

ISSN 0077-4715
CODEN : ESKHA 5

衛生試験所報告

平成8年

Bulletin of
National Institute of
Health Sciences

No. 114

1996



国立衛生試験所

衛生試験所報告

平成8年

Bulletin of National Institute of Health Sciences

No. 114 1996

Published by
National Institute of Health Sciences
Tokyo, Japan

国立衛生試験所

目 次

総 説

遺伝子改変動物を用いた生物試験研究……………井上 達…… 1

報 文

下痢症患者より分離された *Escherichia coli* O44 の制限酵素 *Eco*O44I の精製……宮原美知子・篠原信之・三瀬勝利……13

塩化マグネシウム六水和物のラットを用いた催奇形性試験……………宇佐見 誠・酒見和枝・津田充宥・大野泰雄……16

Benzimidazole 系化合物反復投与ラットにおける肝腫瘍プロモーション作用の強さ

……………小野寺博志・三森国敏・畝山智香子・安原加壽雄・竹川 潔・高橋道人……21

クチナシ青色素の F344 ラットにおける 13 週間亜慢性毒性試験

……………今沢孝喜・西川秋佳・古川文夫・田中丸善洋・李 仁善・金 享津・高橋道人……27

ラット肝および肺の腫瘍発生に対する抗甲状腺物質の修飾作用

……………竹川 潔・三森国敏・小野寺博志・下 武男・高橋正一・安原加壽雄・高橋道人……33

ノ ー ト

天然添加物「グレープフルーツ種子抽出物」の HPLC および LC/MS による成分分析

……………坂元史歩・佐藤恭子・米谷民雄・山田 隆……38

研究に関する資料

水銀、PCB およびヒ素の魚介類由来の年次別摂取量および魚体重別汚染レベルの比較調査

……………五十嵐敦子・佐々木久美子・豊田正武・斎藤行生……43

エイズ医薬品候補スクリーニング研究 VI. 1993 年度報告

……………牛島廣治・高橋啓明・国貞孝夫・森次保雄・小林伸好・野口有三・松山雅子・秋吉京子・

野呂新一・沢田春美・桜田教夫・山田 明・石崎 徹・神村紀子・吉田幸雄・小野哲郎・

大友信也・森下高行・小林慎一・三宅恭司・石原祐弼・鈴木亮而・斉藤隆行・衛藤繁雄・

大竹 徹・森 治代・森本素子・上羽 昇・千々和勝巳・田中慶司・関根大正・

大貫奈穂美・貞増健志・太田健爾・工藤泰雄・三瀬勝利……48

エイズ医薬品候補スクリーニング研究 VII. 1994 年度報告

……………大貫菜緒美・風間公夫・貞増健志・関根大正・太田健爾・工藤泰雄・小林伸好・野口有三・

松山雅子・秋吉京子・野呂新一・沢田春美・木村浩男・山田 明・石崎 徹・神村紀子・

吉田幸雄・小野哲郎・橘 宣洋・森下隆行・小林慎一・三宅恭司・石原祐弼・石川直久・

斉藤隆行・衛藤繁雄・大竹 徹・森 治代・森本素子・上羽 昇・千々和勝巳・

森 良一・三瀬勝利・牛島廣治・高橋啓明・国貞孝夫・森次保雄……50

国立衛生試験所における情報と計算のための基盤環境 (NICI) ……………中田琴子・中野達也・神沼二眞……53

インターネットによる情報提供のための基盤システムの開発

……………神沼二眞・中田琴子・中野達也・五十嵐貴子・石川恵司・蕪山典子……62

構造情報と相互作用情報を有する医薬品データベースの開発

……………中野達也・長谷川式子・山本 都・神沼二眞・平山令明・川出 達……71

インターネットによる化学物質安全性情報の提供

……………大竹千代子・山本 都・中野達也・中田琴子・石川恵司・神沼二眞……76

インターネットによる医薬品情報提供……………山本美智子・中野達也・石川恵司・五十嵐貴子・神沼二眞……84

各国の安全性評価を国際化する IPCS の新しい評価情報シリーズ：国際簡潔評価文書……………関沢 純……89

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 (1995 年度) ……………大竹千代子……95

自動分析装置を用いた血清生化学検査での酵素活性計算法の変更について

—K ファクターとヒト標準血清を用いた測定 (計算) 法の比較—……………斉藤 実・長谷川隆一・井上 達……99

平成 7 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・三島郁子・辻 澄子・柴田 正… 102

標準品に関する資料

国立衛生試験所センノシド標準品 (Control 951) ……………岡田敏史・北島 文・谷本 剛・鈴木英世・佐竹元吉… 106

国立衛生試験所ジギトキシシン標準品 (Control 951)

