズ試験とその病理組織学的検討  
第 21 回日本毒科学学会学術年会 (1994. 6)

小泉修一: ATP 応答に対する亜鉛イオンの作用

第 25 回クロム親和細胞研究会 (1994. 5)

井上和秀: 培養海馬神経回路網における ATP の神経伝達物質としての働き  
生理学研究所シンポジウム「神経回路の成立, 維持および調節」, 岡崎 (1994. 6)

宮島敦子, 籾内桃子, 張 宝旭, 大野泰雄, 高伸正: カルバメート系農薬の遊離肝細胞および SIRC 細胞に及ぼす影響  
日本毒科学学会第 21 回学術年会 (1994. 6)

籾内桃子, 宮島敦子, 張 宝旭, 大野泰雄, 高伸正: カルバメート系農薬の初代培養肝細胞に及ぼす影響  
日本毒科学学会第 21 回学術年会 (1994. 6)

Koizumi, S., Nakazawa, K., Ikeda, M., Inoue, K., Obama, T., Fujimori, K., Takanaka, A. and Inoue, K.: Enhancement by zinc of ATP-evoked responses in rat pheochromocytoma PC12 cells  
The 12th International Congress of Pharmacology (1994. 7)

Inoue, K.: Facilitation by zinc of ATP-evoked responses and neurotransmission in rat hippocampal neurons  
12th International Congress of Pharmacology, Montreal, Quebec, Canada (1994. 7)

Guo X.\*<sup>1</sup> and Ohno, Y.: Photodynamic killing of hepatocytes by desferrioxamine  
12th International congress on Pharmacology, Toronto, Canada (1994. 7)

\*<sup>1</sup> 北京医科大学

Kamikawa, Y.\*<sup>1</sup>, Uchida, K.\*<sup>1</sup>, Shimo, Y.\*<sup>1</sup>, Mochizuki, T.\*<sup>2</sup>, Yanaihara, N.\*<sup>2</sup> and Ohno, Y.: Inhibitory neuromodulation by human galanin on cholinergic transmission in human bronchi  
12th International congress on Pharmacology, Toronto, Canada (1994. 7)

\*<sup>1</sup> 独協医科大学

\*<sup>2</sup> 静岡薬科大学

大野泰雄: [1] 新薬の評価-基礎的側面-1. トキシコネティクスの導入とその意義  
第 100 回日本医学会シンポジウム (1994. 8)

大野泰雄: 安全性評価のための国際ハーモナイゼーションと薬剤開発  
第 10 回日本薬剤学会シンポジウム (1994. 9)

Nakazawa, K. and Inoue, K.: ATP-activated channels in neuronal cells and their modifications by endogenous substances

17th Annual Meeting of European Neuroscience Association, Vienna, Austria (1994. 9)

Nakazawa, K., Inoue, K., Watano, T., Koizumi, S., Fujimori, K. and Inoue, K.: **Suppression by zinc of cationic conductance that may underlie facilitation of neurotransmission in rat hippocampal neurons**

International Academy for Biomedical and Drug Research, Academy Workshops, Tokyo (1994. 10)

井上かおり<sup>\*1</sup>, 中澤憲一, 井上和秀, 藤森観之助, 高仲 正, 大野泰雄, 板垣 宏<sup>\*1</sup>, 加藤 忍<sup>\*1</sup>, 小林敏明<sup>\*1</sup>, 黒岩幸雄<sup>\*2</sup>: **化粧品原料の神経細胞に対する影響の検討 (電気生理学的手法および細胞毒性による評価)**

日本動物実験代替法学会第8回大会 (1994. 11)

<sup>\*1</sup> 資生堂(株)安全性・分析センター

<sup>\*2</sup> 昭和大学薬学部

大野泰雄, 金子豊蔵, 小林敏明<sup>\*1</sup>, 井上 達<sup>\*2</sup>, 吉田武美<sup>\*3</sup>, 林 真, 門馬純子, 大野忠夫<sup>\*4</sup>, 藤井昭男<sup>\*1</sup>, 増田光輝<sup>\*1</sup>, 秋山純一<sup>\*1</sup>, 板垣 宏<sup>\*1</sup>, 大越健自<sup>\*1</sup>, 奥村秀信<sup>\*1</sup>, 柿島 博<sup>\*1</sup>, 笠井 裕<sup>\*1</sup>, 栗下昭弘<sup>\*1</sup>, 小島肇夫<sup>\*1</sup>, 西条 薫<sup>\*4</sup>, 坂本一民<sup>\*1</sup>, 杉浦秀次<sup>\*1</sup>, 高野勝弘<sup>\*1</sup>, 辰見 寿<sup>\*1</sup>, 谷 尚子<sup>\*1</sup>, 千葉勝由<sup>\*1</sup>, 中村恒彰<sup>\*1</sup>, 松川清治<sup>\*1</sup>, 松重知保<sup>\*1</sup>, 高仲 正: **化粧品原料の安全性評価のための眼刺激性試験代替法の二次バリデーションの結果について**

日本動物実験代替法学会第8回大会 (1994. 11)

<sup>\*1</sup> 日本化粧品工業連合会

<sup>\*2</sup> 横浜市立大学医学部

<sup>\*3</sup> 昭和大学薬学部

<sup>\*4</sup> 理化学研究所・ジーンバンク

Inoue, K., Nakazawa, K., Koizumi, S., Ikeda, M. and Inoue, K.: **Facilitation by zinc of ATP-activated currents and dopamine release in PC12 cells**

The 24th Annual Meeting of Society for Neuroscience. Miami Beach (1994. 11)

Inoue, K., Nakazawa, K. and Koizumi, S.: **Adenosine 5'-triphosphate mediates synaptic responses causing intracellular calcium increase in hippocampal neurons**

2nd International Congress of Pathophysiology, Kyoto (1994. 11)

Koizumi, S., Ikeda, M., Inoue, K., Nakazawa, K., Ohno, Y. and Inoue, K.: **Enhancement by zinc of ATP-evoked dopamine release from rat pheochromocytoma cells**

International Academy for Biomedical and Drug Research (1994. 11)

井上和秀: **PC12細胞でのアデノシンによるATP誘発反応のGTP-binding proteinを介する両方向性制御**

第18回日本神経科学大会 (1994. 12)

宮島敦子, 菊池淑子<sup>\*1</sup>, 東江昭夫<sup>\*1</sup>, 榎本武美<sup>\*2</sup>: **ヒトATPase Q1遺伝子の出芽酵母相同遺伝子(TPS1)の機能の解析**

第17回日本分子生物学会年会 (1994. 12)

<sup>\*1</sup> 東京大学理学部・植物

<sup>\*2</sup> 東京大学薬学部・生理化学

井上和秀, 小泉修一, 中沢憲一: **ATPの神経薬理学的研究**

第68回日本薬理学会年会シンポジウム (1995. 3)

小泉修一, 池田 真, 中沢憲一, 井上かおり, 伊東華奈子, 小浜とも子, 黒田美貴子<sup>\*</sup>, 百瀬和享<sup>\*</sup>, 大野泰雄, 井上和秀: **HaloperidolのATP応答に対する抑制作用**

第68回日本薬理学会年会 (1995. 3)

<sup>\*</sup> 昭和大薬学部

池田 真, 小泉修一, 中沢憲一, 井上かおり, 小浜とも子, 永松國助<sup>\*</sup>, 長谷川明<sup>\*</sup>, 大野泰雄, 井上和秀: **PC12細胞におけるCd<sup>2+</sup>のATP応答に対する増強作用**

第68回日本薬理学会年会 (1995. 3)

<sup>\*</sup> 日本大・薬学部

伊東華奈子, 中沢憲一, 小泉修一, 池田 真, 藤森観之助, 大野泰雄, 竹内幸一<sup>\*</sup>, 井上和秀: **PC12細胞においてニコチン様アセチルコリン受容体を阻害する高ATP, UTP感受性P2受容体**

第68回日本薬理学会年会 (1995. 3)

<sup>\*</sup> 明治薬大

井上和秀, 中沢憲一, 井上かおり, 伊東華奈子, 小泉修一: **P2受容体遮断薬であるスラミン, リアクティブ・ブルー2はラット海馬ニューロンのGABAおよびグルタミン酸受容体チャネルを阻害する**

第68回日本薬理学会年会 (1995. 3)

中澤憲一, 秋山貴美, 井上和秀, 藤森観之助, 大野泰雄: **アフリカツメガエル卵母細胞に発現させたアセチルコリン受容体チャネルに対するアポモルフィンおよび他のドパミン関連化合物の抑制作用**

日本薬理学会第68回年会 (1995. 3)

井上かおり, 中沢憲一, 井上和秀, 藤森観之助, 大野泰雄: **ラット知覚神経細胞においてタキキニン是非選択的カチオンコンダクタンスを活性化する**

日本薬理学会第68回年会 (1995. 3)

小野田欽一, 篠内桃子, 宮島敦子, 張 宝旭, 大野

泰雄, 伊藤好美\*<sup>1</sup>: 肝薬物代謝酵素に及ぼす *Dime-*  
*thylphenyl phosphonic acid* の *in vivo* および *in*  
*vitro* における誘導効果の比較  
日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

\*<sup>1</sup> 第一製薬(株)

Nishikawa, A., Furukawa, F. and Takahashi, M.:  
**Modifying effects of NaCl, KCl and CaCl<sub>2</sub> on**  
**gastric carcinogenesis in rats after initiation**  
**with MNNG**

85th Annual Meeting of the American Association  
for Cancer Research, San Francisco (1994. 4)

三森国敏: 食品中の残留動物用医薬品等の規制に関  
する国際的動向

韓国獣医学会特別講演 (1994. 5)

朝生裕樹\*, 加藤誠司\*, 豊田和弘, 畝山智香子, 川  
西 徹, 百瀬和享\*, 高橋道人: 塩化トリブチル錫  
の初代培養肝細胞に対する細胞毒性とカルシウム反  
応阻害の性質

第 21 回日本毒科学会 (1994. 6)

\* 昭和大学・薬学・薬理

古川文夫, 西川秋佳, 池崎信一郎, 高橋道人: ハム  
スター BOP 誘発膀胱萎縮に対するトリブチンインヒ  
ビターの影響

第 21 回日本毒科学会 (1994. 6)

池崎信一郎, 古川文夫, 今沢孝喜, 西川秋佳, 高橋  
道人: ラットにおけるビタミン D<sub>3</sub> 類縁化合物の長  
期投与の影響

第 21 回日本毒科学会 (1994. 6)

西川秋佳, 古川文夫, 三井雅之, 榎並倫宣, 豊國伸  
哉\*<sup>1</sup>, 内田浩二\*<sup>2</sup>, 高橋道人: 四塩化炭素障害ラッ  
ト肝における脂質過酸化生成物 4-hydroxynonenal  
の局在

第 21 回日本毒科学会 (1994. 6)

\*<sup>1</sup> 京都大学医学部

\*<sup>2</sup> 名古屋大学農学部

安原加寿雄, 三森国敏, 小野寺博志, 川島邦夫\*,  
高仲 正\*, 高橋道人: 雄性生殖障害の検索法に関  
する研究 (第 1 報) — Adriamycin を用いた形態学  
的精巢毒性評価 —

第 21 回日本毒科学会 (1994. 6)

\* 薬理部

三森国敏: 電顕所見と光顕所見との関係

第 3 回日本毒科学会サテライトシンポジウム  
(1994. 6)

小野寺博志, 三森国敏, 安原加寿雄, 下 武男, 前  
川明彦\*, 高橋道人: 甲状腺の増殖性病変に対する

各種抗甲状腺物質の影響

第 21 回日本毒科学会 (1994. 6)

\* 佐々木研究所病理

下 武男, 三森国敏, 小野寺博志, 安原加寿雄, 前  
川明彦\*, 高橋道人: 甲状腺二段階発がん実験にお  
ける甲状腺増殖性病変発生と血中甲状腺ホルモンの  
関連性について

第 21 回日本毒科学会 (1994. 6)

\* 佐々木研究所病理

川西 徹, 畝山智香子, 高橋道人, 大幡久之\*<sup>1</sup>, 加  
藤誠司\*<sup>1</sup>, 朝生裕樹\*<sup>1</sup>, 百瀬和享\*<sup>1</sup>, 田中 光\*<sup>2</sup>,  
松田智行\*<sup>2</sup>, 重信弘毅\*<sup>2</sup>: 高速走査型共焦点レーザ  
ー顕微鏡を用いたカルシウムウエーブの解析

第 67 回日本生化学会テクニカルセミナー (1994. 9)

\*<sup>1</sup> 昭和大学薬学部

\*<sup>2</sup> 東邦大学薬学部

Mori, Y.\*<sup>1</sup>, Iimura, K.\*<sup>1</sup>, Furukawa, F., Nishi-  
kawa, A., Takahashi, M. and Konishi, Y.\*<sup>2</sup>: **Ciga-**  
**rette smoke (CS), mutagenic activation of car-**  
**cinogens and anticarcinogenesis**

4th International Conference on Antimutagenesis  
and Anticarcinogenesis, Canada (1994. 9)

\*<sup>1</sup> 岐阜薬科大学

\*<sup>2</sup> 奈良医大

今沢孝喜, 西川秋佳, 多田万理子\*, 古川文夫, 池  
崎信一郎, 高橋道人, 林 裕造: 4HAQO 単回投与  
によるラット標的臓器の DNA 付加体形成と核小体  
変化の経時的観察

第 53 回日本癌学会総会 (1994. 10)

\* 愛知がんセンター生化学部

池崎信一郎, 西川秋佳, 古川文夫, 今沢孝喜, 榎並  
倫宣, 高橋道人: MNNG 誘発ラット胃癌におけ  
る NaCl および KCl の影響

第 53 回日本癌学会総会 (1994. 10)

西川秋佳, 古川文夫, 今沢孝喜, 榎並倫宣, 池崎信  
一郎, 林 裕造, 高橋道人: ハムスター BOP 誘発  
肺腫瘍発生における PEITC の影響

第 53 回日本癌学会総会 (1994. 10)

古川文夫, 西川秋佳, 吉村博之, 今沢孝喜, 池崎信  
一郎, 高橋道人: ハムスター BOP 誘発膀胱癌にお  
ける合成ソマトスタチン (SMS) の影響

第 53 回日本癌学会総会 (1994. 10)

安原加寿雄, 小野寺博志, 下 武男, 北浦敬介, 三  
森国敏, 高橋道人, 林 裕造: DHPN 単回投与ラ  
ットにおけるヨード過剰の影響

第 53 回日本癌学会総会 (1994. 10)

川西 徹, 大幡久之\*, 豊田和弘, 高橋道人, 百瀬和享\*, 林 裕造: 培養平滑筋細胞の細胞増殖とカルシウムイオン動態  
第53回日本癌学会総会 (1994.10)

\* 昭和大学薬学部

川西 徹, 豊田和弘, 加藤誠司\*, 大幡久之\*, 百瀬和享\*, 高橋道人: 初代培養肝細胞における細胞内カルシウムイオン貯蔵の画像化  
第91回日本薬理学会関東部会 (1994.10)

\* 昭和大学薬学部

豊田和弘, 畝山智香子, 川西 徹, 三森国敏, 高橋道人: ポリウレタンシート皮下埋植によるラットのMNU誘発腫瘍発生の促進と異物発癌  
第53回日本癌学会総会 (1994.10)

三森国敏, 小野寺博志, 高橋正一\*, 下 武男, 安原加寿雄, 高橋道人, 林 裕造: ラット甲状腺増殖性病変プログレッション期におけるビタミンAの影響  
第53回日本癌学会総会 (1994.10)

\* 佐々木研究所病理

小野寺博志, 三森国敏, 安原加寿雄, 下 武男, 高橋道人, 林 裕造, 高橋正一\*, 菅野 純\*: 作用機序の異なる抗甲状腺作用物質の同時投与によるラット甲状腺増殖性病変の複合作用  
第53回日本癌学会総会 (1994.10)

\*1 佐々木研究所病理

\*2 東京医科歯科大学医学部

下 武男, 小野寺博志, 安原加寿雄, 北浦敬介, 三森国敏, 高橋道人: シアノグアニジンのF344ラットにおける癌原性試験  
第53回日本癌学会総会 (1994.10)

森 幸雄\*, 飯村和徳\*, 古川文夫, 西川秋佳, 高橋道人, 小西陽一\*: ハムスター肝による代謝活性化に対する喫煙の影響  
日本環境変異原学会第23回大会 (1994.11)

\*1 岐阜薬科大学

\*2 奈良医大

加藤誠司\*, 豊田和弘, 大幡久之\*, 百瀬和享\*, 高橋道人, 川西 徹: 共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡を用いた初代培養肝細胞におけるカルシウムウエーブの解析  
第3回バイオイメージング学会 (1994.11)

\* 昭和大学薬学部

黒川典子, 小木曾正\*, 加藤浩司\*, 塚田道子, 三浦絵美, 古川文夫: 小動物用エーテル麻酔器の紹介  
第22回実験病理組織技術研究会 (1994.11)

\* 名古屋市立大学医学部

豊田和弘, 松井 元, 畝山智香子, 川西 徹, 高橋道人: 天然甘味料Stevioside投与によるラットの腸上皮および腸内の細菌叢への影響  
第11回日本毒性病理学会 (1995.1)

松井 元\*, 北嶋修司\*, 岡田希子\*, 豊田和弘, 川西 徹, 高橋道人: ラットの精巢毒性における巨細胞の形成に関する研究  
第11回日本毒性病理学会 (1995.1)

\* 化学血清研究所

池崎信一郎, 西川秋佳, 古川文夫, 今沢孝喜, 榎並倫宣, 福島昭治\*, 高橋道人: プレオマイシン誘発の肺線維化過程における増殖性病変に対する抗酸化剤の抑制効果  
第11回日本毒性病理学会 (1995.1)

\* 大阪市立大学医学部

西川秋佳, 古川文夫, 池崎信一郎, 今沢孝喜, 三井雅之, 榎並倫宣, 高橋道人: ラット胃発癌におけるビタミンD3類縁化合物の影響  
第11回日本毒性病理学会 (1995.1)

今沢孝喜, 西川秋佳, 古川文夫, 池崎信一郎, 吉村博之, 林 裕造, 高橋道人: 4-Hydroxyaminoquinoline 1-oxide投与ラットの膵および肝におけるApoptosisの経時的観察  
第11回日本毒性病理学会 (1995.1)

古川文夫, 西川秋佳, 今沢孝喜, 榎並倫宣, 池崎信一郎, 高橋道人: WBN/Kobラットの自然発症肺炎に対するニコチナミドの影響  
第11回日本毒性病理学会 (1995.1)

安原加寿雄, 三森国敏, 小野寺博志, 下 武男, 高橋道人, 林 裕造: Monocrotaline誘発マウス肺線維症と肺腫瘍との関連性に関する検討  
第11回日本毒性病理学会 (1995.1)

小野寺博志, 三森国敏, 伊藤聖一\*, 田中三菜\*, 今沢孝喜, 安原加寿雄, 高橋道人: Piperonyl butoxideのラット肝発癌メカニズムに関する研究 反復投与における肝病変の形態学的特徴とconnexin 32の変動  
第11回日本毒性病理学会 (1995.1)

\* 住友化学生物環境研究所

高橋道人: 発癌性評価  
第11回日本毒性病理学会 シンポジウム (1995.1)

安原加寿雄, 三森国敏, 今沢孝喜, 小野寺博志, 高橋道人, 林 裕造, 白井 弥\*: MNUR誘発ハムスター肺炎病変における巨大異型上皮細胞の超微形態学的特徴および細胞増殖活性  
第119回日本獣医学会 (1995.3)

\* 日本大学農獣医学部

加藤誠司\*, 豊田和弘, 大幡久之\*, 百瀬和享\*, 高橋道人, 川西 徹: 高速走査型共焦点レーザ顕微鏡によって明らかにされた初代培養肝細胞のカルシウムウェーブのキネティクス

第 68 回日本薬理学会シンポジウム (1995. 3)

\* 昭和大学薬学部

田中 光\*<sup>1</sup>, 加藤由充\*<sup>1</sup>, 中村 竜\*<sup>2</sup>, 川西 徹, 重信弘毅\*<sup>1</sup>: 心筋拍動に伴う核内 Ca<sup>2+</sup> と細胞質 Ca<sup>2+</sup> との動きの差異

第 68 回日本薬理学会 シンポジウム (1995. 3)

\*<sup>1</sup> 東邦大学薬学部

\*<sup>2</sup> ニコン顕微鏡開発部

川西 徹: リアルタイム高分解画像化によって明らかにされた細胞内カルシウムイオンのダイナミクス  
第 5 回レーザ画像計測・処理懇談会 (1995. 3)