| | |
|---|-----|
|北島 文・前川京子・吉井公彦・小松裕明・谷本 剛・岡田敏史... | 113 |
| 国立衛生試験所ベタメタゾン標準品 (Control 951) | |
|北島 文・前川京子・吉井公彦・小松裕明・谷本 剛・岡田敏史... | 116 |
| 国立衛生試験所酢酸トコフェロール標準品 (Control 941) | |
|北島 文・前川京子・吉井公彦・小松裕明・谷本 剛・岡田敏史... | 119 |
| 国立衛生試験所シアノコバラミン標準品 (Control 951) | |
|北島 文・前川京子・吉井公彦・小松裕明・谷本 剛・岡田敏史... | 122 |
| 国立衛生試験所 <i>dl</i> -カンフル標準品 (Control 951) | |
|北島 文・前川京子・吉井公彦・小松裕明・谷本 剛・岡田敏史... | 125 |
| 国立衛生試験所リゾチーム標準品 (Control 951).....北島 文・田頭洋子・前川京子・谷本 剛・岡田敏史... | 128 |
| 国立衛生試験所ヒト成長ホルモン標準品 (Control 951) | |
|四方田千佳子・岡田敏史・内田恵理子・森本和慈・早川堯夫... | 130 |
| 国立衛生試験所標準品 (色素試験用標準品) ファストグリーン FCF 標準品について | |
|石光 進・三島郁子・辻 澄子・柴田 正... | 136 |
| 国立衛生試験所下垂体性性腺刺激ホルモン標準品 (Control 961) | |
|江馬 真・原園 景・宮脇英美子・天野博夫・小川義之・岡田敏史... | 138 |
| ステートメント | |
| レギュラトリーサイエンス討論会 | |
| 生物学的同等性の評価法.....青柳伸男... | 141 |
| マトリキシング法によって推定される医薬品製剤の有効期間.....吉岡澄江・阿曾幸男・小嶋茂雄... | 143 |
| 局方生薬の成分定量.....鈴木英世・佐竹元吉... | 145 |
| 熱分析法の医薬品の品質評価試験への応用.....小松裕明・吉井公彦・岡田敏史... | 147 |
| レギュラトリーサイエンス関連会議報告 | 150 |
| 業務報告 | 165 |
| 誌上発表 | 211 |
| 単行本 | 264 |
| 行政報告 | 266 |
| 学会発表 | 272 |
| 衛試例会 | 296 |
| 平成7年度に行った主な研究課題 | 300 |
| 国家検定および検査等の処理状況 | 307 |
| 国立衛生試験所標準品 | 311 |
| 衛生試験所報告第114号キーワード索引 | 321 |

CONTENTS

Review

The Use of Biotechnological Recombinant-Mice in Biological Safety Research.....Thoru Inoue..... 1

Originals

Purification of *Eco*O44I Restriction endonuclease in *Escherichia coli* O44 Isolated from an Affected Human
.....Michiko Miyahara, Nobuyuki Shinohara and Katsutoshi Mise.....13

Teratogenicity Study of Magnesium Chloride Hexahydrate in Rats
.....Makoto Usami, Kazue Sakemi, Mitsuhiro Tsuda and Yasuo Ohno.....16

Intensity of Liver Tumor Promotion Effects in Rats Given Repeated Oral Administrations of
Benzimidazole Compounds
.....Hiroshi Onodera, Kunitoshi Mitsumori, Chikako Uneyama, Kazuo Yasuhara,
Kiyoshi Takegawa and Michihito Takahashi.....21

A 13-week Subchronic Toxicity Study of Gardenia Blue in F344 Rats
.....Takayoshi Imazawa, Akiyoshi Nishikawa, Fumio Furukawa, Zen-yo Tanakamaru,
In-Seon Lee, Hyoung-Chin Kim and Michihito Takahashi.....27

Modifying Effects of Goitrogens on the Tumor Development in the Liver and Lung of Rats
.....Kiyoshi Takegawa, Kunitoshi Mitsumori, Hiroshi Onodera, Takeo Shimo,
Masakazu Takahashi, Kazuo Yasuhara and Michihito Takahashi.....33

Notes

Analysis of Components in Natural Food Additive "Grapefruit Seed Extract" by HPLC and LC/MS
.....Shiho Sakamoto, Kyoko Sato, Tamio Maitani and Takashi Yamada.....38

Technical Data

Annual Daily Intakes of Hg, PCB and Arsenic from Fish and Shellfish and Comparative Survey of
Their Residue Levels in Fish by Body Weight
.....Atsuko Ikarashi, Kumiko Sasaki, Masatake Toyoda and Yukio Saito.....43

Preliminary Screening for Antiviral AIDS Drugs VI. Report for Fiscal Year 1993
.....Hiroshi Ushijima, Keimei Takahashi, Takao Kunisada, Yasuo Moritsugu, Nobuyoshi Kobayashi,
Yuzo Noguchi, Masako Matsuyama, Kyoko Akiyoshi, Shinichi Noro, Harumi Sawada,
Norio Sakurada, Akira Yamada, Tohru Ishizaki, Noriko Kamimura, Yukio Yoshida,
Tetsuro Ono, Nobuya Ohtomo, Takayuki Morishita, Shinichi Kobayashi, Takashi Miyake,
Yuichi Ishiwara, Ryoji Suzuki, Takayuki Saito, Shigeo Etoh, Tohru Ohtake, Haruyo Mori,
Motoko Morimoto, Noboru Ueba, Katsumi Chijiwa, Keiji Tanaka, Hiromasa Sekine,
Nahomi Ohnuki, Kenji Sadamasu, Kenji Ohta, Yasuo Kudoh and Katsutoshi Mise.....48

Preliminary Screening for Antiviral AIDS Drugs VII. Report for Fiscal Year 1994
.....Nahomi Ohnuki, Kimio Kazama, Takeshi Sadamasu, Hiromasa Sekine, Kenji Ohta,
Yasuo Kudoh, Nobuyoshi Kobayashi, Yuzo Noguchi, Masako Matsuyama, Kyoko Akiyoshi,
Shinichi Noro, Harumi Sawada, Hiroo Kimura, Akira Yamada, Tohoru Ishizaki,
Noriko Kamimura, Yukio Yoshida, Tetsuo Ono, Nobuyoshi Tachibana, Takayuki Morishita,
Shinichi Kobayashi, Takeshi Miyake, Yuichi Ishiwara, Naohisa Ishikawa, Takayuki Saito,
Shigeo Etoh, Tohoru Ohtake, Haruyo Mori, Motoko Morimoto, Noboru Ueba, Katsumi Chijiwa,
Ryouichi Mori, Katsutoshi Mise, Hiroshi Ushijima, Keimei Takahashi,
Takao Kunisada and Yasuo Moritsugu.....50

NIHS Information and Computing Infrastructure (NICI)
.....Kotoko Nakata, Tatsuya Nakano and Tsuguchika Kaminuma.....53

Development of a Base System for Information Dissemination on the Internet
.....Tsuguchika Kaminuma, Kotoko Nakata, Tatsuya Nakano, Takako Igarashi,

| | |
|--|---|
| | Keiji Ishikawa and Noriko Kabuyama.....62 |
| A Structure Based Pharmaceutical Database for Drug Interactions | |
|Tatsuya Nakano, Shikiko Hasegawa, Miyako Yamamoto, Tsuguchika Kaminuma, | |
| | Noriaki Hirayama and Tohru Kawaide.....71 |
| An International Exchange and Dissemination of Chemical Safety Information on the Internet | |
|Chiyoko Ohtake, Miyako Yamamoto, Tatsuya Nakano, Kotoko Nakata, | |
| | Keiji Ishikawa and Tsuguchika Kaminuma.....76 |
| Dissemination of Drug Information on the Internet | |
| ...Michiko Yamamoto, Tatsuya Nakano, Keiji Ishikawa, Takako Igarashi and Tsuguchika Kaminuma.....84 | |
| Concise International Chemical Assessment Document (CICAD) : A New Chemical Safety Series | |
| in IPCS, Internationalizing National Reviews.....Jun Sekizawa.....89 | |
| First Drafts of the Environmental Health Criteria (EHC) Circulated for Comments By IPCS | |
| in 1995~1996.....Chiyoko Ohtake.....95 | |
| Change of Calibration Method for Enzyme Assay in Clinical Biochemistry Using Automatic Analyzer | |
| —Comparison of Calibration Methods Using K Factor and Human Standard Serum— | |
|Minoru Saitoh, Ryuichi Hasegawa and Tohru Inoue.....99 | |
| Estimated Production by the Official Inspection of Coal-Tar Dyes (Including Dye Aluminium Lakes) in 1995 | |
|Susumu Ishimitsu, Ikuko Mishima, Sumiko Tsuji and Tadashi Shibata... 102 | |
| Reference Standard Data | |
| Sennosides Reference Standard (Control 951) of the National Institute of Health Sciences | |
|Satoshi Okada, Aya Kitajima, Tsuyoshi Tanimoto, Hideyo Suzuki and Motoyoshi Satake... 106 | |
| Digitoxin Reference Standard (Control 951) of the National Institute of Health Sciences | |
|Aya Kitajima, Keiko Maekawa, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu, | |
| | Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada...113 |
| Betamethasone Reference Standard (Control 951) of the National Institute of Health Sciences | |
|Aya Kitajima, Keiko Maekawa, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu, | |
| | Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada... 116 |
| Tocopherol 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... 119 |
| Cyanocobalamin Reference Standard (Control 951) of the National Institute of Health Sciences | |
|Aya Kitajima, Keiko Maekawa, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu, | |
| | Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada... 122 |
| <i>dl</i> -Camphor Reference Standard (Control 951) of the National Institute of Health Sciences | |
|Aya Kitajima, Keiko Maekawa, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu, | |
| | Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada... 125 |
| Lysozyme Reference Standard (Control 951) of the National Institute of Health Sciences | |
|Aya Kitajima, Yoko Tagashira, Keiko Maekawa, Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada... 128 | |
| Somatropin Reference Standard (Control 951) of the National Institute of Health Sciences | |
|Chikako Yomota, Satoshi Okada, Eriko Uchida, Kazushige Morimoto and Takao Hayakawa... 130 | |
| Studies on "Fast Green FCF Standard" for the Dye Standard on the National Institute of Health Sciences | |
|Susumu Ishimitsu, Ikuko Mishima, Sumiko Tsuji and Tadashi Shibata... 136 | |
| Human Menopausal Gonadotrophin Reference Standard (Control 961) of the National Institute | |
| of Health Sciences | |
|Makoto Ema, Akira Harazono, Emiko Miyawaki, Hiro Amano, | |
| | Yoshiyuki Ogawa and Satoshi Okada... 138 |