Nishikawa, A., Chung, F.-L.\*, Furukawa, F., Imazawa, T., Ikezaki, S., Takahashi, M. and Hayashi, Y.: Chemopreventive effects of phenethyl and 3-phenylpropyl isothiocyanates on lung and pancreatic carcinogenesis initiated with N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine in hamsters  
86th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, Canada (1995. 3)

\* American Health Foundation

早乙女京子\*, 林 真, 祖父尼俊雄: ウニ胚におけるマイトマイシン C による小核の誘発  
染色体学会第 44 回年会 (1993. 9)

\* 横浜市衛生研究所

Tanabe, H., Ishida, T.\*<sup>1</sup>, Ueda, S.\*<sup>1</sup>, Sofuni, T. and Mizusawa, H.: Comparative mapping of the primate immunoglobulin C-epsilon 1 gene homologous to IGHE by FISH  
Human Genome Mapping Workshop 93 (1993. 11)

\*<sup>1</sup> 東京大学理学部

鈴木孝昌: トランスジェニックマウスを用いる変異原性試験

組換え体の高度利用のためのアセスメント手法の開発に関する研究会 (1994. 3)

田辺秀之, 大西清方, 高田容子, 岡戸 清, 祖父尼俊雄, 水沢 博: ヒト急性前骨髄性白血病細胞株 HL-60 およびその変異株 HL-60-RG における染色体構成の比較研究 II

日本組織培養学会第 67 回大会, 岡山 (1994. 4)

鈴木 任, 山田雅巳, 葛西宏\*, 祖父尼俊雄, 能美健彦: *Salmonella typhimurium* mutM<sub>ST</sub> 遺伝子のク

ローニングとその遺伝子破壊: 4-nitroquinoline 1-oxide による mutM<sub>ST</sub> 遺伝子の発現誘導

日本環境変異原学会・日本放射線影響学会合同シンポジウム「活性酸素の生物作用」(1994. 5)

\* 産業医科大学

増井 徹, 山口 聡\*<sup>1</sup>, 岩下新太郎\*<sup>2</sup>: 正常ヒト上皮細胞の増殖停止機構の研究 (I)

第 67 回組織培養学会 (1994. 4)

\*<sup>1</sup> 東京医科歯科大学

\*<sup>2</sup> 三菱化学生命科学研究所

山口 聡\*<sup>1</sup>, 増井 徹: 正常ヒト上皮細胞の増殖停止機構の研究 (II)

第 67 回組織培養学会 (1994. 4)

\*<sup>1</sup> 東京医科歯科大学

水沢 博, 田辺秀之, 岡戸 清, 高田容子, 大西清方: 厚生省細胞バンク

日本微生物資源学会第 1 回大会 (1994. 5)

水沢 博, 田辺秀之, 岡戸 清, 高田容子, 大西清方: 動物細胞バンクにおける情報システム構築の試み

日本微生物資源学会第 1 回大会 (1994. 5)

増井 徹: 正常ヒト上皮細胞の outgrowth 培養系における増殖停止機構

東京都老人科学総合研究所セミナー (1994. 5)

祖父尼俊雄: 遺伝子毒性評価の諸問題—変異原性試験を中心として

第 3 会日本毒科学会サテライトシンポジウム (1994. 6)

Nohmi, T., Yamada, M., Matsui, K., Watanabe, M., Sofuni, T.: Specific gene disruption of *samAB* genes on 60-MDa cryptic plasmid of *Salmonella typhimurium*

Gordon Research Conference (1994. 7)

能美健彦: DNA 修復系: 大腸菌からヒトの癌まで  
東邦大学医学部セミナー (1994. 9)

Masui, T.: Study of growth arrest mechanisms: Changes in EGF receptor cascade and isolation of epithelial topoinhibition inducible (eti) genes  
オランダ国立発生学研究所セミナー (1994. 9)

Masui, T.: Study of growth arrest mechanisms: Changes in EGF receptor cascade and isolation of epithelial topoinhibition inducible (eti) genes  
ヨーロッパ共同体研究班会議 “ヒト細胞のトランスフォーメーション” (1994. 9)

増井 徹, 山口 聡\*<sup>1</sup>, 岩下新太郎\*<sup>2</sup>: Growth re-

**gulation of normal human epithelial cells in an outgrowth culture system**

BSCB Autumn Meeting (1994. 9)

\*1 東京医科歯科大学

\*2 三菱化学生命科学研究所

Zingg, B.\*, Watanabe, M., Pretsch, W.\* and Mohrenweiser, H.\*: **Molecular analysis of triose-phosphate isomerase mutants with reduced enzyme activity in humans and mice**  
American Society of Human Genetics Annual Meeting, Montreal, Canada (1994. 10)

\* Lawrence Livermore National Laboratory, Livermore, USA

小野哲也\*1, 山本和生\*1, 栗下昭弘\*2, 鈴木孝昌, 林 真, 祖父尼俊雄: **Muta-mouse の脾と肝における X 線誘発突然変異**

第 53 回日本癌学会総会 (1994. 10)

\*1 東北大学

\*2 P & G

小野哲也\*1, 宮村佳典\*1, 山本和生\*1, 栗下昭弘\*2, 鈴木孝昌, 林 真, 祖父尼俊雄: **マウスの加齢に伴う体細胞突然変異頻度の変化**

第 18 回日本基礎老化学会 (1994. 10)

\*1 東北大学

\*2 P & G

小野哲也\*1, 宮村佳典\*1, 池畑広伸\*1, 山本和生\*1, 鈴木孝昌, 林 真, 祖父尼俊雄: **Muta マウスを用いた放射線誘発突然変異検出系の問題点**

第 37 回放射線影響学会 (1994. 10)

\*1 東北大学

本間正充, 林 真, 祖父尼俊雄, J. B. Little\*: **X 線によって染色体間組換え型遺伝子突然変異は誘発されるか?**

第 37 回日本放射線影響学会 (1994. 10)

\* Harvard School of Public Health

増井 徹, 山口 聡\*1, 岩下新太郎\*2: **Study of growth arrest mechanisms: Changes in EGF receptor cascade and isolation of epithelial topoinhibition inducible (eti) genes**

The 8th International Conference of the International Society of Differentiation (1994. 10)

\*1 東京医科歯科大学

\*2 三菱化学生命科学研究所

増井 徹, 山口 聡\*1, 岩下新太郎\*2: **正常ヒト上皮細胞の組織片培養におけるトポインヒビション特異遺伝子の単離**

第 53 回日本癌学会大会 (1994. 10)

\*1 東京医科歯科大学

\*2 三菱化学生命科学研究所

河口徳一\*1, 木美知子\*2, 増井 徹, 柳沢昭夫\*1, 山本千恵子\*2, 大田秀雄\*1, 野田哲生\*1, 加藤洋\*1, 北川知行\*1: **家族性大腸腺腫症患者の大腸腺腫より樹立した細胞株 FPCK-1 のプログレッションと遺伝子変異**

第 53 回日本癌学会大会 (1994. 10)

\*1 癌研究所

\*2 東京都臨床研究所

増井 徹, 山口 聡\*1, 岩下新太郎\*2: **Study of growth arrest mechanisms: Changes in EGF receptor cascade and isolation of epithelial topoinhibition inducible (eti) genes**

International Symposium on Wound Healing and Tissue regeneration, Higashi-Hiroshima (1994. 10)

\*1 東京医科歯科大学

\*2 三菱化学生命科学研究所

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・テスター株の開発**

第 35 回大気汚染学会, 癌原性分科会 (1994. 11)

祖父尼俊雄: **試験法プロトコールの国際調整の現状**  
日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

渡辺雅彦: **表現型に基づく選択によらない突然変異の検出**

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

林 真, 鈴木孝昌, 祖父尼俊雄: **複合効果の理論的考察—In vivo 小核誘発性について—**

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

小此木英男\*, 牛島俊和\*落合雅子\*, 細谷曜子\*, 若林敬二\*, 鈴木孝昌, 林 真, 祖父尼俊雄, 杉村隆\*, 長尾美奈子\*: **Big Blue Mouse を用いた MeIQ の発がん機構の解析: 突然変異スペクトラムの臓器特異性の検討**

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

\* 国立がんセンター研究所

鈴木孝昌, 林 真, 落合雅子\*, 牛島俊和\*, 若林敬二\*, 長尾美奈子\*, 祖父尼俊雄: **Big Blue Mouse を用いた MeIQ の発癌機構の解析: 大腸における遺伝子突然変異誘発性**

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

\* 国立がんセンター研究所

岡澤一秀\*1, 山田雅巳, 石野良純\*1, 堀谷尚古\*2, 加藤基恵\*2, 能美健彦, 池田日出男\*3, 祖父尼俊雄, 加藤郁之進\*1: **トランスジェニックマウスを用いる変異原性試験に適した in vitro packaging extract**

## の調製について

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

- \*1 宝酒造
- \*2 食品薬品安全センター
- \*3 東京大学

鈴木 任, 松井恵子, 山田雅巳, 葛西 宏\*, 能美健彦, 祖父尼俊雄: *mutM<sub>S</sub>* 遺伝子破壊サルモネラ株の酸化型変異原に対する感受性

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

- \* 産業医大

祖父尼俊雄, 林 真, 上田高嘉<sup>\*1</sup>, 上野紘一<sup>\*2</sup>, 和田克彦<sup>\*3</sup>, 小嶋吉雄<sup>\*4</sup>, 木苗尚秀<sup>\*5</sup>, 早乙女京子<sup>\*6</sup>, 高井明德<sup>\*7</sup>, 浅野哲秀<sup>\*8</sup>: 水生生物の細胞遺伝毒性を指標とした水質汚染モニタリング法の開発

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

- \*1 宇都宮大学
- \*2 近畿大学
- \*3 養殖研究所
- \*4 日本魚類生物科学研究所
- \*5 静岡県立大学
- \*6 横浜市衛生研究所
- \*7 大阪信愛女学院短期大学
- \*8 日東電工

能美健彦, 加藤基恵\*, 堀谷尚古\*, 山田雅巳, 松井道子, 渡辺雅彦, 祖父尼俊雄: 突然変異検出用トランスジェニックマウスの開発 (I): トランスジェニックマウスの作製と DNA 回収方法の検討

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

- \* 食品薬品安全センター

松井道子, 山田雅巳, 渡辺雅彦, 能美健彦, 祖父尼俊雄: 突然変異検出用トランスジェニックマウスの開発 (II): ポジティブ・セレクション法と *gpt* 遺伝子塩基配列決定法の検討

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

本間正充, 林 真, 祖父尼俊雄: チミジンキナーゼ (*tk*) をターゲットとした遺伝子突然変異の比較: L5178Y vs. TK6

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

L. S. Zhang, M. Honma, T. Suzuki, M. Hayashi and T. Sofuni: A comparative study on the in vitro micronucleus assay using TK6 human lymphoblastoid and L5178Y mouse lymphoma cell lines

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

林 真, Jorma Maki-Paakkanen, 本間正充, 田辺秀之, 水沢 博, 祖父尼俊雄: マウス末梢血中の小核の分離とセントロメアの検出

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

竹本奈緒子\*, 倉田美子\*, 矢嶋信浩\*, 鈴木孝昌, 林 真, 祖父尼俊雄: MutaMouse におけるカラー・セレクション法 (CS) とポジティブ・セレクション (PS) の比較

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

- \* 雪印乳業

岡 宏昭\*, 浅野間光治\*, 河内泰英\*, 阿戸真奈美\*, 大内田昭信\*, 鈴木孝昌, 林 真, 祖父尼俊雄: Hydrazine および 1, 2-dimethyl-hydrazine のラットを用いる小核試験

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

- \* 大鵬薬品

山田雅巳, Barbara Sedgwick\*, 松井恵子, 能美健彦, 祖父尼俊雄: アルキル化剤高感受性サルモネラ株の生化学的性質と自然復帰突然変異

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

- \* ICRF

上田高嘉\*, 大塚章子\*, 林 真, 祖父尼俊雄: タナゴの発生初期胚を用いた染色体異常検出法の検討

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

- \* 宇都宮大学

早乙女京子\*, 林 真, 祖父尼俊雄: ウニ胚を用いる小核試験

日本環境変異原学会第 23 回大会 (1994. 11)

- \* 横浜市衛生研究所

Watanabe, M., Conner, C. P.\*<sup>1</sup>, Zingg, B. C.\*<sup>1</sup>, Chu, E. H.\*<sup>2</sup> and Mohrenweiser, H. W.\*<sup>1</sup>: Screening for de novo mutations in unselected progeny of in vitro mutagenized human cells

Environmental Mutagen Society The Silver Anniversary Meeting, Portland, USA (1994. 5)

- \*<sup>1</sup> Lawrence Livermore National Laboratory, Livermore, USA
- \*<sup>2</sup> University of Michigan, Ann Arbor, USA

渡辺雅彦: 表現型に基づく選択によらない突然変異の検出

JEMS・MMS 分科会第 26 回定例会 (1994. 11)

吉田 哲\*, 古屋伸久\*, 小川俊夫\*, 灰野 和\*, 金秀良, 駒野照弥\*: Inc11 プラスミド Collb, R64 の細織毛の解析

第 17 回日本分子生物学会年会 (1994. 12)

- \* 東京都立大学

能美健彦, 加藤基恵\*, 堀谷尚古\*, 山田雅巳, 松井道子, 渡辺雅彦, 祖父尼俊雄: Cre-lox 系を利用した遺伝子突然変異検出用トランスジェニックマウスの開発

第 17 回日本分子生物学会年会 (1994. 12)



\* 食品薬品安全センター

Petr Gruz, Toshio Sofuni and Takehiko Nohmi: **Establishment of a new system for separate overproduction of MUCA', MUCB, SAMA' and SAMB mutagenesis proteins**

第17回日本分子生物学会年会 (1994.12)

鈴木 任, 祖父尼俊雄, 能美健彦: **Growth phase に依存した大腸菌 *mutM* 遺伝子の発現**

第17回日本分子生物学会年会 (1994.12)

山田雅巳, Graham C. Walker\*, 祖父尼俊雄, 能美健彦: **ミスマッチ修復 (*mutS*, *L*) とアルキル化損傷修復 (*ada*, *ogt*) を欠損したバクテリア株のメチル化剤に対する感受性**

第17回日本分子生物学会年会 (1994.12)

\* MIT, USA

増井 徹: **培養上皮細胞における Contact Inhibition と Topoinhibition**

東京大学農学部セミナー (1994.12)

増井 徹: **正常ヒト上皮細胞の outgrowth 培養系におけるオートクリン増殖機構と増殖停止機構の研究**

大阪大学医学部セミナー (1994.12)

能美健彦: **変異原性試験の新展開: Ames 試験からトランスジェニックマウスまで**

岡山大学薬学部セミナー (1995.1)

能美健彦, Petr Gruz: **突然変異誘発を促進する遺伝子群: 大腸菌 *umuDC* とそのホモログ**

奈良先端科学技術大学院大学セミナー (1995.2)

Suzuki, T., Hayashi, M., Ochiai, M.\*, Nagao, M.\* and Sofuni, T.: **In vivo mutagenicity of 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline in *lacI* transgenic mice (Big Blue™)**

Environmental Mutagen Society 26th Annual Meeting (1995.3)

\* 国立がんセンター研究所

Ushijima, T.\*, Okonogi, H.\*, Hosoya, Y.\*, Ochiai, M.\*, Wakabayashi, K.\*, Suzuki, T., Sofuni, T., Sugimura, T.\* and Nagao, M.\*: **Effect of tissue-specific mutation spectra on tissue-specific carcinogenicity: An extensive study of DNA adduct levels, cell proliferation rate, mutation frequencies, mutational spectra and carcinogenicity using Big Blue mice fed MeIQ**

Environmental Mutagen Society 26th Annual Meeting (1995.3)

\* 国立がんセンター研究所

Ramsey, M. J.\*<sup>1</sup>, Tucker, J. D.\*<sup>1</sup>, Senft, J. R.\*<sup>1</sup>, Nagao, M.\*<sup>2</sup>, Inoue, R.\*<sup>2</sup>, Sofuni, T. and Hayashi, M.: **The frequency of chromosome aberrations in lymphocytes from mice fed MeIQ as measured by chromosome painting**

Environmental Mutagen Society 26th Annual Meeting (1995.3)

\*<sup>1</sup> Lawrence Livermore National Laboratory

\*<sup>2</sup> 国立がんセンター研究所

Takehiko Nohmi, Masami Yamada, Barbara Sedgwick\*, Toshio Sofuni: **DNA repair of alkylated damage in *Salmonella typhimurium***

Keystone Symposium (1995.3)

\* ICRF

Honma, M., Zhang, L., Hayashi, M. and Sofuni, T.: **Comparison of micronucleus and gene mutation in two human lymphoblastoid cell lines TK6, WTK-1 and a mouse lymphoma cell line L5178Y**

26th Annual Meeting of Environmental Mutagen Society (1995.3)

祖父尼俊雄: **化学物質の安全性評価—遺伝毒性の面から**

日本薬学会第115年会 (1995.3)

能美健彦: **SOS 応答と突然変異**

東京大学薬学部「分子遺伝」(1995.5)

田辺秀之, 大西清方, 高田容子, 岡戸 清, 祖父尼俊雄, 水沢 博: **Reverse Chromosome Painting 法によるゲノム DNA の増幅および欠失領域の特定: HL60 およびその変異株 HL60RG の比較研究**

日本組織培養学会第68回大会, 長崎 (1995.5)

鎌田栄一, 會田喜崇, 中館正弘, 浅井義之\*, 鈴木彰\*: **化学物質安全性評価支援システムの開発研究 I. 毒性試験データベースシステムの構築**

第21回日本毒科学会学術年会 (1994.6)

\* 住商情報システム(株)

岡田敏史: **医薬品の品質評価方法について**

大阪府薬務課ブロック研修会 (1994.9)

Okada, S.: **The Role of Pharmacopoeias in International Harmonization - The Japanese Pharmacopoeia**

7th International Pharmaceutical Technology Symposium (1994.9)

四方田千佳子, 宮崎玉樹, 岡田敏史: **注射用デキストランの分子量評価**

第44回日本薬学会近畿支部総会 (1994.10)

四方田千佳子, 岡田敏史: HPLC およびキャピラリー電気泳動によるヒトインスリン製剤中のデアミド体の分析

第 31 回全国衛生化学技術協議会年会 (1994. 6)

四方田千佳子, 岡田敏史: ヒアルロン酸の高分子電解質としての特性

第 7 回高分子ゲル研究討論会 (1995. 1)

宮崎玉樹, 四方田千佳子, 岡田敏史: 機械的破壊力によるヒアルロン酸の分子量変化

日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

四方田千佳子, 岡田敏史: ヒアルロン酸ゲル中の不凍水量

日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

Tanimoto, T.: Characterization of Aldose Reductase and Its Inhibitors

15th International Diabetes Federation Congress, Kobe, Japan (1994. 11)

Hamada, Y.\*<sup>1</sup>, Nishimura, C.\*<sup>2</sup>, Tanimoto, T., Koh, N.\*<sup>1</sup>, Sakakibara, F.\*<sup>1</sup>, Nakamura, J.\*<sup>1</sup> and Hotta, N.\*<sup>1</sup>: Effects of Glycemic Control on the Enzyme Activity Amount and Kinetic Properties of Aldose Reductase in Erythrocyte from Diabetic Patients

15th International Diabetes Federation Congress, Kobe, Japan (1994. 11)

\*<sup>1</sup> 名古屋大学医学部

\*<sup>2</sup> 国立小児病院小児医療研究センター

西村千尋\*, 桂 全\*, 小海康夫\*, 谷本 剛: マウスアルドース還元酵素の構造と機能

第 17 回日本分子生物学会 (1994. 12)

\* 国立小児病院小児医療研究センター

小林達治\*<sup>1</sup>, 筑都昌哉\*<sup>1</sup>, 高橋克典\*<sup>1</sup>, 森 和彦\*<sup>1</sup>, 高橋幸男\*<sup>1</sup>, 赤木好男\*<sup>1</sup>, 谷本 剛, 笠原年春\*<sup>2</sup>, 米沢秀利\*<sup>2</sup>: 糖尿病性網膜症と赤血球アルドース還元酵素活性

第 1 回日本糖尿病眼科学会総会 (1995. 3)

\*<sup>1</sup> 福井医科大学

\*<sup>2</sup> 小野薬品工業(株)

谷本 剛, 早川堯夫: 酵素製剤の品質確保のあり方

日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

Komatsu, H. and Okada S.: Permeability of ethanol-induced interdigitated membranes

International Work Shop on Anesthetic Mechanism, Takamatsu, Japan (1994. 12)

Komatsu, H. and Okada S.: Permeability of ethanol-induced interdigitated membranes

The 39 Annual Meeting of the Biophysical Society, San Francisco, USA (1995. 2)