Statements**Regulatory Science Forum**

| | | |
|--|---|-----|
| Assessment of Bioequivalence..... | Nobuo Aoyagi··· | 141 |
| Shelf-life Estimation of Pharmaceutical Products by Matrixing | Sumie Yoshioka, Yukio Aso and Shigeo Kojima··· | 143 |
| Determination of Crude Drugs in the Pharmacopeia | Hideyo Suzuki and Motoyoshi Satake··· | 145 |
| Application of Thermal Analysis to Quality Evaluation Tests of Drugs | Hiroaki Komatsu, Kimihiko Yoshii and Satoshi Okada··· | 147 |
| Meeting Reports Related to Regulatory Science | | 150 |
| Annual Reports of Divisions | | 165 |
| Summaries of Papers Published in Other Journals | | 211 |
| Title of Scientific Books | | 264 |
| Scientific Reports to Governmental Agencies | | 266 |
| Titles of Speeches at Scientific Meetings etc. | | 272 |
| NIHS Seminars | | 296 |
| Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 1995 | | 300 |
| Survey of the Results of National Tests | | 307 |
| Reference Standards Prepared by the National Institute of Health Sciences | | 311 |
| Subject Index | | 321 |

遺伝子改変動物を用いた生物試験研究

井上 達

The Use of Biotechnological Recombinant-Mice in Biological Safety Research

Tohru Inoue

Number of transgenic and knock-out mice increased rapidly during the last decade. This review article describes a potential usefulness of transgenic and knock-out mice for biological safety research with respect to each toxicological category for safety evaluations, such as studies for carcinogenicity, general toxicology, genotoxicologic testing, and immuno-toxicological evaluations. In the carcinogenicity, a possible model required for a short-term study in carcinogenicity was discussed. Further, a couple of future subjects were focused specifically on the biotechnology-derived pharmaceuticals and the biotechnical recombinant-mice as a second generation, i.e. experimental mice with double or multiple gene-recombination. Those usefulnesses were also introduced briefly. Establishing the biotechnical recombinant-mice for each safety testing contributes not only to simplify and qualify the on-going evaluation system, but also to the traditional animal studies to be re-evaluated, so that the solutions may lead them to a future in vitro-alternative system much smoothly. For general references, historical reviews on the biotechnical recombination in experimental animals were also briefly introduced to elucidate a new broad area in developmental biology.

Keywords : biotechnological recombinant-mice, transgenic animals, knock-out mice

(Received May 31, 1996)

1. はじめに

安全性にかかわる生物試験研究領域でも種々の目的で遺伝子改変動物が用いられるようになってきた^{1,2)}。この背景には、1) 細胞の分裂・増殖をはじめ、傷害や死といったごく一般的な生命現象に関連する分子や遺伝子の動態が急速に理解されるようになり、2) それらの知見がその一般性ゆえに個々の科学分野や、専門別・臓器別といった諸境界を越えて広くボーダレスに拡がり、3) 個々のノウハウの幅広い相互利用が進展しつつあるという実態がある。ところでここで述べる遺伝子改変動物とは、同種もしくは異種の遺伝子を過剰もしくは新たに発現させた動物³⁾ (遺伝子導入動物=トランスジェニック動物、以下「ト」動物) および、未知もしくは既知の特定遺伝子の発現をむしろ欠失させることを目的とした動物⁴⁾ (標的遺伝子欠失動物=ノックアウト動物、以下“KO”動物) の双方を指している。両者は、遺伝子の“付加的発現”と“発現欠失”という相反した機能をもつこともさることながら、作製法も大きく異なり、したがって対象となる動物種は更に異なり、必然的に目的も異なっている。「ト」動物の場合はその目的によって導入する遺伝子は大腸菌からヒトに至る様々にわたり、また受け手の動物もこれまた大腸菌、酵母などの原核生物からマウス・ラット・ウサギのような小型

ほ乳類、ヒツジ、ヤギ、ブタ、更にはウシに至る大型家畜動物までの広範な動物⁵⁾が対象となっている。また魚類や両生類などもその取り扱い易さなどからしばしば用いられている⁶⁾。KO動物はこれに対して現状では実際の手技と行程の煩雑さもあり、主として実験用のマウスが主な対象となっている⁴⁾。

こうした遺伝子改変動物を用いた研究の進展には眼を見張るものがあり、その歴大且つ多岐にわたる全般的な概説を行うことは本稿の目的でない。ここでは、それらのうち安全性生物試験研究に用いられつつあるか、もしくは今後積極的に利用されて良い遺伝子改変動物について通覧・考察し、この領域の将来像を展望する。特に安全性にかかわる生物試験研究に拘泥した理由は、これまでこの領域の試験研究では極く限られた遺伝子改変動物が用いられてきたに過ぎないが、その本来の可能性は広範にわたっており、近い将来は生物試験での少なからぬ部分が遺伝子改変動物を用いたものに置き換えられて行く可能性を十分に内包していると考えられるからである。当該遺伝子改変動物の作製法はすでにかなり普及しており、技術書^{3,4,7,8)}も少なくないので、これらの作製法については以下に簡単に略述するにとどめ、主に遺伝子改変動物の安全性生物試験研究への応用の現状と将来を概観し、最後に新世代の遺伝子改変動物、“複合型遺伝子改変動物”を用いた生物試験の可能

性についても展望してみたい。

2. トランスジェニック・マウス (「ト」マウス) の作製^{3,7)}

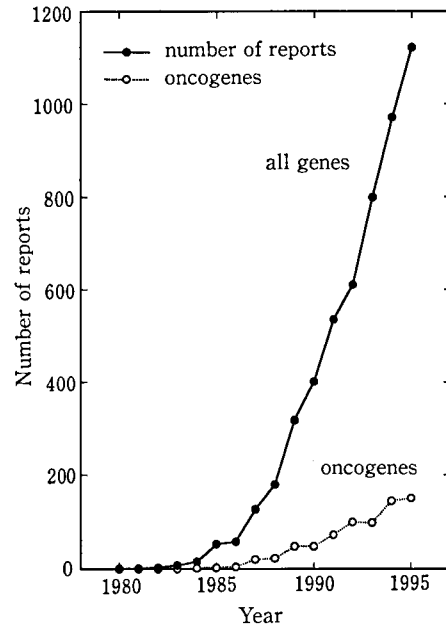
ある対象の遺伝子を株化された細胞レベルで発現させるためには、発現調節体と目的の構造遺伝子を組み合わせた“ベクター遺伝子”を構築して、電気穿孔法やリン酸カルシウム法などによって導入し、ついでこの導入クローンを選択することによって達せられる。一方こうした発現を「ト」マウスのような個体レベルで検証するためには、ベクター遺伝子をガラス・キャピラリーによる微小管で受精卵の前核に刺入する。刺入されたベクター遺伝子は、卵割過程でゲノム遺伝子に組み込まれれば、個体形成に応じて生殖細胞系列と体細胞系列とを問わず全身の細胞に組み込まれることになる。生殖系列に入った当該遺伝子がどの程度に恒常性 (stable) を維持し続けるかは異種の付加的遺伝子の場合、論理の上では未知の事柄に属するが、実質的には何世代にもわたって消失もせず、付加的な転換 (mutation) も生ずることなく維持され利用されている「ト」マウスが少なくない。

発現ベクター遺伝子を含む約 2 pl (500~1000 コピー程度) の微量な DNA 溶液を、位相差顕微鏡下で受精卵の前核に注入し、当該遺伝子の発現する「ト」マウスを Gordon たちが初めて作製したのは 1980 年のことであった^{9~14)}。ほどなく Brinster たち¹⁵⁾ が SV40 の largeT 遺伝子で、Stewart ら¹⁶⁾ が myc 遺伝子で「ト」マウスの作製に成功し、いわゆるがん遺伝子関連ではじめての「ト」マウスが誕生した。いずれも 1984 年のことであるから、がん遺伝子との関連で見るとその歴史はまだ 10 年余りを数えるに過ぎない。Fig. 1a および Fig. 1b は遺伝子一般とがん遺伝子とに分けて、「ト」マウスの報告論文数を表したもののだが、双方ともこの 10 年間にわたってその数がほぼ直線的に増加してきたことがわかる。

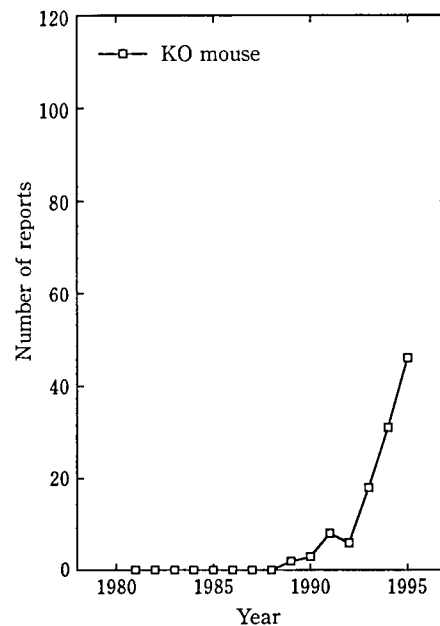
「ト」マウスの作製法には、この他に標的遺伝子の組換え法による発現法がある。このものは、標的遺伝子のノックアウト法に準じた方法によるので、次の KO 法の項で一括して述べることにする。

3. ノックアウト・マウス (KO マウス) の作製^{4,8)}

初期発生期の胚盤胞を構成する内細胞塊 (inner cell mass) 由来の細胞は多方向分化能を保持しており、これを樹立した細胞系を胚幹細胞とよんでいる。1981 年、Evans と Kaufman¹⁷⁾ および Martin¹⁸⁾ はそれぞれ別々に、この胚幹細胞を胚盤胞に戻すことにより、その移入した細胞を構成成分とするキメラ・マウスをつくることに成功した。KO マウスの作製は、この成功を基礎に、*E. Coli* などですでに進展していた相同遺伝子組換えを、あらたに発生工学的に一对の相同染色体をもつマウスへと適用したも



a)



b)

Fig. 1. Rapid increase in transgenic mice a), and the K. O. mice b) reported by year.