小松裕明, 岡田敏史: エタノールによるリポソーム膜の透過性亢進—指組み膜構造相の形成による膜の相分離—

第 16 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム (1994. 11)

小松裕明, 岡田敏史, 宮嶋孝一郎\*: 静注用脂肪乳剤の凍結による粒子径増加に対する添加塩の抑制効果

日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

\* 京都大学薬学部

中西邦夫\*<sup>1</sup>, 益川 徹\*<sup>1</sup>, 吉井公彦, 岡田敏史, 宮嶋孝一郎\*<sup>2</sup>: 疎水性シクロデキストリンを用いた持続性坐剤製剤の開発

日本薬学会第 115 回年会 (1995. 3)

\*<sup>1</sup> 摂南大学薬学部

\*<sup>2</sup> 京都大学薬学部

吉井公彦, 北島文, 小松裕明, 岡田敏史: 熱測定の医薬品試験への応用 (5) 示差走査熱量測定 (DSC) 法による純度評価

日本薬学会第 115 回年会 (1995. 3)

吉井公彦, 小松裕明, 岡田敏史: 熱測定の医薬品試験への応用 (4) 一示差走査熱量測定 DSC による純度試験—

第 44 回日本薬学会近畿支部大会 (1994. 10)

吉井公彦, 小松裕明, 岡田敏史: 熱測定の医薬品試験への応用—熱重量測定法の乾燥減量試験および水分測定への適用—

第 31 回全国衛生化学技術協議会年会 (1994. 11)

梅本美佳, 石光 進, 辻 澄子, 柴田 正: 食用タール色素レーキ中のバリウムの迅速定量法

日本食品衛生学会第 68 回学術講演会 (1994. 10)

石光 進, 辻 澄子, 柴田 正, 大森夏子\*: 照射による食用タール色素からのヒドロキシラジカルの生成

日本薬学会第 115 年会 (1995. 3)

\* 大阪薬科大学

外海泰秀, 中村優美子, 津村ゆかり, 柴田 正, 木村実加\*, 大田光恵\*, 平原嘉親\*, 宮田昌弘\*: ベンフラカルブおよびカルボスルファンの GC および HPLC 分析に及ぼす食品成分の影響

日本食品衛生学会第 68 回学術講演会 (1994. 10)

\* 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

糸山智子\*, 関口幸弘\*, 鯉口 智\*, 平原嘉親\*, 大

田光恵\*, 木村実加\*, 三好智子\*, 成田美加子\*, 長谷川眞住\*, 宮田昌弘\*, 鎌倉和政\*, 前田憲二\*, 山名孝善\*, 外海泰秀: GCによる玄米中各種農薬の同時分析法の検討

日本食品衛生学会第68回学術講演会(1994.10)

\* 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

長谷川眞住\*, 鯉口 智\*, 鎌倉和政\*, 平原嘉親\*, 成田美加子\*, 三好智子\*, 宮田昌弘\*, 前田憲二\*, 山名孝善\*, 外海泰秀: 輸入畜水産食品中における残留合成抗菌剤および有機塩素系農薬の同時抽出法の検討

第31回全国衛生化学技術協議会年会(1994.11)

\* 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

伊藤誉志男\*<sup>1</sup>, 外海泰秀, 佐々木久美子, 田中敏嗣\*<sup>2</sup>, 谷 孝之\*<sup>3</sup>, 中澤裕之\*<sup>4</sup>, 中村好志\*<sup>5</sup>, 永山敏廣\*<sup>6</sup>, 西島基弘\*<sup>6</sup>, 星野庸二\*<sup>7</sup>, 堀伸二郎\*<sup>8</sup>, 宮田秀明\*<sup>9</sup>: 飲食物試験法・食品汚染物試験法, 臭素; 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115年会(1994.4)

- \*<sup>1</sup> 武庫川女子大学薬学部
- \*<sup>2</sup> 神戸市環境保健研究所
- \*<sup>3</sup> 神奈川県衛生研究所
- \*<sup>4</sup> 星薬科大学
- \*<sup>5</sup> 静岡県立大学薬学部
- \*<sup>6</sup> 東京都立衛生研究所
- \*<sup>7</sup> 埼玉県衛生研究所
- \*<sup>8</sup> 大阪府立公衆衛生研究所
- \*<sup>9</sup> 摂南大学薬学部

伊藤誉志男\*<sup>1</sup>, 谷 孝之\*<sup>2</sup>, 佐々木久美子, 田中敏嗣\*<sup>3</sup>, 外海泰秀, 中澤裕之\*<sup>4</sup>, 中村好志\*<sup>5</sup>, 永山敏廣\*<sup>6</sup>, 西島基弘\*<sup>6</sup>, 星野庸二\*<sup>7</sup>, 堀伸二郎\*<sup>8</sup>, 宮田秀明\*<sup>9</sup>: 飲食物試験法・食品汚染物試験法, カルバメート系農薬; キャピラリーカラム・ガスクロマトグラフィーによる定性および定量

日本薬学会第115年会(1994.4)

- \*<sup>1</sup> 武庫川女子大学薬学部
- \*<sup>2</sup> 神奈川県衛生研究所
- \*<sup>3</sup> 神戸市環境保健研究所
- \*<sup>4</sup> 星薬科大学
- \*<sup>5</sup> 静岡県立大学薬学部
- \*<sup>6</sup> 東京都立衛生研究所
- \*<sup>7</sup> 埼玉県衛生研究所
- \*<sup>8</sup> 大阪府立公衆衛生研究所
- \*<sup>9</sup> 摂南大学薬学部

伊藤誉志男\*<sup>1</sup>, 永山敏廣\*<sup>2</sup>, 佐々木久美子, 田中敏嗣\*<sup>3</sup>, 谷 孝之\*<sup>4</sup>, 外海泰秀, 中澤裕之\*<sup>5</sup>, 中村好志\*<sup>6</sup>, 西島基弘\*<sup>2</sup>, 星野庸二\*<sup>7</sup>, 堀伸二郎\*<sup>8</sup>, 宮田秀明\*<sup>9</sup>: 飲食物試験法・食品汚染物試験法, N-メチルカルバメート系農薬; 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115年会(1994.4)

\*<sup>1</sup> 武庫川女子大学薬学部

\*<sup>2</sup> 東京都立衛生研究所

\*<sup>3</sup> 神戸市環境保健研究所

\*<sup>4</sup> 神奈川県衛生研究所

\*<sup>5</sup> 星薬科大学

\*<sup>6</sup> 静岡県立大学薬学部

\*<sup>7</sup> 埼玉県衛生研究所

\*<sup>8</sup> 大阪府立公衆衛生研究所

\*<sup>9</sup> 摂南大学薬学部

江馬 眞, 黒坂麗子, 天野博夫, 小川義之: プチルベンジルフタレート of ラットにおける胚致死作用

第34回日本先天異常学会学術集会(1994.7)

江馬 眞, 黒坂麗子, 天野博夫, 小川義之: 可塑剤プチルベンジルフタレート of ラットにおける発生毒性の投与時期特異性

第31回全国衛生化学技術者協議会年回(1994.11)

黒坂麗子, 天野博夫, 江馬 眞, 小川義之: C6 グリオーマ細胞の無血清継代培養系において機能する細胞増殖因子

第86回日本薬理学会近畿部会(1994.11)

中村ゆかり, 村井敏美, 小川義之, Mivechi, N. F.\*, Hahn, G. M.\*: パナジン酸ナトリウムによる熱ショック蛋白質(HSP)の誘導阻害

第67回日本生化学会大会(1994.9)

\* Stanford Univ.

中村ゆかり, 村井敏美, 小川義之: エンドトキシンのリムルス活性および腫瘍壊死因子産生誘導活性に及ぼす超音波照射の影響

第22回日本防菌防黴学会年次大会(1995.5)

姉帯正樹\*, 兼俊明夫\*, 林 隆章\*, 矢野昭起\*, 金島弘恭\*, 畠山好雄, 飯田 修: 北海道産木香の調製法と品質評価

日本生薬学会第41回年会(1994.9)

\* 北海道立衛生研究所

柴田俊郎, 畠山好雄, 有本恵子\*, 永井吉澄\*: 中国産生薬の基原・品質に関する調査・研究

日本薬学会第115年会(1995.3)

\* 三国(株)

佐藤忠章\*, 三巻祥浩\*, 黒田明平\*, 指田 豊\*, 畠山好雄: ユリ科植物の科学成分(27)

日本薬学会第115年会(1995.3)

\* 東京薬科大学

Shimomura, K. and Yoshimatsu, K.: Transformation of medicinal plants with Japanese *Agrobacterium rhizogenes* Production of secondary metabolites and transgenic plants in *Papaver*,

**Duboisia and Angelica**

VIII, International Congress of Plant Tissue and Cell Culture, Firenze, Italy (1994. 6)

Yoshimatsu, K. and Shimomura, K.: **Cold- and cryo-preservation of *Panax ginseng* hairy roots**

VIII, International Congress of Plant Tissue and Cell Culture, Firenze, Italy (1994. 6)

柴田敏郎：オウギ類の栽培について

第4回薬用植物栽培技術フォーラム (1994. 7)

多田弘美\*, 下村講一郎, 石丸幹二\*: **キキョウ毛状根の二次代謝**

第4回植物組織培養シンポジウム (1994. 7)

\* 佐賀大学農学部

浅井以和夫\*<sup>1</sup>, 義平邦利\*<sup>1</sup>, 大本俊郎\*<sup>2</sup>, 佐久井徳広\*<sup>2</sup>, 下村講一郎: ***Mentha arvensis* シュート培養および再生植物体における生育とモノテルペン類生産**

第4回植物組織培養シンポジウム (1994. 7)

\*<sup>1</sup> 東亜大学大学院

\*<sup>2</sup> 三栄源エフエフアイ

Yoshimatsu, K., Yamaguchi, H.\* and Shimomura, K.: **Cryopreservation of *Panax ginseng* hairy roots by vitrification method**

31st Annual Meeting of Society for Cryobiology, Kyoto, Japan (1994. 8)

\* 佐賀県薬業指導所

山崎真巳\*<sup>1</sup>, 斎藤和季\*<sup>1</sup>, 村越 勇\*<sup>1</sup>, 佐藤 文\*<sup>2</sup>, 下村講一郎, 井上健太郎\*<sup>3</sup>, 海老塚豊\*<sup>3</sup>: **カンゾウの RFLP 分析および RAPD 分析による系統解析**

日本生薬学会第41回年会 (1994. 9)

\*<sup>1</sup> 千葉大学薬学部

\*<sup>2</sup> 常磐植物化学研

\*<sup>3</sup> 東京大学薬学部

吉松嘉代, 柴田敏郎, 宮崎幸男, 下村講一郎: **ズボイシア交配種 (M-II-8-14) 挿し木苗におけるトロパナルカロイドの経時変化**

日本生薬学会第41回年会 (1994. 9)

酒井英二, 柴田敏郎, 下村講一郎, 石丸幹二\*: **ゲンショウコの栽培研究 環境制御下における生育特性について**

日本生薬学会第41回年会 (1994. 9)

\* 佐賀大学農学部

野呂征男\*<sup>1</sup>, 久田陽一\*<sup>1</sup>, 奥田和代\*<sup>1</sup>, 川村智子\*<sup>1</sup>, 森 崇\*<sup>1</sup>, 田中俊弘\*<sup>2</sup>, 西部三省\*<sup>3</sup>, 酒井英二: **ゲンショウコのフラボノイドについて (2)**

日本生薬学会第41回年会 (1994. 9)

\*<sup>1</sup> 名城大学薬学部

\*<sup>2</sup> 岐阜薬科大学

\*<sup>3</sup> 北海道医療大学薬学部

江崎勝司, 下村講一郎: ***Scopolia tangutica* に関する研究 (第一報) 水耕栽培におけるトロパナルカロイド含量**

日本生薬学会第41回年会 (1994. 9)

坂本浩一\*<sup>1</sup>, 下村講一郎, 米田好文\*<sup>2</sup>, 佐藤 忍\*<sup>1</sup>: **雌雄異株植物・アサの雌雄性に関連したゲノムDNA**

日本植物学会第58回大会 (1994. 9)

\*<sup>1</sup> 筑波大学生物

\*<sup>2</sup> 北海道大学理理学部

田中章江\*, 下村講一郎, 江崎勝司, 石丸幹二\*: **クヌギカルスによるタンニン類の生産**

第224回日本農芸化学会西日本支部大会 (1994. 10)

\* 佐賀大学農学部

山中美智子\*<sup>1</sup>, 下村講一郎, 江崎勝司, 義平邦利\*<sup>2</sup>, 石丸幹二\*<sup>1</sup>: **サワギキョウ毛状根によるフェノール類の配糖化反応**

第224回日本農芸化学会西日本支部大会 (1994. 10)

\*<sup>1</sup> 佐賀大学農学部

\*<sup>2</sup> 東亜大学大学院

石橋幸二\*, 山中美智子\*, 下村講一郎, 江崎勝司, 石丸幹二\*: ***Lobelia cardinalis* L. の毛状根培養によるポリアセチレン類の生産**

第224回日本農芸化学会西日本支部大会 (1994. 10)

\* 佐賀大学農学部

多田弘美\*, 下村講一郎, 石丸幹二\*: **ミソカクシ毛状根培養によるポリアセチレン類の生産**

第224回日本農芸化学会西日本支部大会 (1994. 10)

\* 佐賀大学農学部

佐々木和生\*, 下村講一郎, 鎌田 博\*, 原田 宏\*: **ニンジン培養細胞における IAA 代謝に関する研究 2. 不定胚形成と IAA 代謝の関係**

植物化学調節学会第29回大会 (1994. 10)

\* 筑波大学生物

鷺田大輔\*<sup>1</sup>, 北中 進\*<sup>1</sup>, 滝戸道夫\*<sup>1</sup>, 下村講一郎, 矢沢静江\*<sup>2</sup>, 中島由郎\*<sup>3</sup>: **F1 薬用人参の毛状根培養における培地検討**

日本薬学会第115回年会 (1995. 3)

\*<sup>1</sup> 日本大学薬学部

\*<sup>2</sup> 東京女子大

\*<sup>3</sup> 長野県営農業技術センター

山崎真巳\*, 荒木さおり\*, 霍 虹\*, 斎藤和季\*,

村越 勇\*, 下村講一郎, 柴田敏郎: **RAPD 法による当帰系統解析**

日本薬学会第 115 回年会 (1995. 3)

\* 千葉大学薬学部

Zhiri, A.\*, Guo, Y.\*, Jaziri, M.\*, Yoshimatsu, K. and Shimomura, K.: **Occurrence of 10-deacetyl-baccatin III in *Taxus baccata* L. cv. *Stricta* callus cultures**

日本薬学会第 115 回年会 (1995. 3)

\* ブリュッセル自由大学

石丸幹二\*, 西川和孝\*, 大本俊郎\*, 浅井以和夫\*, 義平邦利\*, 下村講一郎: **コガネバナ (*Scutellaria baicalensis* GEORGI) の新規フラボノイド配糖体**

日本薬学会第 115 回年会 (1995. 3)

\*1 佐賀大学農学部

\*2 三栄源エフエフアイ

\*3 東亜大学大学院

柴田敏郎, 畠山好雄, 有本恵子\*, 永井吉澄\*: **中国産生薬の基原・品質に関する調査・研究 (第 1 報) 青海省東南部地域に見られた生薬基原植物について**

日本薬学会第 115 回年会 (1995. 3)

\* 三国(株)

松本吉広\*, 二松 晃\*, 芝野真喜雄\*, 喜多俊二\*, 草野源次郎\*, 柴田敏郎: **国内薬用植物園で植栽される *Glycyrrhiza* 属植物の実態調査と系統化のための基礎研究 (その 3)**

日本薬学会第 115 回年会 (1995. 3)

\* 大阪薬科大学

芝野真喜雄\*, 木村哲也\*, 松本吉広\*, 二松 晃\*, 喜多俊二\*, 草野源次郎\*, 柴田敏郎: **国内薬用植物園で植栽される *Glycyrrhiza* 属植物の実態調査と系統化のための基礎研究 (その 4)**

日本薬学会第 115 回年会 (1995. 3)

\* 大阪薬科大学

酒井英二, 柴田敏郎, 川村智子\*, 久田陽一\*, 野呂征男\*, 吉田将士\*, 田中俊弘\*: **ジュウヤクの生薬学的研究 (2) 遮光条件下におけるドクダミの栽培**

日本薬学会第 115 回年会 (1995. 3)

\*1 名城大学薬学部

\*2 本草製薬(株)

\*3 岐阜薬科大学

田中俊弘\*, 大場幸次\*, 川原一仁\*, 酒井英二: **市場品麻黄各種の成分組成の比較 エフェドリン系アルカロイドについて**

日本薬学会第 115 回年会 (1995. 3)

\*1 岐阜薬科大学

\*2 アスゲン製薬(株)

\*3 日野薬品(株)

江崎勝司, 下村講一郎, 石丸幹二\*: **チョウジソウ (*Amsonia elliptica*) より単離した amellipate およびインドールアルカロイドの立体構造**

日本薬学会第 115 回年会 (1995. 3)

\* 佐賀大学農学部

野口 衛: **シャクヤクの栽培法とその品質**

第 4 回薬用植物栽培技術フォーラム (1994. 7. 19 筑波)

飯田 修, 畠山好雄, 柴田敏郎, 江崎勝司, 酒井英二, 西孝三郎, 熊谷建夫, 野口 衛, 香月茂樹: **ミシマサイコの生育, 収量及び成分に及ぼす栽培地環境の影響**

日本生薬学会第 41 回年会 (1994. 9)

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6年度に行った演題は次のとおりである。

第369回(平成6年4月12日)

1. 内在性生理活性物質によるATP受容体チャンネルの制御  
薬 理 部 中 澤 憲 一
2. 電気化学検出器および蛍光検出器によるニトロ多環芳香族の分析  
食 品 部 村 山 三 徳
3. 界面活性剤を用いたフラレーン類[C<sub>60</sub>およびC<sub>70</sub>]の水溶化  
有 機 化 学 部 山 越 葉 子

第370回(平成6年5月10日)

1. 有機リン系農薬および分解・代謝物のラット肝細胞に及ぼす影響  
薬 理 部 ○宮 島 敦 子  
籾 内 桃 子
2. ブチルベンジルフタレート(ラット)における発生毒性  
大 阪 支 所 生 物 試 験 部 江 馬 眞
3. 塩化トリブチル錫によるカルシウム反応の阻害  
病 理 部 ○朝 生 裕 樹  
川 西 徹
4. Isolation of micronuclei from mice exposed to some spindle poisons and clastogens followed by FISH with centromeric DNA probe  
変 異 遺 伝 部 Jorma Maki-Paakkanen
5. フモニシン分析における各種蛍光誘導体化HPLC法の比較検討  
食 品 部 穠 山 浩
6. 熱発光法による照射香辛料の検知法について  
食 品 添 加 物 部 河 村 葉 子
7. <sup>2</sup>H-NMRによる数種の医薬品添加剤と水分子の相互作用の検討  
薬 品 部 ○阿 曾 幸 男  
吉 岡 澄 江

第371回(平成6年6月14日)

—特別研究成果報告会—

- I. 生体関連反応指標の有意性判定に関する研究(第2期)
  1. はじめに  
機 能 生 化 学 部 澤 田 純 一
  2. シクロスボリンA投与ラットを用いた免疫毒性試験法の検討  
毒 性 部 降 矢 強  
機 能 生 化 学 部 ○山 崎 壯
  3. 免疫毒性試験における免疫病理組織学的検査手法の改善  
病 理 部 三 森 国 敏

4. リンパ節活性化を指標とした新しい感作性試験法の開発

- 療 品 部 五十嵐 良 明
5. 生体防御系としてのマクロファージの食食機能に関する基礎的研究——活性酸素生成能を指標として——

- 生 物 薬 品 部 山 口 照 英
6. マクロファージの免疫毒性評価指標としての有意性に関する基礎的検討

- 大 阪 支 所 生 物 試 験 部 村 井 敏 美
- II. 医薬品の適正な評価を志向した光学異性体に関する研究(第1期)

7. はじめに

- 有 機 化 学 部 宮 田 直 樹
8. 光学異性体の合成を目的とした立体選択的合成反応の開発

- 有 機 化 学 部 栗 原 正 明
9. キラル誘導体化法による光学活性医薬品の分離分析

- 環 境 衛 生 化 学 部 豊 岡 利 正
10. 光学異性体の分離分析評価理論の確立と応用

- 食 品 部 ○松 田 り え 子
- 療 品 部 林 謙 讓

11. 光学異性体の体内動態と薬効に関する研究

- 生 薬 部 鎌 倉 浩 之

第372回(平成6年7月12日)