のである。いま胚幹細胞の遺伝子と相同遺伝子ベクターとを組替えるならば、組み換えた遺伝子の導入されたキメラ・マウスを作ることができるから、もし by chance で確率的にその相同遺伝子ベクターが生殖細胞系列に入った場合は、その F1 を交配することによって組み換え遺伝子を持ったマウスが生まれてくることになる。この方法であらかじめ標的遺伝子の発現が起こらないように破壊したベクターを用いることによって、標的遺伝子の全く働かないマウス、すなわち KO マウスを作製することができるし、

あらかじめ別の過剰発現ベクターを入れ替えておけば、前項で説明した「受精卵に遺伝子導入する方法」とは別のタイプの「ト」マウスをつくることができることになる。KO マウスは、gene targeting あるいは gene disruption などとも呼称される。標的遺伝子の機能を欠失させ導入細胞をクローニングする選別ストラテジーとしては、基本的には Capecchi の “positive-negative selection 法” が用いられている¹⁹⁾。この方法では、ネオマイシンやカナマイシンへの耐性遺伝子導入によって導入細胞クローンを選別 (positive selection) するとともに、他方、相同組換えの目安として構築ベクターの末端にジフテリア・トキシン遺伝子やチミジン・キナーゼ遺伝子を組み込み、組み替えが非相同性で、これらが外れない場合には自滅するようにデザインしている (negative selection)。

以上の通り、「ト」マウスと KO マウスは先にも述べたとおり異なった作製法と機能をもつものであるが、両者を別々に分けて記述するのは項目毎の理解にかえて煩雑になるので、以下の論述にあたっては、両者を織りまぜて記述することとする。

4. がん原性試験

いわゆる “がん遺伝子 (oncogenes)” の導入実験は、「ト」マウスの開発当時はセンセショナルに受けとめられた。しかし、ケースを積み重ね、それら遺伝子の取られてきた背景データや、その元の遺伝子、(すなわち “がん原遺伝子 (proto-oncogenes)”) の機能の本態が明らかになるにしたがって、「ト」マウスの作製そのものは、必ずしも事前の予想以上の結果をもたらすとは限らないことが次第に明らかになってきた。しかしながら、初期のがん遺伝子の「ト」マウス作製研究は、「ト」マウスそのものに関する少なからぬ知見をもたらした。

初期のがん遺伝子「ト」マウス

実験的遺伝子発がんの例を幾つか列挙してみると、Table 1 に明らかなように、*bcl-2*²⁰⁾ のようないわゆるがん遺伝子を導入しても腫瘍の発現の見られなかったケース

Table 1. Classical transgenic mice and carcinogenicity

| Genes transferred | |
|-------------------|-------------------|
| Oncogenes: | |
| abl | plasmacytoma |
| bcl-2 | no lymphoma |
| bcr/abl | leukemia/lymphoma |
| Other genes: | |
| growth hormone | pancreatic tumors |
| GnR. H.*1 | Neuronal tumors |
| IL-6*2 | plasmocytoma |

*1 Gonadotropin releasing hormone

*2 Interleukin 6

もある一方、成長ホルモンやサイトカインのように、細胞増殖を促す遺伝子群では、しばしばオートクライン (auto-crine) の形をとった腫瘍発現が観察されている。その背景には未知の事柄も少なくなく、「ト」マウスにおける遺伝子発現を支配する諸々の要因群にかかわる諸問題が関連しているものと考えられる。すなわちそれらの要因には、1) どんな発現調節体 (promoter/enhancer) で構造遺伝子の発現を促すか、2) 構造遺伝子そのものの構築とその性質 (周知のとおり p53 や ras などでは、野生型と変異型とでは発現態様が本質的に異なる)、3) 宿主の遺伝子の何れの部分に導入されるかに関わるいわゆる positional effect、および、4) 宿主因子とよばれる、同じ遺伝子でも導入する系統などによって遺伝子発現の態様が異なってくる現象などが知られている。例えば先の発現調節体について見ると、同じ SV40 の large T の「ト」マウスでも、発現調節体にアルブミン・プロモータ²¹⁾ やメタロチオネイン・プロモータ²²⁾ を用いたものでは肝細胞がんが出現し、エラストラーゼ I のそれを用いた際には膵臓の腺房腫瘍²³⁾、 α A クリスタリンを用いたものでは眼球 (レンズ) 腫瘍²⁴⁾ とそれぞれ異なって出現した。おなじ SV40 の初期 T 遺伝子プロモータと免疫グロブリンのエンハンサーをつないだ発現調節体を用いた Suda らの結果では脈絡叢の乳頭腫の発生を見ている²⁵⁾。これと逆に発現調節体の方を同じにして、構造遺伝子をいろいろ換えた場合はというと、免疫グロブリンの enhancer を SV40 の初期プロモータと繋いだ同じ発現調節体で観察された myc, ras, および large T の誘導した腫瘍は、それぞれ全く異なった組織に全く異なった腫瘍を発生するといった結果であった²⁵⁾。宿主要因については更に未知の事柄が少なくない。Furuta らが作った SV40 large T 遺伝子の「ト」マウス^{25,26)} は、C57BL/6 と CD1 の F1 を背景としていたが、当初この「ト」マウスはすべてが B 細胞リンパ腫を発症したにもかかわらず、B6 マウスに戻し交配するにしたがって発症腫瘍のスペクトラムが変化し、やがて骨髓異形成症候群を好発する極めて特異な系統に変化した^{26,27)}。遺伝子改変動物作製の基礎になっている分子生物学や発生工学が、今日なお龐大な未知の部分を抱えたままの状態のツールである以上、こうした現段階では説明のむつかしい現象との遭遇もやむを得ざる今後の課題と考えるべきものかもしれない。

この 10 年間、がん遺伝子を対象とした「ト」マウスの開発は、全「ト」マウスの 14~5% とほぼ一定の比率で増加している。

myc 遺伝子導入マウス

バーキット・リンパ腫では、myc が免疫グロブリン・エンハンサーの下流に転座することによって活性化していることが知られている。このマウスは、それにならって遺伝子発現が構築されたもので、すでに Adams らによって

1985年に作製されている²⁸⁾。mycは、いわゆる“がん遺伝子”が本来の調節機構から離れて過剰に発現すると腫瘍発生につながるが、*in vivo*レベルで示された最初の例と考えられる。mycを単独で強制発現させた場合、Table 1でも見たように、腫瘍発生が起こる場合と起こらない場合があるが、その理由はmyc遺伝子の機能の全貌が明らかでない現時点では説明ができない。しかしこのことはmycの「ト」マウスでの腫瘍発生が、しばしば頻度は高いが、発症時期の短縮は認められないという背景と併せて興味深い²⁹⁾。myc遺伝子のこうしたいわば化学発がんにおけるプロモーター作用と似た働きは、myc導入「ト」マウスの造血幹細胞の細胞周期が未熟な幹細胞レベルでのみ亢進して、分化型のそれでは終息している事実とも関連しているものと考えられる²⁹⁾。ここでは未熟型の幹細胞から分化型のそれに分化する過程で大々的なアポトーシスのような事態が起こっていることが想定され、そのことは先のバーキット・リンパ腫で、いわゆるstarry sky現象と呼ばれるアポトーシス所見が多発することとも符合する。以上の性質を総合すると、mycの「ト」マウスは、適当なイニシエーター高感度「ト」マウスと組み合わせることにより、がん原性試験の早期アッセイ系の開発に有用であるものと考えられるが、そうした複合遺伝子「ト」マウスについても、最後の項でふれる。

ras 遺伝子導入マウス

ras遺伝子には、Harvey肉腫ウイルスがラットのゲノムから形質導入した、12および59番目のアミノ酸に変異をもつv-oncのv-Ha-ras³⁰⁾と、そのプロト型でヒト膀胱癌細胞株T24/EJから分離されたc-oncのc-Ha-ras³¹⁾の他、ヒト神経芽細胞腫由来の活性c-onc、c-N-rasなどras群として総称される一連の遺伝子群があり、細胞内シグナル伝達の重要な経路を構成しているものと考えられている。動物細胞における作用機構は確定していない。すでに見てきたようにこのrasの「ト」マウスは初期より作製されており、がん研究それ自体としての意義もさることながら、その比較的広範な腫瘍発生スペクトラムに着目したがん原性試験への応用の可能性が模索されてきた。v-Ha-rasの「ト」マウスでは、LederらによってTPAによる皮膚の乳頭腫(skin papilloma)の誘発が早くから観察されており³²⁾、93年にはbenzoyl peroxide、2-butanol peroxide、phenol、acetic acidなどの種々の化学物質での検討も試みられた³³⁾。他方、活性型rasの遺伝子の「ト」マウスについては、発生期に異常が観察された³⁴⁾。これと相俟って、Saitohらはプロト型Ha-rasの「ト」マウスを開発した³⁵⁾。この「ト」マウスは、生後1年半までに約60%に血管肉腫や肺の腺腫などの自然発生腫瘍を生ずるという腫瘍の好発性を示したが、それらの腫瘍発生の際に導入したヒトras遺伝子特異的にその12番目や60番目のアミ

ノ酸コドンに変異を惹き起こすという特徴をもっていた³⁵⁾。この現象の理由は明らかでないようであるが、この「ト」マウスを発がん性試験に用いることにより、腫瘍の実際上の発生部位の検索にとどまらず、非腫瘍性の諸組織での変異のアッセイを行うことによって、当該物質の発がん性の臓器特異性を予測する可能性に期待が寄せられている。

p53 遺伝子欠失マウス

p53ははじめ大腸がんなどで変異蛋白として取られたが、その後その遺伝子はいわゆる“がん抑制遺伝子”であることが明らかとなり、サイクリン依存性キナーゼの発現を介して細胞周期の抑制的制御に関与することが明らかになっていった^{36,37)}。したがってDonehowerら³⁸⁾、Tsukadaら³⁹⁾、Jacksら⁴⁰⁾、によって相次いでこのものの欠失マウスが作られたとき、それらの胚発生過程にとくに異常が見られなかったことは驚きをもって迎えられた。p53遺伝子発現は胎生後期で減少しているとのことなので、ここでの関与が少なかったということかもしれない。p53遺伝子欠失マウスでは自然発症でも放射線や化学物質による誘導でも基本的に腫瘍が好発する^{38,40)}。その腫瘍発生スペクトラムは、背景となるマウスの系統によって異なるようである⁴¹⁾が、ホモ欠失では2~6ヶ月で胸腺腫、ヘテロ欠失では1年程で様々な肉腫性腫瘍が多発している⁴¹⁾。p53欠失マウスは、放射線誘発腫瘍の感受性が高く⁴²⁾、また、dimethylnitrosamine誘発の肝腫瘍の発生が早期に認められた⁴³⁾。放射線などによるDNAの傷害に際して誘導されるアポトーシスの阻害⁴⁴⁾や、DNA傷害の修復機構が働かなくなることなどがその背景にあるものと考えられている⁴⁵⁾。Tennantらはp53欠失マウスを発がん性試験に利用する可能性を追求する立場から、種々の化学物質に対する試験を進めている。これによれば、DNA傷害を伴うがん原物質として、Benzene、1-chloro-2-methyl propene、*p*-cresidine、7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene、urethaneなど、非遺伝毒性のがん原物質として、*o*-benzyl-*p*-chlorophenol、ethyl acrylate、mirexなど、また、非がん原性の対照物質として、2-chloroethanol、benzethonium chloride、phenolなどがすでに試みられている⁴⁶⁾。