1. GC-SPDおよびGC-MS(SIM)による農産物中のホキシムの残留分析法

- 食 品 部 根 本 了
2. 共焦点レーザー走査顕微鏡による初代培養肝細胞のカルシウムウェーブの解析

- 病 理 部 ○加 藤 誠 司  
川 西 徹

3. 作用メカニズムの異なる抗甲状腺物質における腫瘍誘発能の差異

- 病 理 部 小 野 寺 博 志

4. 臭素酸カリウム投与による酸化的DNA損傷とプロモーター作用について

- 毒 性 部 梅 村 隆 志

第373回(平成6年9月13日)

1. 医薬品の安定性子測へのマイクロ熱量計の応用の検討

- 薬 品 部 大 塚 知 子
2. 硫酸化チロシン含有ペプチドのLiquid Secondary Ion Mass Spectrometry(LSIMS)

- 療 品 部 ○矢 上 健  
徳 島 大 麩 北 川 幸 己

3. パナジン酸ナトリウムによる熱ショック蛋白質(HSP)の誘導阻害

- 大 阪 支 所 生 物 試 験 部 村 井 敏 美

4. 血管平滑筋のATP受容体とその細胞内情報伝達機構に関する研究

毒 性 部 北 嶋 聡

第374回 (平成6年10月11日)

1. セイヨウアカネ培養細胞でのカドミウムにより誘導されるフィトケラチンについて  
食品添加物部 久保田 浩 樹
2. 高速液体クロマトグラフィーによるポリカーボネート中の残存モノマーおよび重合調節剤の同時分析  
食品添加物部 杉 田 たき子
3. 農作業用ゴム長靴によるアレルギー性接触皮膚炎：原因究明と対策  
療 品 部 鹿 庭 正 昭

第375回 (平成6年11月8日)

1. 電気化学的手法によるスーパーオキシドの生成と消去反応の解析  
有機化学部 福 原 潔
2. HPLC-ポストカラム法によるフモニシンの分析  
食 品 部 宮 原 誠
3. 雄性生殖障害の検索法に関する研究：Adriamycinを用いた形態学的精巢毒性評価  
病 理 部 安 原 加 壽 雄

第376回 (平成6年12月13日)

1. NO発生化合物を利用した一酸化窒素の定量法  
有機化学部 丹 野 雅 幸
2. 熱測定の医薬品試験への応用  
—示差走査熱量測定 DSC による純度試験—  
大阪支所薬品試験部 吉 井 公 彦
3. 薬物吸収実験におけるヒトとイヌの違い  
—消化管内の攪拌力の差—  
薬 品 部 香 取 典 子
4. ハムスターのBOP誘発肺腫瘍発生に及ぼすイソチオシアネートの影響  
病 理 部 ○池 崎 信 一 郎  
西 川 秋 佳

第377回 (平成7年1月17日)

1. ニフェジピン非晶質体の結晶化速度に及ぼす温度および湿度の影響  
薬 品 部 ○阿 曾 幸 男  
吉 岡 澄 江  
大 塚 知 子

2. 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利用した食品添加物基原植物からの有効成分の分析  
食品添加物部 坂 元 史 歩
3. Big Blue Mouseを用いたMeIQの発癌機構の解析  
変異遺伝部 鈴 木 孝 昌
4. PC12細胞における2種類のATP受容体を介する応答の亜鉛イオンによる制御  
薬 理 部 ○小 泉 修 一  
中 澤 憲 一  
井 上 和 秀

第378回 (平成7年2月14日)

1. 含窒素複素環に対する求核的ラジカル反応  
有機化学部 ○伊 藤 幸 子  
宮 田 直 樹
2. 雑豆類に含まれるリナマリンについて  
食 品 部 村 山 三 徳
3. メチルパラベンを透過指標物質とした剥離皮膚への界面活性剤の影響  
環境衛生化学部 徳 永 裕 司
4. ピペロニルブトキサイドのラット肝発癌メカニズム  
病 理 部 小 野 寺 博 志

第379回 (平成7年3月14日)

1. 3-Monochloropropane-1,2-dioln のリスク評価に関する研究  
総合評価室 会 田 喜 崇
2. WWWサーバーによる化学物質の安全性情報の提供  
化学物質情報部 ○大 竹 千 代 子  
中 野 達 也
3. ポリエチレンの表面改質とその細胞機能への影響  
療 品 部 ○中 岡 竜 介  
土 屋 利 江
4. mut MST 遺伝子破壊サルモネラ株の開発と大腸菌 mut M 遺伝子発現様式  
変異遺伝部 鈴 木 任
5. ペンタクロロフェノール投与によるマウス肝細胞増殖と酸化的DNA損傷  
毒 性 部 梅 村 隆 志

## 支 所 例 会

## 第 134 回 (平成 6 年 4 月 26 日)

1. 脂質微小分散系製剤の評価技術  
— 静注用脂肪乳剤の粒子径プロファイルと表面電位—  
薬品試験部 小松 裕 明
2. 希土類元素の生体影響に関する研究  
食品試験部 中村 優美子
3. C6 グリオーマ細胞の無血清継代培養系において機能する細胞増殖性因子  
生物試験部 黒坂 麗子

## 第 135 回 (平成 6 年 5 月 24 日)

1. 農産物の貯蔵および加工過程における収穫後使用農薬の消長  
食品試験部 津村 ゆかり
2. プチルベンジルフタレートの子ラットにおける胚致死作用  
生物試験部 江馬 眞

## 第 136 回 (平成 6 年 9 月 27 日)

1. 食用タール色素試験法の検討  
食品試験部 柴田 正
2. 糖尿病合併症の発症機序に関する酵素化学的研究とその創薬研究への展望  
薬品試験部 谷本 剛

## 第 137 回 (平成 6 年 11 月 1 日)

1.  $\mu$ ,  $\delta$  および  $\kappa$  オピオイド受容体 mRNA のラット脊髄および後根神経節における発現に関する研究  
薬品試験部 前川 京子
2. 各種注射剤に対するエンドトキシン試験法の適用性の検討  
生物試験部 小川 義之
3. 無血清培養 C6 グリオーマ細胞の増殖に関する因子  
生物試験部 天野 博夫

## 第 138 回 (平成 6 年 12 月 20 日)

1. 医薬品品質分野の国際調和—最近の動向—  
支 所 長 武田 寧
2. ペンフラカルブおよびカルボスルファンの GC 分析に及ぼす食品成分の影響  
食品試験部 外海 泰秀
3. 熱分析法の医薬品試験への応用  
— 示差走査熱量測定 DSC による純度試験—  
薬品試験部 吉井 公彦
4. 培養腫瘍細胞の温熱耐性獲得に及ぼす HSP 誘導阻害剤バナデートの影響  
生物試験部 村井 敏美

## 第 139 回 (平成 7 年 1 月 24 日)

1. 「発酵研究所の細胞バンク」  
発酵研究所 竹内 昌男

## 第 140 回 (平成 7 年 2 月 28 日)

1. 機械的破壊力による高分子の切断  
薬品試験部 宮崎 玉樹
2. 食餌性多価不飽和脂肪酸の種類, 呼気中の短鎖炭化水素および血中抗酸化物質との関連性を求めて—その背景—  
食品試験部 辻 澄子
3. PC12 細胞におけるストレス蛋白質の発現  
生物試験部 中村 ゆかり

## 第 141 回 (平成 7 年 3 月 20 日)

1. 光照射による食用タール色素からのヒドロキシラジカルの生成  
食品試験部 石光 進
2. 食用タール色素レーキ中のバリウム迅速定量法  
食品試験部 梅本 美佳
3. 注射用デキストランの分子量分布  
薬品試験部 四方田 千佳子



---

 特別講演会
 

---

- |  |  |
|--|--|
| 平成6年6月2日<br>Atopic dermatitis と食物アレルギー<br>横浜市立大学医学部助教授 池 沢 善 郎 | ヒト代謝能の個体差と P450 分子種<br>東北大学薬学部教授 山 添 康                           |
| 平成6年7月26日<br>プロテアソームの分子構造と生理機能<br>徳島大学酵素科学研究センター 田 中 啓 二       | 平成7年1月20日<br>結核とエイズ<br>長崎大学歯学部教授 山 田 毅                           |
| 平成6年10月7日<br>核酸を標的とする生物活性分子の設計と機能<br>京都大学化学研究所教授 杉 浦 幸 雄       | 平成7年1月27日<br>マスト細胞とアレルギー<br>順天堂大学医学部教授 羅 智 靖                     |
| 平成6年10月14日<br>老化と DNA のメチル化<br>東北大学医学部教授 小 野 哲 也               | 平成7年3月10日<br>プラスミド R64 シャフロンの DNA 逆位とその機能<br>東京都立大学理学部教授 駒 野 照 弥 |
| 平成6年11月11日<br>IP3 レセプターと細胞内 Ca 動態<br>東京大学医科学研究所教授 御子柴 克 彦      | 平成7年3月16日<br>分裂酵母のシグナル伝達系と高等生物との類似性<br>島根大学農学部助教授 川 向 誠          |
| 平成6年12月12日   |  |

---

 支所特別講演会
 

---

- 平成6年11月15日  
ドラッグデリバリーシステム：最近の研究動向  
京都大学薬学部助教授 高 倉 善 信

---

 平成 6 年度に行った主な研究課題 Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 1994
 

---

## 特別研究 (厚生省)

1. 安全性評価のための迅速かつ鋭敏な毒性指標の確立に関する研究 (療剤, 生物, 機能, 病理, 代謝, 毒性, 支所)  
Studies on establishment of early and sensitive toxicologic biomarkers in risk assessment
2. 医薬品の適正な評価を志向した光学異性体に関する研究 (有機, 療剤, 食品, 生薬)  
Chemical study on biologically active stereoisomers for the evaluation of enantiomeric drugs
3. 生体関連反応指標の有意性判定に関する研究 (支生, 療剤)  
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. 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
2. 創薬のための微量生理活性蛋白質の探索とその構造および機能解析における放射線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
3. 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
4. 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 (薬品)  
Effect of gamma-irradiation on biodegradable controlled delivery systems
5. 血液に接する医療用具に使用される放射線滅菌と揮発性物質に関する研究 (療剤)  
Gamma-ray sterilization of blood contacting medical devices and formation of volatile chemicals from the materials
6. 変異細胞の選択技術の確立と突然変異の塩基配列の解析に関する研究 (変異)  
Establishment of selection technique for mutant cells and analysis for the DNA sequence of mutation sites
7. 生薬の微生物汚染に対する放射線照射の研究 (生薬)  
Study on gamma-ray sterilization for microbial contamination in plant medicines
8. 抗体工学を用いる新しい抗体の放射線標識法の

## 開発に関する研究 (機能)

Development of a novel method for radiolabeling antibodies by genetic engineering

## 科学技術振興調整費 (科学技術庁)

1. 発生・分化機構解明のための実験系の開発  
(1) 不定胚の誘導・発生機構解析のための実験系の開発 (筑植)  
① 薬用植物における不定胚誘導系の確立  
Research and development of basic technology for molecular and cellular analysis of plant system  
(1) Research and development of basic technology for mechanism of growth and differentiation in plants  
① Establishment of embryogenesis in medicinal plants
2. 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
3. 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
4. HIV/HTLV 感染・発症の制御技術の開発に関する研究  
(1) ウィルス感染制御技術の開発に関する研究 (生薬)  
(1) Research of natural products for anti-virus (HIV)
5. 生体制御物質の分子設計と精密合成のための基盤技術開発に関する研究 (有機, 情報)  
Research and development of basic technology for molecular design and efficient synthesis of bioregulators
6. 中枢神経系における脂質代謝および情報伝達を特異的に制御する微生物代謝産物の研究 (衛微)  
Studies on microbial metabolites for regulating the metabolism of lipids and signal transduction in central nervous system
7. 脂質分子集合体のドラッグキャリアーとしての有効利用とその製剤特性評価技術の開発に関する研究 (支薬)  
Studies on the establishment of the evaluation methods for lipid-dispersed system of micro-particles as a drug carrier
8. 物質関連データ (生体影響, 食品成分, 表面分析) のデータベース化に関する調査 (情報)  
Development of bio-reactive substances database

## 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. 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-dioxins in freshwater
3. 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
4. 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 (環境)  
Behavior and assessment of pesticide and its byproducts in water utilization system
5. 水生生物の細胞遺伝毒性を指標とした水質汚染モニタリング法の開発に関する研究 (変異)  
Development of genotoxic-monitoring systems for water pollution using aquatic organisms
6. NO遊離化合物を活用した環境汚染窒素酸化物に関する研究 (有機)  
Chemical and biochemical studies on toxicity of nitrogen oxides as environmental pollutants using nitric oxide releasing compounds

## 厚生科学研究費補助金 (厚生省)

1. 老化・疾病関連遺伝子探索に有能なDNAプローブ・バンクのシステム化に関する研究 (変異)  
Study on development of DNA probes useful for research of age- and disease-related genes
2. 培養細胞研究資源の標準および培養研究資源情報の統合化に関する研究 (変異)  
An informatic integration and standardization of research resources of cultured animal cells
3. 培養細胞の耐量育成維持時の品質に関する研究 (変異)  
Maintenance and quality control for cultured animal cells
4. 糖尿病の合併症に関する研究 (支薬)  
Study on diabetic complications
5. 老人医療に応用される生薬・漢方薬についての基礎研究 (生薬, 機能)  
Basic studies on Kambo medicines applied for gerontology studies
6. 生活環境中の発がん物質の摂取形態とそのリスク評価に関する研究 (食品)  
Assessment of exposure of man to carcinogens and related chemical in the environment
7. 広域保健情報ネットワークの構築とその地域保健サービスにおける有効利用に関する研究 (情

報)

- Research on regional health network and regional health service
8. 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
9. 体外診断用医薬品の臨床評価に関する研究 (生物)  
Clinical evaluation of diagnostic kits and reagents
10. 薬物依存の発現機序に関する神経科学的研究 (毒性)  
Neuropsychopharmacological study on mechanisms of drug dependence
11. 有機溶剤の生殖におよぼす影響に関する研究 (毒性)  
Reproductive and developmental toxicity studies of toluene
12. 化粧品安全性評価のための試験法に関する研究 (薬理, 毒性)  
Validation studies on the in vitro eye irritation tests for cosmetic ingredients
13. 医薬品ハーモナイゼーション推進国際共同研究事業 (センター長, 評価)  
International collaborative study on harmonization of technical requirement for registration of pharmaceuticals
14. 残留農薬の分析・代謝に関する調査研究 (食品, 情報, 支食)  
Study on analysis and metabolism of pesticide residues
15. 食品中のダイオキシン汚染実態調査研究 (食品)  
Studies on food contamination with dioxins
16. 熱帯病治療薬の開発研究 (薬品)  
Development of drugs for tropical diseases
17. 動物用医薬品の残留防止対策に関する研究 (病理, 食品)  
Study on policies for prevention of veterinary drug residues in livestock products
18. 農薬の分解代謝物の生体内運命及び科学構造と毒性の相関性に関する研究 (薬理, 食品)  
Studies for toxicokinetics and structure-toxicity relationships of decomposed and/or metabolized substances of insecticide
19. 薬用生物資源の保存および保護に関する研究 (生薬, 衛微, 筑植, 北植, 和植, 種植)  
Studies on storage and conservation of the medicinal plants
20. 新開発食品素材の健康障害に関する研究 (支食)  
Regulatory issues on newly developed food-stuffs
21. 動物性加工食品の品質保証システムに関する研究 (衛微)

- Studies on development of food safety assurance system for food products
22. ダイオキシンの毒性発現機構に関する研究 (評価, センター長)  
Studies on mechanisms of toxicological manifestation from exposure to dioxins
23. 日本薬局方の改正と国際調和に関する研究 (薬品, 支薬)  
Studies on international harmonization of the pharmacopoeia of Japan
24. ケシ科マクランタ節植物の分類法に関する研究 (筑植)  
Studies on classification system for Macrantha section of Papaveraceae
25. 器具・容器包装の健康影響に関する研究 (食添)  
Studies on health effects of food apparatus and container-package
26. 国際性に配慮した医療用具審査基準の策定に関する研究 (療品)  
Studies on the framework of medical devices standards by taking into account of international harmonization
27. 輸入農産物の分析・試験法等に関する研究 (支食, 食品)  
Studies on analysis and determination method of imported agricultural products
28. 化学物質による健康リスク評価法に関する研究 (センター長, 毒性, 病理, 薬理, 変異, 代謝, 食品, 情報, 療品, 評価)  
Studies on methodologies for safety evaluation of chemicals
29. 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
30. 食品等の安全性評価の在り方に関する研究 (環境, 評価)  
Studies on safety evaluation of new food developed through biotechnology
31. B群食品添加物の食品中の存在量調査 (食添)  
Estimation of amounts of B-group-food additives in foods
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 (衛微, 食品, 筑植)  
Studies on safety evaluation of new food developed through biotechnology
33. 薬用植物品質評価研究事業 (生薬)  
Studies on preparing guidelines of medicinal plants for cultivation and evaluation of the quality
34. 食品添加物の規格基準の国際的整合性に関する研究 (食添)  
International harmonization of standards and specifications on food additives
35. 医歯科用高分子有機化合物の安全性に関する研究 (療品)  
Chemical safety of medical and dental polymers
36. 必須アミノ酸製品による健康影響に関する研究 (食品)  
Investigation of the health effects associated with essential amino acid products
37. 食品中の有害物質等の評価に関する研究 (食品)  
Studies on the analytical evaluation of environmental contamination
38. 毒性等誤嚥時の初期治療薬の開発研究 (筑植)  
Development of ipecac syrup as vomiting agent
39. 医薬品等の急性毒性の分類と評価法に関する研究 (毒性)  
Studies on the classification and the evaluation of acute toxicity of pharmaceutical chemicals
40. 遺伝子治療における薬効評価法の確立に関する研究 (副所長)  
Preclinical study on methodologies for evaluation of agents used for gene therapy
41. 化粧品原料成分の品質試験方法に関する研究 (環境)  
Study on the methods of quality test for cosmetics ingredients
42. リポソーム膜の透過性におよぼすエタノールの影響 (指組み膜の透過性) に関する研究 (支薬)  
Influences of ethanol on the permeability of liposomal membranes (interdigitated membranes)
43. 薬用植物種子の長期保存方法等に関する研究 (北植, 筑植, 伊植, 和植, 種植)  
Studies on methods of long storage for seeds of medicinal plants
- 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. 膵の多段階発がんに対する制御機構に関する研究 (病理)  
Studies on mechanisms controlling tumor development in multi-stage pancreatic carcinogenesis
3. 炭素クラスター (有機)  
Carbon clusters
4. 培養細胞系を用いた有害物質の包括的評価法の開発 (環境)  
Evaluation of *in vitro* systems for toxic chemicals
5. 環境因子の発がんリスク評価 (病理)  
Assessment of carcinogenic risks in environmental factors
6. 高速走査レーザー顕微鏡を用いたカルシウムウ

エープの分子メカニズムの研究 (病理)

Studies on mechanisms of calcium waves using rapid scanning confocal laser microscopy

7. 化学合成によるエンドトキシアントゴニスト構造の解明とその応用 (衛微)

Elucidation of the chemical structure possessing antagonistic activity of endotoxin using chemical synthesis

8. 生理活性を有する一酸化窒素遊離化合物の合成と機能解析 (有機)

Synthesis and characterization of biologically active NO donors

9. *Porphyromonas gingivalis* リピド A アナログの化学合成 (衛微)

Total synthesis of *Porphyromonas gingivalis* lipid A

10. アカネ科植物由来アントラキノンの変異原性メカニズムの解明 (食添)

Mechanism of mutagenicity by anthraquinones occurring in Rubiaceae plants

11. 分子生物学的手法を用いてのニコチン受容体に対する細胞外 ATP の作用の検討 (薬理)

Studies on effects of extracellular ATP on nicotinic receptors using molecular biological methods

12. ハイテク汚染物質による薬物代謝酵素系の変動に関する研究 (環境)

The effect of high technology pollutants on drug-metabolizing enzymes

13. 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 (毒性)

Study on short-term carcinogenicity test using transgenic mice

**がん研究助成金 (厚生省)**

1. 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

2. 消化器がん発生に影響する食品中の要因に関する研究 (病理)

Studies on dietary factors affecting tumorigenesis in the digestive organs

3. ヒトがん発生の複数要因の相互作用に関する基礎的・臨床的研究 (変異)

Basic and clinical studies on interaction of some factors in human carcinogenesis

**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

**食品等試験検査費**

1. 食品添加物規格基準及び試験法の設定, 改良 (食添, 支食)

Establishment and improvement of standards, specifications and test methods of food additive

2. 食品中の食品添加物分析法の設定 (食添, 支食)

Establishment of analytical methods for food additives in foods

3. 化学的合成品以外の食品添加物の規格基準の設定 (食添)

Establishment of standards and specifications of food additives other than chemical synthetics

4. 食品添加物安全性再評価・慢性毒性試験 (乳酸鉄) (病理)

Chronic toxicity test of histidine monohydrochloride

5. 食品添加物安全性再評価・慢性毒性試験 (パラオキシ安息香酸イソプロピル) (病理)

Chronic toxicity test of iron lactate

6. 食品添加物安全性再評価・慢性毒性試験 (クチナシ青色素) (病理)

Chronic toxicity test of isopropyl-hydroxybenzoate

7. 食品添加物安全性再評価・相乗毒性試験 (グリセリン脂肪酸エステル×D-ソルビトール (毒性))

Chronic toxicity test of sirbic acid

8. 食品添加物安全性再評価・催奇形性試験 (グリセリン脂肪酸エステル) (薬理)

Teratogenicity study of food additives

9. 食品添加物安全性再評価・変異原性試験 (変異)

Mutagenicity of food additives

10. 国内登録農薬実態調査 (食品)

Survey of pesticide residue in agricultural products

11. 残留農薬の調理加工による減衰に係る調査 (食品)

Effect of food processing and cooking on pesticide residue

12. 保存検体中の残留農薬調査 (食品)

Survey of pesticide residue in preserved food samples

13. 残留農薬分析法の検討 (食品, 支食)

Study on analytical method for pesticide residue

14. 残留農薬簡易判定法開発検討 (食品, 支食)

Study on rapid analytical method of pesticide residue

15. 容器包装等試験検査 (食添)

Studies on food package and container

16. 畜水産食品中の残留動物用医薬品等に係るモニタリング検査 (農薬類) (食品)

Monitoring study on pesticide residue in live-

- stock product and sea foods
17. 畜水産食品中の残留有害物質に係る毒性試験 (ジョサマイシン) (病理)  
Chronic toxicity test of josamycin
  18. 食品等の規格基準の設定等に係る試験検査 (食品, 食添, 衛微, 毒性)  
Inspection with relation to establishment of specification and standards for foods
  19. 水質管理調査に係る CNP 代替農薬の標準試験 (環境)  
Establishment of official methods for diphenylether group-pesticides in drinking water
  20. 水道用薬品等規格策定に係る成分・溶出試験 (ヒ素除去のための水道用薬品) (環境)  
Establishment of standards and specification of drinking water additives
  21. 未規制物質基準化検討に係る総合指標検討調査 (微生物を利用した総合指標) (毒性)  
Screening of mutagenicity of contaminants in drinking water
  22. 未規制物質基準化検討に係る慢性毒性試験 (消毒副生成物) (毒性)  
Chronic toxicity studies of unregulated compounds for standardization (By-products of disinfectant)
  23. 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
  24. 日本人の食品添加物の一日摂取量調査に関する研究 (支食)  
Estimation of daily intake of food additives based on market basket studies in Japan
  25. 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
  26. 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
- 家庭用品等試験検査費 (厚生省生活衛局)
1. 既存化学物質の試験検査 (*N*-モノ(又はジ)メチルフェニル-*N'*, -モノ(又はジ)-メチルフェニル-*p*-フェニレンジアミンの慢性毒性試験) (毒性)  
Chronic toxicity study of *N*-monomethylphenyl-*N'*-monomethylphenyl-*p*-phenylenediamine
  2. 既存化学物質の試験検査 (*N*-モノ(又はジ)メチルフェニル-*N*, -モノ(又はジ)-メチルフェニル-*p*-フェニレンジアミンの生殖毒性試験) (薬理)  
Teratogenicity study of *N*-methylphenyl-*N'*-methylphenyl-*p*-phenylenediamine
  3. 既存化学物質の試験検査 (トリス(2-クロロエチル)ホスフェートの生態内運命試験) (代謝)  
Metabolism and disposition of tris(2-chloroethyl)phosphate
  4. 家庭用品に使用される化学物質の試験検査 (2-メルカプトメチルベンズイミダゾールの28日間連続投与毒性試験) (毒性)  
Repeated-dose toxicity studies for a 28day-subacute administration of 2-mercaptomethyl benzimidazole
  5. 家庭用品に使用される化学物質の試験検査 (2-メルカプトベンズイミダゾール, 2,5-ジ-*t*-ブチル-ヒドロキノリンの感作性試験) (毒性)  
Skin sensitization tests of 2-mercaptobenzimidazole and 2,5-di-*t*-butylhydroquinone
  6. 家庭用品に使用される化学物質の試験検査 (*N*, *N'*-ジメチルフェニル-*p*-フェニレンジアミン; 2,5-ジ-*t*-ブチルヒドロキノリン; 2,3,3,3,2',3',3',3'-オクタクロロジプロピルエーテル; *p*-*t*-ブチルフェニルサリチレート)の細胞毒性試験) (療品)  
Cytotoxicity test of chemicals used in household products: *N*, *N'*-dimethylphenyl-*p*-phenylenediamine, 2,5-di-*t*-butylhydroquinone, 2,3,3,3,2',3',3',3'-octachloro-dipropyl ether, and *p*-*t*-butylphenylsalicylate
  7. 家庭用品に使用される化学物質の試験検査 (ビス(2-クロロエチル)エーテルの吸入毒性試験) (毒性)  
Chronic inhalation toxicity study of bis(2-chloroethyl) ether
  8. 家庭用品に使用される化学物質の試験検査 (メチル-*N*-(2-ベンズイミダゾリル)カーバメイト, 2-メルカプトベンズイミダゾール, *N*-1,3-ジメチルブチル-*N*, -フェニル-*p*-フェニレンジアミン, 2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノンの分析試験法設定) (療品)  
Development of analytical methods of chemicals used in household products: methyl *N*-(2-benzimidazolyl) carbamate, 2-mercaptobenzimidazole, *N*-1,3-dimethylbutyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine, and 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone
  9. 家庭用品に使用される化学物質の安全対策調査 (トリス(2-クロロエチル)ホスフェートの毒性強度の体系的評価) (環境, 毒性)  
Systematic evaluation of toxic intensity for tris(2-chloroethyl)phosphate
  10. 第二種特定化学物質曝露量調査 (食品)  
Survey of exposure to Class two Specified Chemical substances
  11. 指定化学物質摂取量予測調査 (1,2-ジクロロエタン, クロロホルム) (情報)  
Estimation of intake of the designated chemical substances
  12. OECD/HPV 点検化学物質安全性調査 (評価)  
Studies on screening information data set of OECD high production volume chemicals

**厚生本省医薬品等審査業務庁費 (厚生省薬務局)**

1. 化粧品原料規格作成のための試験 (環境)  
Study on the standards of cosmetics ingredients
2. 食用タール色素毒性試験 (赤色 40 号) (毒性)  
Toxicity tests of food additive: Red-40

**厚生本省あへん等取扱業務庁費**

1. 生態系農業に基づくけし栽培方法の確立に関する研究 (北植, 筑植, 伊植, 種植)  
Establishment of new cultivation method of opium poppy on the basis of ecosystem

**環境庁公害調査費**

1. 国設自動車排出ガス測定所における大気汚染実態調査 (環境)  
Survey of air pollutants at National Auto-exhaust Monitoring Station in Tokyo

**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 calciumion
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 separation analysis 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 compo-

nents in foods

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 chemo-biological interaction and it's 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 the protection and effects 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 the physiological and functional roles of carbohydrates using isolated and cultured cardiac myocytes
14. 糖鎖検出プローブの開発に関する研究 (機能)  
Development of probes for detection of sugar chains
15. 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 glycoprote in products
16. 放出制御等の製剤機能を支配する物理化学的特性の安定化とその評価 (薬品)  
Stabilization and stability evaluation of the physicochemical properties of controlled delivery systems
17. 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
18. エマルジョンおよびリポ蛋白質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
19. 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
  20. 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
  21. 高分子材料によるMFHの素因の解析と短期検索法の開発 (療薬)  
Studies on the mechanisms of malignant fibrous histiocytoma (MFH) induced polymeric materials and development of short-term test methods
  22. 新医薬品・医療材料の評価技術の開発と応用 (支生)  
Development of evaluation methods for new drugs and biomaterials
  23. 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
  24. 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
  25. 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 (筑植)  
Study on the system of classification of medicinal plant by the molecular genetic analysis
  26. 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
  27. 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)  
Foods and food products produced by biotechnology: Human health implications
  2. 加速試験不適合剤の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 (衛徴)  
Preliminary screening for antiviral AIDS drugs
  2. エイズ付随症状に対する治療薬, エイズ発症防止薬の開発及び臨床評価手法の確立に関する研究 (衛徴)  
Development and assessment of drugs and vaccines for AIDS and AIDS-related diseases
- 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. 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 (衛徴)  
Mechanisms of virus-specific gene expression
  2. 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 mechanisms of ion-channel regulation in cardiac muscle by neurotransmitters and antiarrhythmic drugs
  3. 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
  4. 薬物等による白血球機能の制御に関する研究 (代謝)  
Studies on regulation of leukocyte functions by drugs
  5. ヒト平滑筋臓器における自律神経支配と薬物受容体分布の特性に関する研究 (薬理)  
Studies on autonomic innervation and receptor distribution in human smooth muscle
  6. 水分子の動的挙動の解析に基づく医薬品製剤の安定性予測理論に関する研究 (薬品)  
Physicochemical implications of water mobility in the stability prediction of pharmaceuticals
  7. タンパク性医薬品の分子修飾による安定化戦略 (生物・支薬)  
Stabilization of protein drugs by molecular modification
  8. 非経口固形剤のバイオアベイラビリティ調整因子に関する研究  
Pharmaceutical and Biological factors affecting Bioavailability of Nonoral Solid Dosage Forms
  9. 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 (変異)  
Study of development for recognition technique of cell line using In Situ Hybridization
  10. 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
  11. 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 cryopreservation methods of their embryos

- 12. ヒト由来遺伝子導入トランスジェニックマウスによる短期試験法の実用化に関する研究 (センター長)

Establishment of short-term test method using transgenic mouse introduced human-derived gene

- 13. 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

- 14. 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

- 15. 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

- 16. 薬用生物資源の保存および保護に関する研究 Studies on storage and conservation of the medicinal plant

- 17. 哺乳動物由来の代謝酵素発現系による薬物の生体内代謝の解析 (2) (変異)

Expression of mammalian drug metabolizing enzyme genes

新医療技術開発研究事業

- 1. 医療用具の滅菌保証の評価の基礎に関する研究 (療品)

Basic data collection for sterility assurance of medical deirces

| 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 | 添加物部.....食添       |
|   | 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 | 遺伝部.....変異        |
|   | 総 | 合 | 評価研究室.....評価      |
|   | 大 | 阪 | 支所薬品試験部.....支薬    |
|   | 大 | 阪 | 支所食品試験部.....支食    |
|   | 大 | 阪 | 支所生物試験部.....支生    |
|   | 北 | 海 | 道薬用植物栽培試験場.....北植 |
|   | 筑 | 波 | 薬用植物栽培試験場.....筑植  |
|   | 伊 | 豆 | 薬用植物栽培試験場.....伊植  |
|   | 和 | 歌 | 山薬用植物栽培試験場.....和植 |
|   | 種 | 子 | 島薬用植物栽培試験場.....種植 |

## 国家検定および検査等の処理状況

## Survey of the Results of National Tests

平成6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6年度処理件数  |            |               |      | 対前年度<br>増減数 | 対前年度<br>増減率 |
|-------------|------------|------------|---------------|------|-------------|-------------|
|             | 東 京        | 大 阪        | 合 計           |      |             |             |
| 国 家 検 定     | ( 0) 0     | ( 84) 142  | ( 84) 142     | 58   | 169.05      |             |
| 国 家 検 査     | ( 0) 0     | ( 11) 19   | ( 11) 19      | 8    | 172.73      |             |
| 製 品 検 査     | ( 0) 0     | ( 734) 635 | ( 734) 635    | △ 99 | 86.51       |             |
| 特 別 審 査 試 験 | ( 166) 207 | ( 0) 0     | ( 166) 207    | 41   | 124.70      |             |
| 特 別 行 政 試 験 | ( 102) 98  | ( 2) 18    | ( 104) 116    | 12   | 111.54      |             |
| 一 斉 取 締 試 験 | ( 172) 157 | ( 17) 15   | ( 189) 172    | △ 17 | 91.01       |             |
| 輸 入 食 品 検 査 | ( 40) 0    | ( 2) 0     | ( 42) 0       | △ 42 | 0           |             |
| 一 般 依 頼 試 験 | ( 0) 0     | ( 0) 0     | ( 0) 0        | —    | —           |             |
| 合 計         | ( 480) 462 | ( 850) 829 | (1,330) 1,291 | △ 39 | 97.07       |             |

( ) 内数字は平成5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6年度国家検定品目別月別判定別件数実績表…………… 328頁
- 平成6年度国家検査品目別月別判定別件数実績表…………… 328頁

- 平成6年度製品検査月別判定別件数実績表…………… 330頁
- 平成6年度特別行政試験実績表…………… 330頁
- 平成6年度一斉取締試験判定別件数実績表…………… 331頁

## 平成6年度国家検定品目別

| 区分                                |    | 4月 |     |    | 5月 |     |    | 6月 |     |   | 7月 |     |    | 8月 |     |    | 9月 |     |    |
|-----------------------------------|----|----|-----|----|----|-----|----|----|-----|---|----|-----|----|----|-----|----|----|-----|----|
|                                   |    | 合格 | 不合格 | 計  | 合格 | 不合格 | 計  | 合格 | 不合格 | 計 | 合格 | 不合格 | 計  | 合格 | 不合格 | 計  | 合格 | 不合格 | 計  |
| 半合成ヒト二相性<br>イソフェンインスリン<br>水性懸濁注射液 | 大阪 | 0  | —   | 0  | 0  | —   | 0  | 0  | —   | 0 | 0  | —   | 0  | 0  | —   | 0  | 0  | —   | 0  |
| 半合成ヒトイソフ<br>ェンインスリン水<br>性懸濁注射液    | 大阪 | 0  | —   | 0  | 0  | —   | 0  | 0  | —   | 0 | 0  | —   | 0  | 0  | —   | 0  | 0  | —   | 0  |
| 生合成ヒト中性イ<br>ンスリン注射液               | 大阪 | 0  | —   | 0  | 2  | —   | 2  | 2  | —   | 2 | 0  | —   | 0  | 3  | —   | 3  | 3  | —   | 3  |
| 生合成ヒトインス<br>リン亜鉛水性懸濁<br>注射液       | 大阪 | 1  | —   | 1  | 0  | —   | 0  | 0  | —   | 0 | 0  | —   | 0  | 0  | —   | 0  | 2  | —   | 2  |
| ヒト結晶性インス<br>リン亜鉛水性懸濁<br>注射液       | 大阪 | 0  | —   | 0  | 0  | —   | 0  | 0  | —   | 0 | 0  | —   | 0  | 0  | —   | 0  | 0  | —   | 0  |
| 生合成ヒト二相性<br>イソフェンインスリン<br>水性懸濁注射液 | 大阪 | 5  | —   | 5  | 6  | —   | 6  | 4  | —   | 4 | 9  | —   | 9  | 11 | —   | 11 | 3  | —   | 3  |
| 生合成ヒトイソフ<br>ェンインスリン水<br>性懸濁注射液    | 大阪 | 4  | —   | 4  | 1  | —   | 1  | 1  | —   | 1 | 3  | —   | 3  | 2  | —   | 2  | 4  | —   | 4  |
| 生合成ヒト結晶性<br>インスリン亜鉛水<br>性懸濁注射液    | 大阪 | 1  | —   | 1  | 1  | —   | 1  | 1  | —   | 1 | 0  | —   | 0  | 0  | —   | 0  | 2  | —   | 2  |
| ヒト二相性イソフ<br>ェンインスリン水<br>性懸濁注射液    | 大阪 | —  | —   | —  | —  | —   | —  | —  | —   | — | —  | —   | —  | —  | —   | —  | —  | —   | —  |
| 計                                 |    | 11 | —   | 11 | 10 | —   | 10 | 8  | —   | 8 | 12 | —   | 12 | 16 | —   | 16 | 14 | —   | 14 |

## 平成6年度国家検査品目別

| 区分      |                  | 4月 |     |   | 5月 |     |   | 6月 |     |   | 7月 |     |   | 8月 |     |   | 9月 |     |   |   |
|---------|------------------|----|-----|---|----|-----|---|----|-----|---|----|-----|---|----|-----|---|----|-----|---|---|
|         |                  | 合格 | 不合格 | 計 | 合格 | 不合格 | 計 | 合格 | 不合格 | 計 | 合格 | 不合格 | 計 | 合格 | 不合格 | 計 | 合格 | 不合格 | 計 |   |
| ブドウ糖注射液 | 大阪               | 1  | —   | 1 | 1  | —   | 1 | 0  | —   | 0 | 0  | —   | 0 | 3  | —   | 3 | 0  | —   | 0 |   |
| 内訳      | 内容量 100<br>ml 未満 | 大阪 | 0   | — | 0  | 0   | — | 0  | 0   | — | 0  | 0   | — | 0  | 0   | — | 0  | 0   | — | 0 |
|         | 内容量 100<br>ml 以上 | 大阪 | 1   | — | 1  | 1   | — | 1  | 0   | — | 0  | 0   | — | 0  | 3   | — | 3  | 0   | — | 0 |
| リンゲル液   | 大阪               | 0  | —   | 0 | 0  | —   | 0 | 0  | —   | 0 | 0  | —   | 0 | 0  | —   | 0 | 0  | —   | 0 |   |
| 計       |                  | 1  | —   | 1 | 1  | —   | 1 | 0  | —   | 0 | 0  | —   | 0 | 3  | —   | 3 | 0  | —   | 0 |   |

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   | —     | 0   |
| 0    | —     | 0  | 0    | —     | 0  | 0    | —     | 0  | 0   | —     | 0  | 0   | —     | 0  | 0   | —     | 0 | 0   | —     | 0   |
| 1    | —     | 1  | 2    | —     | 2  | 1    | —     | 1  | 3   | —     | 3  | 1   | —     | 1  | 0   | —     | 0 | 18  | —     | 18  |
| 0    | —     | 0  | 1    | —     | 1  | 0    | —     | 0  | 0   | —     | 0  | 1   | —     | 1  | 1   | —     | 1 | 6   | —     | 6   |
| 1    | —     | 1  | 1    | —     | 1  | 1    | —     | 1  | 0   | —     | 0  | 2   | —     | 2  | 0   | —     | 0 | 5   | —     | 5   |
| 10   | —     | 10 | 8    | —     | 8  | 4    | —     | 4  | 3   | —     | 3  | 2   | —     | 2  | 5   | —     | 5 | 70  | —     | 70  |
| 2    | —     | 2  | 2    | —     | 2  | 4    | —     | 4  | 1   | —     | 1  | 2   | —     | 2  | 0   | —     | 0 | 26  | —     | 26  |
| 0    | —     | 0  | 0    | —     | 0  | 1    | —     | 1  | 0   | —     | 0  | 2   | —     | 2  | 0   | —     | 0 | 8   | —     | 8   |
| 0    | —     | 0  | 0    | —     | 0  | 2    | —     | 2  | 3   | —     | 3  | 3   | —     | 3  | 1   | —     | 1 | 9   | —     | 9   |
| 14   | —     | 14 | 14   | —     | 14 | 13   | —     | 13 | 10  | —     | 10 | 13  | —     | 13 | 7   | —     | 7 | 142 | —     | 142 |

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  |
| 7    | —     | 7 | 4    | —     | 4 | 2    | —     | 2 | 0   | —     | 0 | 0   | —     | 0 | 0   | —     | 0 | 18  | —     | 18 |
| 2    | —     | 2 | 4    | —     | 4 | 0    | —     | 0 | 0   | —     | 0 | 0   | —     | 0 | 0   | —     | 0 | 6   | —     | 6  |
| 5    | —     | 5 | 0    | —     | 0 | 2    | —     | 2 | 0   | —     | 0 | 0   | —     | 0 | 0   | —     | 0 | 12  | —     | 12 |
| 0    | —     | 0 | 1    | —     | 1 | 0    | —     | 0 | 0   | —     | 0 | 0   | —     | 0 | 0   | —     | 0 | 1   | —     | 1  |
| 7    | —     | 7 | 5    | —     | 5 | 2    | —     | 2 | 0   | —     | 0 | 0   | —     | 0 | 0   | —     | 0 | 19  | —     | 19 |

## 平成6年度製品検査品目別

| 区 分 | 4 月 |     |    | 5 月 |     |   | 6 月 |     |    | 7 月 |     |    | 8 月 |     |    | 9 月 |     |    |
|-----|-----|-----|----|-----|-----|---|-----|-----|----|-----|-----|----|-----|-----|----|-----|-----|----|
|     | 合格  | 不合格 | 計  | 合格  | 不合格 | 計 | 合格  | 不合格 | 計  | 合格  | 不合格 | 計  | 合格  | 不合格 | 計  | 合格  | 不合格 | 計  |
| 大 阪 | 70  | —   | 70 | 9   | —   | 9 | 92  | —   | 92 | 35  | —   | 35 | 54  | —   | 54 | 55  | —   | 55 |
| 計   | 70  | —   | 70 | 9   | —   | 9 | 92  | —   | 92 | 35  | —   | 35 | 54  | —   | 54 | 55  | —   | 55 |

## 平成6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 | 輸液製剤の試験について          | 8   | 支所生物試験部              |
|           |       | 〃                    | 10  | 支所薬品試験部              |
|           | 麻 薬 課 | 輸入生あへんのモルヒネ含有率試験について | 97  | 薬品部                  |
| 生 活 衛 生 局 | 食品化学課 | イズミグイ切り身中の一酸化炭素の分析   | 1   | 食品添加物部               |
| 合 計       |       |                      | 116 | 東 京 98 件<br>大 阪 18 件 |

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   |
| 37   | —     | 37 | 45   | —     | 45 | 61   | —     | 61 | 72  | —     | 72 | 46  | —     | 46 | 59  | —     | 59 | 635 | —     | 635 |
| 37   | —     | 37 | 45   | —     | 45 | 61   | —     | 61 | 72  | —     | 72 | 46  | —     | 46 | 59  | —     | 59 | 635 | —     | 635 |

平成6年度一斉取締役試験判定別件数実績表

| 区 分 |  | 合 格 | 不 合 格 | 無 判 定 | 計   |
|-----|--|-----|-------|-------|-----|
| 東 京 |  | 151 | 6     | 0     | 157 |
| 大 阪 |  | 15  | 0     | 0     | 15  |
| 合 計 |  | 166 | 6     | 0     | 172 |

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7年4月1日現在)

| 番号 | 標準品名         | 包装単位           | 価格     | 使用目的   |
|----|--------------|----------------|--------|--|
|    |              |                | 円      |  |
| 1  | アスコルビン酸      | 1g入り 1本        | 19,800 | ・アスコルビン酸散、同注射液の定量法   |
| 2  | アセトアミノフェン    | 300mg入り 1本     | 14,900 | ・アセトアミノフェン、その製剤の確認試験および定量法   |
| 3  | 安息香酸エストラジオール | 50mg入り 1本      | 14,600 | ・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  |
| 4  | インスリン        | 20mg入り 1本      | 22,900 | ・インスリン、インスリン注射液、インスリン亜鉛水性懸濁注射液、結晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液、無晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液、プロタミンインスリン亜鉛水性懸濁注射液、イソフェンインスリン水性懸濁注射液、中性インスリン注射液の定量法、イソフェンインスリン水性懸濁注射液の純度試験 |
| 5  | エストリオール      | 100mg入り 1本     | 12,700 | ・エストリオールの確認試験および定量法  |
| 6  | エテンザミド       | 300mg入り 1本     | 14,500 | ・エテンザミド、その製剤の確認試験および定量法  |
| 7  | エピチオスタノール    | 100mg入り 1本     | 11,100 | ・メピチオスタンの定量法   |
| 8  | エルゴカルシフェロール  | 100mg入り 1本     | 16,100 | ・エルゴカルシフェロールの確認試験および定量法  |
| 9  | エンドトキシン      | 2 $\mu$ g入り 1本 | 18,500 | ・注射用水のエンドトキシン試験  |
| 10 | 含糖ペプシン       | 5g入り 1本        | 19,500 | ・含糖ペプシンの定量法  |
| 11 | d-カンフル       | 300mg入り 1本     | 15,300 | ・d-カンフルの定量法  |
| 12 | d $l$ -カンフル  | 300mg入り 1本     | 14,200 | ・d $l$ -カンフルの定量法   |
| 13 | 吉草酸ベタメタゾン    | 100mg入り 1本     | 16,100 | ・吉草酸ベタメタゾンの確認試験および定量法  |
| 14 | ジトキシシン       | 20mg入り 1本      | 14,600 | ・ジゴキシシン、同錠、同注射液の純度試験   |
| 15 | 血清性性腺刺激ホルモン  | 800単位入り 2本     | 32,300 | ・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     | 16,000 | ・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     | 16,100 | ・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     | 16,100 | ・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     | 14,000 | ・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     | 14,300 | ・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     | 16,000 | ・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     | 14,900 | ・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     | 14,800 | ・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   |

## 日本薬局方標準品

| 番号 | 標準品名                  | 包装単位                   | 価格     | 使用目的  |
|----|-----------------------|------------------------|--------|---|
|    |                       |                        | 円      |   |
| 24 | シアノコバラミン              | 200 mg 入り 1本           | 13,300 | ・シアノコバラミン、同注射液の定量法、酢酸ヒドロキシコバラミンの純度試験および定量法          |
| 25 | ジギタリス                 | 1 g 入り 3本              | 13,900 | ・ジギタリス、同末の定量法                                       |
| 26 | ジギトキシン                | 50 mg 入り 1本            | 14,500 | ・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              | 300 mg 入り 1本           | 14,400 | ・シクランデラートの定量法                                       |
| 28 | ジクロルフェナミド             | 100 mg 入り 1本           | 11,000 | ・ジクロルフェナミド、同錠の定量法                                   |
| 29 | ジゴキシン                 | 50 mg 入り 1本            | 14,400 | ・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           | 50 mg 入り 1本            | 12,900 | ・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         | 50 mg 入り 1本            | 14,300 | ・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      | 1 g 入り 1本              | 14,000 | ・スクラルファートの定量法                                       |
| 33 | G-ストロファンチン            | 100 mg 入り 1本           | 14,900 | ・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          | 30,800 | ・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                  | 500 mg 入り 1本           | 12,700 | ・バンクレアチンのたん白消化力試験                                   |
| 36 | デキサメタゾン               | 100 mg 入り 1本           | 14,800 | ・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                | 100 mg 入り 1本           | 15,200 | ・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               | 150 mg 入り 1本           | 16,000 | ・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 | トリウムシノロン              | 100 mg 入り 1本           | 14,900 | ・トリウムシノロンの確認試験および定量法                                |
| 40 | トリウムシノロンアセトニド         | 100 mg 入り 1本           | 14,800 | ・トリウ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               | 200 mg 入り 1本           | 14,500 | ・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 | トロンピン                 | 500 単位入り 2本            | 33,600 | ・トロンピンの定量法  |
| 43 | ニコチン酸                 | 500 mg 入り 1本           | 15,700 | ・ニコチン酸注射液の定量法                                       |
| 44 | ニコチン酸アミド              | 500 mg 入り 1本           | 17,100 | ・ニコチン酸アミド注射液の定量法                                    |
| 45 | 脳下垂体後葉                | 20 mg 入り 2本            | 14,700 | ・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<br>10 カプセル | 4,200  | ・酢酸レチノール、パルミチン酸レチノールの確認試験、ビタミンA油、同カプセルの定量法          |
| 47 | 薄層クロマトグラフ用パルミチン酸レチノール | 10,000 単位入り<br>10 カプセル | 4,150  | ・酢酸レチノール、パルミチン酸レチノールの確認試験、ビタミンA油、同カプセルの定量法          |
| 48 | パラアミノベンゾイルグルタミン酸      | 500 mg 入り 1本           | 27,700 | ・葉酸の純度試験  |
| 49 | ヒドロクロロチアジド            | 100 mg 入り 1本           | 14,200 | ・ヒドロクロロチアジドの定量法                                     |
| 50 | ヒドロコルチゾン              | 100 mg 入り 1本           | 14,800 | ・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                   |



## 日本薬局方標準品

| 番号 | 標準品名             | 包装単位          | 価格     | 使用目的  |
|----|------------------|---------------|--------|---|
|    |                  |               | 円      |   |
| 51 | プリミドン            | 300 mg 入り 1本  | 14,800 | ・プリミドン, その製剤の確認試験および定量法   |
| 52 | フルオシノニド          | 100 mg 入り 1本  | 16,100 | ・フルオシノニドの確認試験および定量法   |
| 53 | フルオシノロンアセトニド     | 50 mg 入り 1本   | 14,500 | ・フルオシノロンアセトニドの定量法   |
| 54 | プレドニゾロン          | 100 mg 入り 1本  | 14,500 | ・プレドニゾロ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  |
| 55 | プロピオン酸ベクロメタゾン    | 100 mg 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           | 100 mg 入り 1本  | 14,800 | ・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 | 26,900 | ・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     | 50 mg 入り 1本   | 15,300 | ・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          | 100 mg 入り 1本  | 13,500 | ・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         | 50 mg 入り 1本   | 12,200 | ・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           | 200 mg 入り 1本  | 13,700 | ・メトキサレンの定量法   |
| 62 | メトトレキサート         | 200 mg 入り 1本  | 19,500 | ・メトトレキサートの確認試験および定量法  |
| 63 | 葉酸               | 500 mg 入り 1本  | 17,100 | ・葉酸, 同錠, 同注射液の定量法   |
| 64 | ラナトシド C          | 100 mg 入り 1本  | 14,700 | ・ラナトシド C の純度試験および定量法, 同錠の確認試験, 溶出試験, 含量均一性試験および定量法  |
| 65 | リボフラビン           | 200 mg 入り 1本  | 19,300 | ・リボフラビンおよび同散の定量法, リン酸リボフラビナトリウム, 同注射液の定量法   |
| 66 | 硫酸プロタミン          | 100 mg 入り 1本  | 26,400 | ・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 | 100 mg 入り 1本  | 13,600 | ・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   | 100 mg 入り 1本  | 13,900 | ・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            | 50 mg 入り 1本   | 28,700 | ・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7年4月1日現在)

| 番号 | 標準品名  | 包装単位              | 価格     | 使用目的   |
|----|---|-------------------|--------|--|
|    |   |                   | 円      |  |
| 1  | アルプロスタジル  | 10 mg 入り 1本       | 56,400 | ・アルプロスタジル, アルプロスタジル<br>・アルファデクスとそれらの製剤の定量<br>法               |
| 2  | インドシアニングリーン   | 300 mg 入り 1本      | 14,300 | ・インドシアニングリーンおよびその製<br>剤の定量法                                  |
| 3  | ウリナスタチン   | 3,600 単位 1本<br>入り | 29,300 | ・ウリナスタチンおよびその製剤の定量<br>法                                      |
| 4  | ウロキナーゼ  | 1,000 単位 1本<br>入り | 15,700 | ・ウロキナーゼおよびその製剤の定量法   |
| 5  | エストラジオール  | 50 mg 入り 1本       | 14,600 | ・エストラジオールおよびその製剤の純<br>度試験                                    |
| 6  | エストロン   | 50 mg 入り 1本       | 14,700 | ・エストロンおよびその製剤の確認試験<br>及び定量法                                  |
| 7  | エルカトニン  | 各 10 単位 2本<br>入り  | 37,300 | ・エルカトニンおよびその製剤の定量法   |
| 8  | 塩化ベルベリン   | 30 mg 入り 1本       | 25,800 | ・オウレン, オウレン末, オウバク, オ<br>ウバク末中の塩化ベルベリンの成分含量                  |
| 9  | 塩酸チアミン液   | 1 mg 入り 10本       | 8,500  | ・チアミンおよびその製剤の定量法   |
| 10 | カリジノゲナーゼ  | 100 単位入り 1本       | 13,500 | ・カリジノゲナーゼおよびその製剤の生<br>物活性試験および定量法                            |
| 11 | 吉草酸ジフルコルトロン   | 100 mg 入り 1本      | 13,900 | ・吉草酸ジフルコルトロンおよびその製<br>剤の定量法                                  |
| 12 | グリチルリチン酸  | 30 mg 入り 1本       | 27,900 | ・カンゾウ, カンゾウ末の性状試験およ<br>びカンゾウエキス, カンゾウ粗エキス中<br>のグリチルリチン酸の成分含量 |
| 13 | 高分子量ウロキナーゼ  | 800 単位入り 1本       | 19,300 | ・ウロキナーゼおよびその製剤の確認試<br>験および定量法                                |
| 14 | 酢酸デキサメタゾン   | 100 mg 入り 1本      | 15,600 | ・酢酸デキサメタゾンおよびその製剤の<br>定量法                                    |
| 15 | 低分子量ヘパリン  | 10 mg 入り 1本       | 26,200 | ・低分子量ヘパリンおよびその製剤の確<br>認試験および定量法                              |
| 16 | テオブロミン  | 100 mg 入り 1本      | 10,600 | ・ペントキシフィリンの純度試験  |
| 17 | ヒアルロニターゼ  | 500 mg 入り 1本      | 17,300 | ・注射用ヒアルロニターゼの定量法   |
| 18 | ヒトインスリン   | 50 mg 入り 1本       | 26,400 | ・ヒトインスリンおよびその製剤の定量<br>法                                      |
| 19 | ヒト成長ホルモン  | 4 mg 入り 1本        | 35,000 | ・ヒト成長ホルモンおよびその製剤の確<br>認試験および定量法                              |
| 20 | フルオロメトロン  | 100 mg 入り 1本      | 15,600 | ・フルオロメトロンおよびその製剤の定<br>量法                                     |
| 21 | フルドロキシコルチド  | 100 mg 入り 1本      | 15,600 | ・フルドロキシコルチドおよびその製剤<br>の定量法                                   |
| 22 | プロピオン酸テストステロン   | 50 mg 入り 1本       | 14,300 | ・プロピオン酸テストステロンおよびそ<br>の製剤の定量法                                |
| 23 | マレイン酸メチルエルゴメトリン   | 50 mg 入り 1本       | 14,100 | ・マレイン酸メチルエルゴメトリンの定<br>量法                                     |
| 24 | 融点測定用<br>{アセトアリニド, アセトフェ<br>ネチジン, カフェイン, スル<br>ファニルアミド, スルファピ<br>リジン, ワニリン} | 各 1 g 入り 6本       | 46,800 | ・融点測定用温度計, 同装置の補正  |

## 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7年4月1日現在)

| 番号 | 標準品名            | 包装単位          | 価格     | 使用目的                        |
|----|-----------------|---------------|--------|-----------------------------|
|    |                 |               | 円      |                             |
| 25 | 酪酸ヒドロコルチゾン      | 100 mg 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      |
| 26 | リゾチーム           | 500 mg 入り 1 本 | 25,000 | ・リゾチーム製品の定量法                |
| 27 | リン酸デキサメタゾンナトリウム | 100 mg 入り 1 本 | 13,500 | ・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 |
| 28 | リン酸ヒスタミン        | 50 mg 入り 1 本  | 12,300 | ・ヒスタミン試験                    |
| 29 | リン酸プレドニゾンナトリウム  | 100 mg 入り 1 本 | 13,600 | ・リン酸プレドニゾ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7年4月1日現在)

| 番号 | 標準品名                | 包装単位    | 価格    | 使用目的                                      |
|----|---------------------|---------|-------|---|
|    |                     |         | 円     |   |
| 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 | 2,750 | ・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 | 2,700 | ・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 | 4,850 | ・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 | 2,700 | ・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 | 2,750 | ・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 | 2,600 | ・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 | 2,550 | ・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 | 2,550 | ・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 | 2,550 | ・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 | 2,650 | ・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 | 2,700 | ・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 | 2,650 | ・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 | 2,650 | ・食品,医薬品,化粧品および製剤中のタートラジンの確認試験             |
| 19 | テトラクロルテトラブロムフルオレセイン | 1g入り 1本 | 2,750 | ・外用医薬品,化粧品および製剤中のテトラクロルテトラブロムフルオレセインの確認試験 |
| 20 | テトラブロムフルオレセイン       | 1g入り 1本 | 2,900 | ・外用医薬品,化粧品および製剤中のテトラブロムフルオレセインの確認試験       |
| 21 | トルイジンレッド            | 1g入り 1本 | 2,500 | ・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の確認試験          |
| 23 | ニューコクシン             | 1g入り 1本 | 2,650 | ・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 | 2,550 | ・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 | 2,550 | ・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              |

## 国立衛生試験所標準品 (色素試験用標準品)

(平成7年4月1日現在)

| 番号 | 標準品名          | 包装単位 |    | 価格    | 使用目的                                    |
|----|---------------|------|----|-------|---|
|    |               |      |    | 円     |   |
| 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  |
| 27 | ファストレッド S     | 1g入り | 1本 | 3,100 | ・粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のファストレッド S の確認試験     |
| 28 | ブリリアントブルー FCF | 1g入り | 1本 | 2,850 | ・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 | 2,750 | ・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 | 2,750 | ・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 | 2,750 | ・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 | 2,750 | ・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 | リゾールルビン BCA   | 1g入り | 1本 | 2,850 | ・外用医薬品, 化粧品および製剤中のリゾールルビン 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 | 2,750 | ・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6年度国立衛生試験所標準品出納状況

(医薬品試験用標準品)

| 標 準 品 名      | 前年度末<br>在庫数量 | 製造数量  | 売払数量  | 自家消費等<br>数 量 | 年 度 末<br>在庫数量 | 備 考 |
|--------------|--------------|-------|-------|--------------|---------------|-----|
|              | 個            | 個     | 個     | 個            | 個             |     |
| アスコルビン酸      | 25           | 200   | 199   | 0            | 26            |     |
| アセトアミノフェン    | 55           | 0     | 19    | 0            | 36            |     |
| アルプロスタジル     | 50           | 0     | 0     | 0            | 50            |     |
| 安息香酸エストラジオール | 37           | 0     | 12    | 0            | 25            |     |
| インスリン        | 32           | 0     | 17    | 4            | 11            |     |
| インドシアニングリーン  | 20           | 0     | 0     | 0            | 20            |     |
| ウリナスタチン      | 0            | 0     | 0     | 0            | 0             |     |
| ウロキナーゼ       | 4            | 200   | 118   | 0            | 86            |     |
| エストラジオール     | 4            | 50    | 22    | 0            | 32            |     |
| エストリオール      | 51           | 0     | 7     | 0            | 44            |     |
| エストロン        | 32           | 0     | 2     | 0            | 30            |     |
| エテンザミド       | 28           | 0     | 10    | 0            | 18            |     |
| エピチオスタノール    | 39           | 0     | 4     | 0            | 35            |     |
| エルカトニン       | 50           | 0     | 4     | 0            | 46            |     |
| エルゴカルシフェロール  | 28           | 100   | 117   | 0            | 11            |     |
| 塩化ベルベリン      | -            | 51    | 0     | 0            | 51            | *   |
| 塩酸チアミン       | 29           | 230   | 237   | 22           | 0             |     |
| 塩酸チアミン液      | 17           | 20    | 9     | 9            | 19            |     |
| 塩酸ピリドキシン     | 168          | 200   | 351   | 17           | 0             |     |
| エンドトキシン      | 325          | 1,200 | 1,342 | 0            | 183           |     |
| カリジノゲナーゼ     | 13           | 100   | 87    | 0            | 26            |     |
| 含糖ペプシン       | 75           | 50    | 19    | 0            | 106           |     |
| d-カンフル       | 62           | 100   | 28    | 0            | 134           |     |
| dl-カンフル      | 6            | 148   | 116   | 0            | 38            |     |
| 吉草酸ジフルコルトロン  | 40           | 0     | 1     | 0            | 39            |     |
| 吉草酸ベタメタゾン    | 28           | 50    | 19    | 0            | 59            |     |
| ギトキシシン       | 10           | 0     | 5     | 0            | 5             |     |
| グリチルリチン酸     | -            | 50    | 0     | 0            | 50            | *   |
| 血清性性腺刺激ホルモン  | 99           | 0     | 50    | 0            | 49            |     |
| 高分子量ウロキナーゼ   | 42           | 0     | 7     | 0            | 35            |     |
| コハク酸トコフェロール  | 38           | 100   | 116   | 0            | 22            |     |
| コハク酸ヒドロコルチゾン | 42           | 0     | 5     | 0            | 37            |     |
| コレカルシフェロール   | 68           | 85    | 153   | 0            | 0             |     |
| 酢酸クロルマジノン    | 4            | 50    | 27    | 0            | 27            |     |
| 酢酸コルチゾン      | 57           | 0     | 8     | 0            | 49            |     |
| 酢酸デキサメタゾン    | 36           | 0     | 4     | 0            | 32            |     |
| 酢酸トコフェロール    | 260          | 400   | 582   | 3            | 75            |     |
| 酢酸ヒドロコルチゾン   | 12           | 50    | 39    | 0            | 23            |     |
| 酢酸ブレドニゾロン    | 48           | 50    | 64    | 0            | 34            |     |
| シアノコバアミン     | 104          | 300   | 374   | 0            | 30            |     |
| ジギタリス        | 15           | 0     | 0     | 0            | 15            |     |
| ジギトキシシン      | 77           | 0     | 55    | 0            | 22            |     |
| シクランデラート     | 35           | 0     | 3     | 0            | 32            |     |
| ジクロルフェナミド    | 12           | 0     | 3     | 0            | 9             |     |

| 標準品名                  | 前年度末<br>在庫数量 | 製造数量 | 売払数量 | 自家消費等<br>数量 | 年度末<br>在庫数量 | 備考 |
|-----------------------|--------------|------|------|-------------|-------------|----|
|                       | 個            | 個    | 個    | 個           | 個           |    |
| ジゴキシシ                 | 52           | 0    | 39   | 0           | 13          |    |
| 酒石酸水素エピネフリン           | 40           | 0    | 19   | 0           | 21          |    |
| 酒石酸水素ノルエピネフリン         | 44           | 0    | 5    | 0           | 39          |    |
| ショ糖オクタ硫酸エステルカリウム      | 10           | 50   | 16   | 0           | 44          |    |
| 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           | 36           | 100  | 120  | 0           | 16          |    |
| チロジン                  | 58           | 150  | 125  | 0           | 83          |    |
| 低分子量ヘパリン              | 39           | 0    | 8    | 0           | 31          |    |
| テオプロミン                | 20           | 0    | 0    | 0           | 20          |    |
| デキサメタゾン               | 106          | 0    | 12   | 0           | 94          |    |
| デスラノシド                | 22           | 0    | 0    | 0           | 22          |    |
| トコフェロール               | 32           | 150  | 179  | 0           | 3           |    |
| トリアムシノロン              | 24           | 0    | 1    | 0           | 23          |    |
| トリアムシノロンアセトニド         | 21           | 0    | 11   | 0           | 10          |    |
| トルナフタート               | 23           | 50   | 13   | 0           | 60          |    |
| トロンピン                 | 22           | 100  | 88   | 8           | 26          |    |
| ニコチン酸                 | 51           | 0    | 6    | 0           | 45          |    |
| ニコチン酸アミド              | 67           | 150  | 174  | 0           | 43          |    |
| 脳下垂体後葉                | 40           | 0    | 16   | 0           | 24          |    |
| 薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール     | 55           | 0    | 6    | 1           | 48          |    |
| 薄層クロマトグラフ用パルミチン酸レチノール | 36           | 0    | 26   | 1           | 9           |    |
| パラアミノベンゾイルグルタミン酸      | 51           | 0    | 13   | 0           | 38          |    |
| ヒアルロニダーゼ              | 53           | 0    | 20   | 0           | 33          |    |
| ヒトインスリン               | 50           | 0    | 1    | 0           | 49          |    |
| ヒト成長ホルモン              | -            | 0    | 0    | 0           | 0           | *  |
| ヒドロクロロチアジド            | 37           | 0    | 2    | 0           | 35          |    |
| ヒドロコルチゾン              | 16           | 50   | 35   | 0           | 31          |    |
| プリミドン                 | 30           | 0    | 0    | 0           | 30          |    |
| フルオシノニド               | 38           | 50   | 13   | 0           | 75          |    |
| フルオシノロンアセトニド          | 35           | 50   | 38   | 0           | 47          |    |
| フルオロメトロン              | 46           | 0    | 0    | 0           | 46          |    |
| フルドロキシコルチド            | 49           | 0    | 0    | 0           | 49          |    |
| プレドニゾロン               | 15           | 50   | 64   | 0           | 1           |    |
| プロゲステロン               | 36           | 0    | 7    | 29          | 0           |    |
| プロピオン酸テストステロン         | 6            | 0    | 1    | 0           | 5           |    |
| プロピオン酸ベクロメタゾン         | 51           | 0    | 13   | 0           | 38          |    |
| ベタメタゾン                | 52           | 40   | 22   | 0           | 70          |    |
| ヘパリンナトリウム             | 225          | 0    | 97   | 5           | 123         |    |
| マレイン酸エルゴメトリン          | 14           | 0    | 14   | 0           | 0           |    |
| マレイン酸メチルエルゴメトリン       | 26           | 0    | 2    | 0           | 24          |    |
| メストラノール               | 42           | 0    | 1    | 0           | 41          |    |

| 標準品名   | 前年度末<br>在庫数量 | 製造数量  | 売払数量  | 自家消費等<br>数量 | 年度末<br>在庫数量 | 備考 |
|--|--------------|-------|-------|-------------|-------------|----|
|  | 個            | 個     | 個     | 個           | 個           |    |
| メチルジゴキシン   | 40           | 0     | 0     | 0           | 40          |    |
| メトキサレン   | 20           | 0     | 0     | 0           | 20          |    |
| メトトレキサート   | 24           | 0     | 1     | 0           | 23          |    |
| 融点測定用<br>アセトアニリド, アセトフ<br>エネチジン, カフェイン,<br>スルファニルアミド, スル<br>ファピリジン, ワニリン | 21           | 50    | 43    | 0           | 28          |    |
| 葉酸   | 31           | 100   | 85    | 0           | 46          |    |
| 酪酸ヒドロコルチゾン   | 27           | 0     | 6     | 0           | 21          |    |
| ラナトシドC   | 2            | 50    | 5     | 0           | 47          |    |
| リゾチーム  | 20           | 400   | 263   | 1           | 156         |    |
| リポフラビン   | 85           | 300   | 360   | 0           | 25          |    |
| 硫酸プロタミン  | 26           | 0     | 0     | 0           | 26          |    |
| リン酸デキサメタゾンナトリ<br>ウム  | 59           | 0     | 11    | 0           | 48          |    |
| リン酸ヒスタミン   | 6            | 52    | 27    | 0           | 31          |    |
| リン酸ヒドロコルチゾンナト<br>リウム   | 14           | 0     | 12    | 0           | 2           |    |
| リン酸ブレドニゾロンナトリ<br>ウム  | 50           | 0     | 0     | 0           | 50          |    |
| リン酸ベタメタゾンナトリウ<br>ム   | 59           | 0     | 20    | 0           | 39          |    |
| レセルピン  | 21           | 0     | 12    | 0           | 9           |    |
| 計  | 4,378        | 5,726 | 6,287 | 100         | 3,717       |    |

備考欄の\*印については年度途中の追加品目。



(色素試験用標準品)

| 標準品名                     | 前年度末<br>在庫数量 | 製造数量 | 売払数量 | 自家消費等<br>数量 | 年度末<br>在庫数量 | 備考 |
|--------------------------|--------------|------|------|-------------|-------------|----|
|                          | 個            | 個    | 個    | 個           | 個           |    |
| アシッドバイオレット 6B            | 66           | 0    | 0    | 0           | 66          |    |
| アシッドレッド                  | 503          | 0    | 4    | 5           | 494         |    |
| アゾルピンエキストラ               | 70           | 0    | 0    | 0           | 70          |    |
| アマランス                    | 444          | 0    | 3    | 4           | 437         |    |
| アルラレッド AC                | 346          | 0    | 6    | 4           | 336         |    |
| インジゴ                     | 126          | 0    | 0    | 0           | 126         |    |
| インジゴカルミン                 | 545          | 0    | 3    | 5           | 537         |    |
| エオシン                     | 111          | 0    | 0    | 0           | 111         |    |
| エリスロシン                   | 485          | 0    | 2    | 5           | 478         |    |
| オイルエロー AB                | 215          | 0    | 0    | 1           | 214         |    |
| オイルエロー OB                | 223          | 0    | 0    | 1           | 222         |    |
| オイルオレンジ SS               | 223          | 0    | 0    | 1           | 222         |    |
| オイルレッド XO                | 199          | 0    | 0    | 1           | 198         |    |
| オレンジ I                   | 268          | 0    | 0    | 0           | 268         |    |
| オレンジ II                  | 148          | 0    | 0    | 0           | 148         |    |
| ギネアグリーン B                | 62           | 0    | 0    | 0           | 62          |    |
| サンセットエロー FCF             | 501          | 0    | 4    | 5           | 492         |    |
| タートラジン                   | 468          | 0    | 3    | 5           | 460         |    |
| テトラクロルテトラブROMフ<br>ルオレセイン | 147          | 0    | 0    | 0           | 147         |    |
| テトラブROMフルオレセイン           | 107          | 0    | 0    | 0           | 107         |    |
| トルイジンレッド                 | 74           | 0    | 0    | 0           | 74          |    |
| ナフトールエロー S               | 135          | 0    | 0    | 0           | 135         |    |
| ニューコクシン                  | 497          | 0    | 4    | 5           | 488         |    |
| パーマネントオレンジ               | 26           | 0    | 0    | 0           | 26          |    |
| ハンサエロー                   | 72           | 0    | 0    | 0           | 72          |    |
| ファストグリーン FCF             | 0            | 0    | 0    | 0           | 0           |    |
| ファストレッド S                | 194          | 0    | 0    | 0           | 194         |    |
| ブリリアントブルー FCF            | 458          | 0    | 3    | 5           | 450         |    |
| フルオレセイン                  | 183          | 0    | 0    | 0           | 183         |    |
| フロキシシン                   | 321          | 0    | 2    | 5           | 314         |    |
| ボンソー R                   | 242          | 0    | 0    | 0           | 242         |    |
| ボンソー SX                  | 143          | 0    | 0    | 0           | 143         |    |
| ボンソー 3R                  | 152          | 0    | 0    | 0           | 152         |    |
| リゾールルビン BCA              | 358          | 0    | 0    | 0           | 358         |    |
| レーキレッド C                 | 381          | 0    | 0    | 0           | 381         |    |
| レーキレッド CBA               | 118          | 0    | 0    | 0           | 118         |    |
| レーキレッド DBA               | 156          | 0    | 0    | 0           | 156         |    |
| ローズベンガル                  | 0            | 0    | 0    | 0           | 0           |    |
| 計                        | 8,767        | 0    | 34   | 52          | 8,681       |    |

## 衛生試験所報告第 113 号キーワード索引 (アルファベット順)

## A

AAMI 275  
accelerated testing 217  
accumulation 246  
acetalization 239  
acetate buffer 261  
O-acetyltransferase 260  
acetylcholine 248  
aconitum japonicum 272  
active oxygen species 221  
acute toxicity 64  
adaptation 244  
adduct formation 236  
adenine 256  
adenocarcinoma 257  
adenosine 249, 251  
adipose conversion assay 221  
adrenoleukodystrophy 260  
advancement 275  
adverse health 277  
aflatoxin 244  
aging 249  
AgNORs 256  
*agrobacterium* 270  
*agrobacterium rhizogenes* 281  
airborne fungi 277  
alternating temperature 272  
alkannin 223  
aldicarb 265  
aldo-keto reductase family 264  
aldose reductase 263, 264  
aldose reductase inhibitor 264  
alkoxysilane 239  
O<sup>6</sup>-alkylguanine alkyltransferase (AGT) 261  
allergic contact dermatitis 225, 228, 229  
alloxan diabetic rat 268  
alpine flora 269  
aluminium 237  
amine-type antioxidant 228  
amphetamines 220  
anaerobic sealant 229  
analytical methods for drinking water 275  
*angelica dahurica* 272  
*angelicae radix* 269  
aniline 233  
animal care 246  
anion radical 276  
anti H-sera 242  
anti-HIV 262  
anti-thyroid drug 255, 258  
antiallergy 234

antibacterial 266  
antibiotic 266  
antibody 254  
anticoagulation 263  
antifungal agents 244  
antiinflammatory effect 223  
antioxidant 64, 247  
apomorphine 248  
apparent synergism 260  
aromatic amines 260  
*artemisia annua* 271  
artemisinin 271  
ascorbic acid derivatives 230  
*aspergillus flavus* 244  
*aspergillus flavus parasticus* ager (AFPA) 244  
*aspergillus niger* 244  
assay 137  
astrocytes 239  
atherosclerosis 268  
ATP 248, 249, 250, 251, 252, 278  
ATP receptor antagonists 249  
*atropa belladonna* 270  
authorization 101, 104, 107, 111, 114, 121, 131, 133

## B

*B. thuringiensis* 242  
*bacillus amyloliquefaciens* 233  
*bacillus cereus* 242  
bacterial toxin 276  
BALB/3T3 cells 243  
bale and Job's-tears 240  
berberine hydrochloride 121  
betamethasone valerate 111  
BHT 228  
bioaccumulation 220  
biological assay 131  
biological indicator 274, 275  
biomaterials 227  
biomedical polymer 281  
biotechnology 234, 276  
biotechnology drug 273  
biotechnology-derived product 273  
bisphenol A 238  
blood urea 226  
bone marrow 280  
BOP 253, 255, 256, 259  
botulinum toxin 276  
brace 228, 229  
bradykinin 258  
brain 249  
bromide 234  
bromodeoxyuridine 254

- bromodichloromethane 51  
*bupleurum falcatum* 269, 271  
 buprenorphine 210  
 butoxyethanol 255  
 butyl benzyl phthalate 268, 269
- C**
- C-18 columns 226  
 c-met 262  
 Ca<sup>2+</sup> oscillation 257  
 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 250, 251  
 Ca<sup>2+</sup> ATPase inhibitor 64  
 cadmium 81, 237  
 calcium 231, 254, 255, 278  
 calcium channel 223  
 calcium signal 240  
*calvatia cyathiformis* 224  
 camostat 253  
 cannabis 272  
 canvas sneaker 229  
 capillary electrophoresis 214  
 capillary GC 265  
 capillary zone electrophoresis 274  
 capsaicin 248  
 capsaicinoids 238  
*capsicum annuum* 238  
 carbon monoxide 74  
 carcinogenicity study 259  
 carcinogenesis 247, 257  
 carcinogenicity 281  
 carrageenan 236  
 cell culture technology-derived drug 273  
 cell proliferation 245, 254, 258  
 cell transformation 243  
 central nervous system 278  
*cephaelis ipecacuanha* 270  
 characterization 281  
 chemical ionization method 267  
 chemical safety 245  
 chemical structure 241  
 chemically synthesized food additives 267  
 chemicals 1  
 chemicals management 245  
 chemometrics 233  
 chitosan 281  
 chlorinated dibenzo-*p*-dioxin 231  
 cholangiofibrosis 51  
 cholecalciferol 104  
 cholinergic neurochemical parameters 249  
 chondrogenesis 228  
 chromatography 224, 225, 274  
 chromosomal aberration 259, 280  
 cigarette smoke 257  
 coal-tar dye 97  
 cocaine-self administration 210  
 coffee 266  
 coliform 277  
 collaborative study 114, 121  
 colony forming efficiency 259  
 color fixative 74  
 colorimetry 77  
 column selection 226  
 combination effect 260  
 compensative effect 269  
 composite resin 226  
 congo red 244  
 confocal microscopy 255  
 contact sensitivity 225  
 content uniformity test 272  
 controlled release product 217  
 conventional cation exchange chromatography 226  
 corn starch 233  
 cosmetic analysis 275  
 cosmetics 230  
 cotton flannel 229  
 cross-reaction 225  
 crude drug 270  
 crystallization 219  
 cultivation 281  
 cultured root 270  
 cyathisterol 224  
 cyathisterrone 224  
 β-cyclodextrin 36  
*cylcitium canescens* 222  
 cytochrom P450 231, 232, 276  
 cytoplasmic Ca<sup>2+</sup> oscillation 256  
 cytosine arabinoside 253  
 cytotoxicity 225, 227
- D**
- D value 226  
 daily intake 267  
 dairy products 264  
*daucus carota* 271  
 degradation 218, 240  
 dehydrocyclohistidine 222  
 denaturation 218  
 dental material 226  
 dephenyl 220  
 determination 74, 236  
 developmental toxicity 31, 228, 268, 269  
 diabetes 264  
 diabetic complication 263, 264  
 diabetic retinopathy 263  
 diagnosis of drug dependence 220  
 diarrheal enterotoxin 242  
 dibutyl phthalate 222, 268  
 dibutyryl cyclic AMP 235  
 dietary supplement 140

differentiation 280  
dilution error 225  
*N, N*-dimethyl-*p*-toluidine 226  
4-(*N, N*-dimethylaminosulphonyl)-7-fluoro-  
2, 1, 3-benzoxa diazole(DBF-F) 235  
diol 239  
dissolution 217  
dissolution tests 217  
dithiocarbamate-type accelerator 229  
DMSA 222  
DNA hybridization 242  
dopamine 249, 251  
dopamine release 250  
double transformation 270  
drinking water 275  
drug abuse 220, 272  
drug disposition 272  
drug evaluation 277, 278  
drug history 213  
drug release 135  
drug-metabolizing enzymes 232

## E

EC directive 274  
edible viscera 266  
egg 243  
EHC 84, 91  
electrochemical oxidation potentials 227  
electron transfer 276  
ELISA 240, 242, 271  
embryo culture 270  
embryo lethality 269  
emergency planning 245  
*emericella heterothallica* 224  
*emericella nidulans* 224  
emetic alkaloid 270  
emulsion 263, 281  
EN 226  
enals 254  
endocrine imbalance 257  
endometrial hyperplasia 257  
endothelial cell 258  
endothelin 223, 250, 251, 252  
endothelin-3 250, 251  
endotoxin 241, 268  
endotoxin antagonist 241  
environmental health criteria → EHC  
enzyme 143  
enzyme activity 222  
enzyme immunoassay 264  
enzyme preparations 143  
eosinophilia-myalgia syndrome 233  
epithelial cells 280  
ergocalciferol 101  
ergosterol 244

erythrocyte 222, 263  
erythropoietin 69, 221  
essential requirements 274  
ET<sub>A</sub> receptor 223  
ET<sub>B</sub> 251  
ethinylestradiol 253  
ethiofencarb 265  
7-ethoxycoumarin *O*-deethylase 231  
*N*-ethyl-*N'*-nitrosoguanidine 256  
ethylene oxide sterilization 275  
evaporation residue 81  
excipients 219  
excised skin 230  
excretion into beard 221  
exocyclic DNA adduct 254  
experimental glioma model 254  
explanation 229  
extracellular domain 221  
extract content 223  
eye irritation test 252

## F

F344 rats 44  
fatty acid 234  
FCCP 257  
fenoxaprop-ethyl 267  
ferric ion 236  
ferrous ion 236  
flavonoid 234  
flavonoid glycoside 270  
fluor-folpet 19  
fluorescence *in situ* hybridization 262  
fluorescence probe 255, 278  
food 236  
food additive 77, 237  
food coal tar dyes 267  
food color 97  
food container 238  
food safety 276  
food-poisoning 276  
forensic analysis 272  
forestomach-hyperplasia 19  
FPD 234  
fraction negative method 275  
frameshift mutagenesis 262  
frameshifting 243  
freeze-drying 219  
fullerene 228  
fumonisin B1 235  
function of sugar chain 273  
functional expression 248  
fungal allergen 277  
*fusarium* 277

## G

$\beta$ -galactosidase 218  
 gamma-irradiated food 276  
 gap-junction 227  
 gas chromatography 266  
 gas chromatography-mass spectrometry 233  
 gastro-intestinal epithelial cells 262  
 GC/MS 233, 267  
 GC-Mass 234  
 gene assignment 262  
 genetically modified plants 234  
 genotoxicity 261, 279  
 genotoxicity tests 279  
*gentiana lutea* L. 270  
 geographical variation 271  
 germinal neuroepithelium 254  
 germination 272  
 GI tract 217  
 gibberellin 272  
 glass transition temperature 218, 219  
 globalization 140  
 GLP 246  
 glycol methacrylate 255  
 glycyrrhithinic acid 114  
 GP center 243  
 granulation tissue proliferation 223  
 growth 280  
 growth hormone receptor 239, 240  
 growth inhibition 259  
 GSH 222  
 GTP-binding protein 249  
 guideline for household product 230  
 guideline for stability testing international harmonization 272  
 guidelines 1  
 guidelines for drug quality 135  
 guinea pig maximization test 225

## H

HACCP 243  
 hair analysis 213, 220, 221, 272  
 hairy root 271, 281  
 halide ion 237  
 halogenated hydrocarbons 234  
 hamster 256, 257  
 harmonized standards 274  
 harmonized tripartite guideline 246  
 health effects 245  
 heart rate 223  
 hematoporphyrin 231  
 heparin 263  
 hepatocellular injury 36  
 herbal medicines 140, 273, 274  
 heroin 220

heterogeneity 260  
 HGF (hepatocyte growth factor) 262  
 high performance liquid chromatography 267  
 higher plants 269  
 hippocampal neuron 250  
 hippocampus 248, 250, 278  
 histamine 224, 240  
 housedust fungi 277  
 household chemical product 230  
*houthisyria cordata* THUNB. 270  
 HPAEC 69  
 HPLC 226, 235, 243, 264, 266, 267  
 HPLC-EC 221  
 HPLC-ICP 237  
 5-HT<sub>3</sub> antagonist 210  
 huira-huira 222  
 human chorionic gonadotrophin 131  
 human dermal fibroblast 235  
 human epidermal keratinocytes 235  
 human growth hormone receptor 221  
 hyaluronate 263, 281  
 hyaluronic acid 235  
 hydrodynamic flow 217  
 hydrogen peroxide 225  
 8-hydroxydeoxyguanosine 245, 246, 247  
 2-hydroxyethyl methacrylate 229  
 hydroxylation 239  
 5-hydroxytryptamine 248, 252  
 hypercholesterolemia 268  
 hypoxia 250

## I

IAA 271  
 ICH 246, 273  
 ICP atomic emission spectrometry 236  
 identification method 238  
 identification test 276  
 IHS-20 254  
 immobilized histidine 268  
 immunoblotting 240  
 immunohistochemistry 254, 255  
 immunotoxicity 1  
 immunotoxicity testings 1  
 imported food 276  
 impurity 135  
*in vitro* alternative tests 252  
*in vitro* chromosomal aberration 279  
*in vitro* micronucleus test 259  
*in vivo* gene mutation 279  
*in vivo* rodent assays 279  
*Incl1* 261  
 indoor air pollution 230, 275  
 indoor environment 277  
 infrared (IR) spectrometry 77  
 inositol 1, 4, 5-triphosphate 251

inspection 276  
integration 224  
interaction 263  
interleukin-1 239  
internalization 239  
international harmonization 84, 279, 280  
interstitial pneumonia 259  
intestinal cell proliferation 257  
ion channels 248, 249  
IPCS 91  
iprodione 267  
IR 219  
iris-ciliary body 249  
iron enriched foods 236  
iron lactate 58  
irradiated spices 238  
ISO 274  
ISO 11138-1 274  
ISO 11138-3 274  
ISO 9000 274, 275  
ISO/TC 198 274, 275  
ISO/TC 198 WG4 275  
isotachopheresis 274

**J**

japanese pharmacopeia → JP  
japanese proposal 275  
JCAMP 219  
josamycin 44  
JP 137, 219, 222, 272  
JP reference standard 101, 104, 107, 111, 133

**K**

K<sup>+</sup> channels 248  
kampo medicine 223  
kampo-medicine preparation 223  
kidney 255  
kojic acid 237

**L**

*lacI* mutation 260  
lacquered tableware 81  
*lacZ* mutation 280  
lanthanide-induced shift 247  
latex allergy 225  
laxatives 257  
lead 81  
ligand-gated channels 249  
light-stability 218  
lignification index 271  
limb bud 227  
limited spearman karber procedure 226  
limited stumbo murphy cochrane procedure 226  
*limulus* test 241  
 $\alpha$ -linolenic acid 234

lipid hydroperoxide 231  
lipid peroxidation 58, 278  
lipstick 229  
liquid egg 277  
liver 36, 51, 255  
liver fluke 247  
living environment 277  
low molecular-weight heparin 263  
LPS 241  
LSKP 226, 275  
lucidin 236  
luteal function 269  
lysozyme 225

**M**

macrophages 278  
MAG3 222  
malformation 31  
maltol 237  
market basket method 267  
mean extraction rate 223  
medical devices 274  
medicinal constituents 281  
medicinal herb 281  
medicinal plant 281  
MEDLINE 273  
megakaryocytes 253, 257  
MeIQ 260  
*mentha arvensis* 271  
metabolic cooperation 227  
metabolite 265  
metallothionein 237, 239  
methamphetamine 220  
methamphetamine abuse 221  
methamphetamine dependency 220  
methiocarb 265  
methyl *p*-hydroxybenzoate 236  
*N*-methyl-D-aspartate 252  
2, 2'-methylenebis(4-methyl-6-*tert*-butylphenol)  
247  
*O*<sup>6</sup>-methylguanine DNA methyltransferase 261  
methylparaben 230  
micellar electokinetic chromatography 274  
microbial pesticide 242  
microcolony assay 227  
microglia 250  
micromass culture 227, 228  
micronucleus test 260, 279, 280  
microwave digestion 234  
midbrain 227  
migration 81  
milk 242  
MNNG 261  
MNUR 259  
moist heat sterilization 275

- monoclonal antibody 240  
 monocyte/macrophage 262  
 monoterpene 271  
 monozygotic twin 260  
 monte carlo simulation 218  
 morphine 214, 215, 220  
 mouse 225, 264  
 mouse lymphoma assay (MLA) 280  
 Mt. Pissiri-zan 269  
 MTD 44  
 multiresidue analysis 265  
 multivariate analysis 235  
 mutagen 265  
 mutagenicity 281  
 MX 258  
 mycotoxin 276  
 mytilus edulis 220
- N**
- NaCl 256  
 naphthol AS-D 229  
 nasal cavity epithelium injury 19  
 natural component 236  
 neural network 245  
 neuronal differentiation 254  
 neurotoxicity 251, 252  
 neurotransmitter 278  
 new foods 276  
 new IPCS programme 84  
 nicotinic receptors 248  
 nidulalin A 224  
 nidulalin B 224  
 nifedipine 219  
 NIHS reference standard 114, 121, 127, 131  
 nitorarene 239  
 nitosamine 238  
 nitration 239  
 nitric oxide 238, 247, 278  
 nitrobenzene 256  
 2-nitropropane 247  
 nitropyrenes 262  
 N-nitroso compounds 278  
 N-nitrosoalkylureas 261  
 N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine 253  
 nitrosoarea 235, 238  
 NMDA-receptor 250  
<sup>13</sup>C NMR 247  
 NNK 259  
 1/f noise 274  
 non-palindromic sequence 241  
 non-protein-bound iron 221  
 non-toxic lipid A 241  
 nonaqueous titration 137  
 noradrenaline 249  
 nuclear DNA contact 254
- nucleolar organizer region 254, 255, 256
- O**
- O1 *V. cholerae* 241  
 OBCAM 214  
 OECD guideline 256  
 official inspection 97  
 open conference 273  
 opioid receptor 215  
 optical microscopy 278  
 original plant 273  
 orthopedic knee brace 228  
 oryzias latipes 220  
 oxidative DNA damage 246
- P**
- P. gingivalis* 241  
 paeony root 272  
 pain-induction 248  
 pancreatic carcinogenesis 253, 259  
*papaver somniferum* 269  
 parabens 248  
 parenteral drug 268  
 passive sampler 230  
 pathogenic fungi 277  
 PC12 251, 252  
 PCNA 51  
 penetration 243, 277  
 pertussis toxin 251  
 pervanadate 240  
 pesticide 266, 267  
 pesticide residue 233  
 pesticide residue analysis 234  
 pesticide safety 84  
 pharmaceutical standard 135  
 pharmaceuticals 278  
 pharmacokinetics of glycoprotein 273  
 pharmacopoeia 273  
 phthalates 222  
 phenanthrene 239  
 phenolic antioxidants 227, 264  
 phenolic intermediates 238  
 3-(phenylamino)alanine 233  
 phosphatidylcholine 263  
 phosphorus 231  
 photochemicals reaction 237  
 photosynthetic rate 269  
 phoxim 232  
 physical properties of soils 271  
 phytochelatin 237  
*pilV* gene 261  
 plant biotechnology 281  
 plant regeneration 270  
 plasmid R64 261  
 plasminogen 250

plate count 277  
*platycodon grandiflorum* 271  
 platycodon root 223, 272  
 podophyllotoxines topoisomerase 2 235  
 polished rice 266  
 pollen morphology 269  
 poly drug abuse 213  
 polyacetylene 271  
 polycarbonate 238  
 polyetherurethane 227  
 polyethylene hollow fiber 265  
*polygala tenuifolia* 222  
 polygalaceae 222  
 polymerization regulator 238  
 O-polysaccharide 241  
 polystyrene 238  
 polyvinylpyrrolidone (PVPP) 77  
 post harvest application 233, 267  
<sup>32</sup>P-postlabeling 254  
 potassium bromate 245, 246  
 potassium channel 223  
 powdered herbal medicines 274  
 precision 224, 225, 274  
 preclinical study 278  
 prediction 218, 245  
 prednisolone acetate 107  
 preparation process 269  
 primary cultured hepatocyte 276  
 processed pseudogene C-epsilon 3 262  
 processing methods 272  
 production 97  
 proliferating cell nuclear antigen 256  
 promotor region 231  
 pronase 267  
 protamine sulfate 133  
 protein phosphorylation 248  
 protein preparation 217  
 protocol for MLA 280  
 pulmonary fibrosis 259  
 purinoceptor 253, 256  
 pyrethroid 265  
 pyridoxine hydrochloride 230  
 pyridylamino sugar chain 221  
 pyrogen 241

## Q

QA 246  
 quality control 143, 273, 274  
 quality evaluation 101, 104, 107, 111, 114, 121, 127, 133  
 quantitative evaluation 225  
 quasi-drugs 275  
 quinine actinometry 218  
 quinones 243

## R

rat 31, 36, 51, 58, 64, 256, 257, 259  
 rat basophilic leukemia cell 234  
 rat limb bud 228  
 rationalization 269  
 RBL-2H3 240  
 reactive oxygen 258  
 receptor 278  
 Red 202 229  
 regenerated plants 270  
 release 224  
 release rate 218, 219  
 release test 217  
 renal dysplasia 253  
 renal scintigraph 222  
 reproducibility 217  
 reproductive and developmental toxicity 246  
 ReproTox 256  
 restriction endonuclease 241  
 retention index 233  
 rice 266, 267  
 risk assessment 1, 276  
 risk communication 245  
 rodent erythrocytes 279  
 royal jelly 236  
 rubber accelerator 229  
 rubber allergen 229  
 rubber boot for farmer 228  
 rubber glove 229  
*rubia tinctorum* 236

## S

*S. typhimurium* 261  
 safety management 230  
 salmonella 242  
*salmonella enteritidis* 243, 277  
*salmonella typhimurium* NM2009 261  
*salmonella typhimurium* 260  
 selected ion monitoring 233  
 sensory neurons 249  
 serum response 231  
 shelf-life 217, 218  
 shikonin 223  
 shoot culture 271  
 shrimp 266  
 sialic acid 69  
 sick building syndrome (SBS) 275  
 significance of sugar chain 273  
 size 281  
 sloughing 222  
 SMCP 226, 275  
 smooth muscle 254  
 solid phase extraction 226  
 somatic embryogenesis 271



SPE 226  
 specificity 249  
 sphingolipid 247  
 stability 219, 266, 281  
 stability prediction 218  
 stabilization 219  
 standard reference materials 227  
 sterilization 225, 275  
 stevioside 31  
 stomach carcinogenesis 256  
 stomach irritation 246  
 striatum 250  
 structure analysis of sugar chain 273  
 subchronic toxicity study 36, 44  
 substantial equivalence 234, 276  
 succinct presentation of evaluations 84  
 sulfate content 236  
 superoxide 239, 276  
 suppository 217  
 suramin 253  
 surfactant 230  
 survival curve method 275  
 synaptic transmission 250  
 synergistic effect 255  
 synovial fluid 221

### T

tachykinins 249  
 tannic acid 259  
 tap water 265  
 taxaceae 270  
 tea 265  
 temperature 217  
 teratogenicity 31, 268, 269  
 teratogenicity test 252, 253  
 terbium chloride 231  
 tert-butyl-hydroquinone 64  
 para-tertiary butylphenol formaldehyde resin  
 228, 229  
 testicular iron 222  
 testicular toxicity 247  
 1, 2, 3, 4-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin 232  
 tetrachloroethylene 232  
 tetracyclines 263  
 tetrahydrocannabinol 272  
 tetramethylsuccinonitrile 236  
 thapsigargin 240  
 thermoluminescence 238  
 thiourea 225  
 thiuram-type accelerator 229  
 three dose levels 279  
 thrombin 222  
 thyroid carcinogenesis 258  
 thyroid hormone 258  
 thyroid tumorigenesis 258

tilapia 74  
 time course 258  
 tissue culture 222  
 total diet study 234  
 toxic compound original 226  
 toxic compounds elution 226  
 toxicity test 247  
 toxicokinetics 277, 278  
 toxicologic pathology 278  
 transgenic mouse 260, 279, 280  
 translation initiation 243  
 transposition 243  
 tributyltin chloride 268  
 1, 2, 4-trichloro dibenzo-*p*-dioxin 232  
 triolein 263  
 trypan blue 252  
 tryptophan 233  
 L-tryptophan 233  
 TSH 258  
 tumor-promotion 227  
 tumorigenesis 227  
 a twenty-eight-day repeated oral dose toxicity  
 test 19

### U

U937 262  
 ulinastatin 127  
 ultraviolet radiation 218  
*umu* test 261  
*umuDC<sub>ST</sub>* 262  
 uniformity of dosage unit 135  
 unsuppressed ion chromatography 234  
 up stream binding protein(UBF) 231  
 up-dating and future 273  
 USP 281  
 UVA 231

### V

validation 252  
 vasopressin 250  
 ventilation measurement method 230  
*vibrio cholerae* non O1 241  
*vibrio parahaemolyticus* 241  
 volatile organic compounds(VOC) 233, 275  
 volatile substance 238

### W

water quality standard 275  
 water soluble substance 77  
 26-week feeding study 58  
 weight variation tests 272  
 WHO 274  
 whole embryo culture 252, 253  
 wistar rat 19  
 working group 274

**X**

xanthene color 237

**Y**

yew 270

yttrium chloride 246

**Z**

zearalenol 243

zearalenone 240, 243

zeta potential 281

zinc 251, 252

zinc dimethylthiocarbamate(Ziram) 269

zinc finger 245

zygomycetes 277

# 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。
  - 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。
  - 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。
  - 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。
  - 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。
3. 用紙および枚数の制限：原則としてA4用紙（40字×25行）を用いる。原稿の長さは表、図、写真を含め刷り上がりページ数で下記の規定に従う（日本語および英語の場合、刷り上がり1ページはそれぞれA4用紙約2枚および約3枚に相当。表、図、写真は平均して各2枚がA4用紙1枚分として概算）。
  - 総 説：原稿を依頼するとき別に定める。
  - 報 文：8ページ以内。
  - ノートおよび資料：5ページ以内。
  - ステートメント：2ページ以内。
  - 業務報告：各部および各薬用植物栽培試験場について2ページ以内。
  - 誌上発表：一題目について要約部分が500字以内。
4. 原稿の提出：原稿は表紙（第1ページとする）、英文要旨、本文、文献、英文要旨の和文（参考）、最後に図表を入れた封筒の順に左上をひもなどでとじ、表紙右上に報文、ノート、資料のうち希望する分類を朱書きし、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係宛に提出する。
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、新おくりがなの、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、タイプライターあるいはワードプロセッサを用い、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

3.1 単位のべき指数表記には、次の記号を用いる。

|     |          |           |   |      |           |            |       |
|-----|----------|-----------|---|------|-----------|------------|-------|
| テ   | ラ (tera) | $10^{12}$ | T | ミ    | リ (milli) | $10^{-3}$  | m     |
| ギ   | ガ (giga) | $10^9$    | G | マイクロ | (micro)   | $10^{-6}$  | $\mu$ |
| メ   | ガ (mega) | $10^6$    | M | ナ    | ノ (nano)  | $10^{-9}$  | n     |
| キ   | ロ (kilo) | $10^3$    | k | ピ    | コ (pico)  | $10^{-12}$ | p     |
| デ   | シ (deci) | $10^{-1}$ | d | フェムト | (femto)   | $10^{-15}$ | f     |
| センチ | (centi)  | $10^{-2}$ | c | アト   | (atto)    | $10^{-18}$ | a     |

3.1 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(セルシウム)          | °C               | parts per billion | ppb              |
| マイクロメートル           | $\mu\text{m}$ | 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                |
| ( $m\mu$ を用いない)    |               | カウント毎分            | cpm              | 施光度               | <i>a</i>         |
| オングストローム           | Å             | (cps を用いない)       |                  | 吸光度               | <i>A</i>         |
| 平方メートル             | $\text{m}^2$  | グレイ               | Gy               | 水素イオン指数           | pH               |
| アール                | a             | シーベルト             | Sv               | <i>pK</i> 値       | <i>pK</i>        |
| リットル               | l             | クーロン/キログラム        | C/kg             | ミハエリス定数           | <i>Km</i>        |
| (L を用いない)          |               | サイクル              | cycle            | <i>Rf</i> 値       | <i>Rf</i>        |
| ミリリットル             | ml            | 回毎分               | rpm              | 保持時間              | <i>tr</i>        |
| (cc を用いない)         |               | ヘルツ               | Hz               | 50%致死量            | LD <sub>50</sub> |
| マイクロリットル           | $\mu\text{l}$ | カンデラ              | cd               | 50%有効量            | ED <sub>50</sub> |
| ( $\lambda$ を用いない) |               | ルクス               | lx               | 経口投与              | p. o.            |
| 立法メートル             | $\text{m}^3$  | 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            | $\mu\text{g}$ | トル                | Torr             | 皮下投与              | s. c.            |
| ( $\gamma$ 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          | $\text{cm}^{-1}$ | 標準偏差              | S. D.            |
| 分                  | min           | (カイザー)            |                  | 標準誤差              | S. E.            |
| 秒                  | sec           | 融点                | mp               | 紫外吸収              | UV               |
| (時間は複数でも s をつけない)  |               | 分解点               | mp(dec.)         | 赤外吸収              | IR               |
| アンペア               | A             | 沸点                | bp               | 核磁気共鳴             | NMR              |
| ボルト                | V             | 凝固点               | fp               | 電子スピン共鳴           | ESR              |
| オーム                | $\Omega$      | 比重                | <i>d</i>         | 施光分散              | ORD              |
| ガウス                | G             | 屈折率               | <i>n</i>         | 円偏光二色性            | CD               |
| エルステッド             | Oe            | 重量パーセント           | %                | マスペクトル            | MS               |
| ジュール               | J             | 容量/重量パーセント        | v/w%             |                   |                  |
| カロリー               | cal           | parts per million | ppm              |                   |                  |

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 Papaver somniferum L.

スモールキャピタル=====例：著者名など L-ascorbic acid

## 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、ワードプロセッサあるいは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“Keywords”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、それらの挿入位置に若干の余白を設け、図表の番号を明記する。

7.6 文献：本文の引用箇所の右肩に<sup>3)</sup>、<sup>2,5)</sup>、<sup>1-4)</sup>のように記し、終わりに文献として引用順に書く。雑誌名はChemical Abstractsおよび日本化学総覧の略記法による。外国雑誌名はイタリック体で表し、単行本は書名を省略せず、編者名や出版地も記載する。

7.7 図表：図、写真、表は本文とは別にし、それらの挿入位置を本文の左欄に朱書きする。図、表は原則として英語で書く。図は白紙あるいは青色方眼用紙に2倍程度の大きさに黒で鮮明に描く。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。表は1ページにおさまるように作る。

図の番号はFig. 1., Fig. 2., …とし、表題、説明は別のA4用紙にまとめて書く。表中の項目に関する注は右肩に<sup>a)</sup>,<sup>b)</sup>,<sup>c)</sup>のように記して表す。なお、表題、説明も原則として英語で書き、表題は大文字ではじめ、最後に.をつけない。

例：Fig. 1. Influence of enzyme concentration on reductive suger production

Fig. 2. Reaction of ephedrine and pseudoephedrine with acetone as a function of time

図および表は、その裏に番号、題名、著者、本文中の挿入ページを記す。また、電子顕微鏡写真には希望する縮尺を記入する。提出するときは一括して封筒に入れ、そのおもてに論文題名、著者名、ならびに図、表のそれぞれの枚数を記し、原稿の最後にとじる。

8. 誌上发表等の記載要領：誌上发表、単行本、行政報告、学会発表については、別に定める記載要領および例示に従う。

## 校 正

初校は著者が行う。人名、化学名、数値、文献などは特に綿密に校正する。内容の追加、行数の増加は認めない。

国立衛生試験所図書委員会

平成7年度図書委員

|       |       |       |         |
|-------|-------|-------|---------|
| 齋藤行生  | *高橋道人 | 神沼二真  | 最所和宏    |
| *川西徹  | 小野景義  | *林護   | 関田寛     |
| 穂山浩   | *坂元史歩 | 宮田直樹  | 手島玲子    |
| 嶺岸謙一郎 | 宮原美知子 | 川島邦夫  | 津田充宥    |
| 高田幸一  | *林真   | *鎌田栄一 | *四方田千佳子 |
| 酒井英二  | *上沼陽子 |       |         |

(\*は編集委員)

衛生試験所報告 第113号

平成7年10月25日 印刷

平成7年10月30日 発行

発行所 国立衛生試験所化学物質情報部  
東京都世田谷区上用賀1丁目18番1号

印刷所 サンコー印刷株式会社  
東京都文京区小石川2-25-12-903