その他の抑制遺伝子 KO マウス

Rb遺伝子は網膜芽細胞腫で欠失の観察される抑制遺伝子であり、細胞周期の制御にかかわることが知られている。このものの欠失マウスは、ホモ欠失は、死産であることが確かめられており⁴⁷⁾、また、Jacksらは、このヘテロ欠失マウスで発がん実験を行うと、腫瘍組織ではホモ欠失となっていることを見出した⁴⁷⁾。

発がん性試験における遺伝子改変動物の問題点

発がん性試験に遺伝子改変動物を用いるとき期待される点は、主として腫瘍の好発性と早期発症性にあり、更にこれにもとづく短期アッセイ系としての可能性がある(この

場合、もとより両者間での遺伝子の不安定性の誘導効率そのものに開きが認められ、齧歯類における発がん性がヒトのそれを正しく反映するか否かについて解明すべき点があるわけだが、ここではそうした点は検討の対象としない)。そこで必然的に問題となるのは、1) 腫瘍の好発性にともなう無処置群での自然発生腫瘍頻度の上昇の有無、2) 腫瘍の病型スペクトラムの変化の有無、などといった事柄である。この場合、実験用の齧歯類が背景データとして自然発生腫瘍を生じるメカニズムと誘発性腫瘍の発症メカニズムとでは相互にどのような本質的な違いがあるかがこれらの解決の糸口となろう。現在の腫瘍学はまだ正確なこの解答をもたないが、p53 欠失マウスにおける実際のデータの示すところをみると、自然発生腫瘍と誘発性腫瘍の間には時間的に明確な分解点、見出し難いのが実態である。発生腫瘍スペクトラムの問題も、当該の操作遺伝子がそれなりの機能をもつ限り、その機能を過剰にしたにしても、欠失させたにしても、そのことに直結しやすい腫瘍の頻度が突出してくるとか、何らかのスペクトラムのシフトが生じないとはむしろ考えにくい⁴⁸⁾。ただし、これまでに得られた結果を通覧すると、実質的には大きな変化の見られないケースもこれまた必ずしもない訳ではない⁴⁶⁾。

カロリー制限は自然発生腫瘍のみならず化学発がんや放射線発がんに対しても抑制的に作用する⁴⁹⁻⁵²⁾。その原因を求めてカロリー制限下でのがん遺伝子の発現やDNAのメチル化の測定などがなされている^{53,54)}が、この現象をよく説明する定説はない。

この現象は p53 欠失マウスでも観察されており⁵⁵⁾、自由摂餌の 60% のカロリー制限は、腫瘍発生の遅延を生ずると同時に、前者の平均寿命 16 週に対して、後者のそれを 25 週へと延長した。こうした条件下で化学発がんを見たとき、対照群との腫瘍発生時期の乖離がよくなるならば、p53 KO マウスを用いた発がん性試験の分解点のよい早期アッセイ系が樹立できる可能性がでてくる。筆者等のこうした視点にたった C3H/He 系マウスで観察される放射線誘発による肝腫瘍の解析結果では、その頻度は、3Gy 照射の実験群と非照射の対照との時期的ズレが約 90 日程度であるのに対して、カロリー制限下での両者のズレは 140 日に達し、明らかに両群の頻度分布の乖離がよくなっていた⁵⁶⁾ (Fig. 2)。

5. 一般毒性試験

一般毒性試験への応用のための戦略

もとより一般毒性は、がん原性試験の方に“腫瘍の発生”という極めて明確なエンドポイントがあることに較べれば、その観察対象は、細胞の傷害・変性・壊死などの退行性変化をはじめ、肥大、増殖、分裂、などの進行性変化、更には前腫瘍性変化などもその対象となるので、それだけ

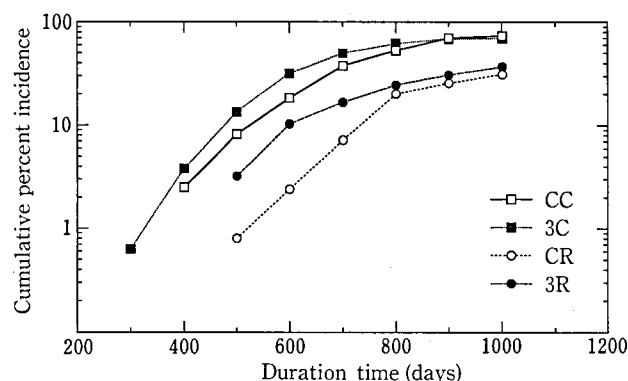


Fig 2. Effect of caloric restriction on the cumulative incidences of hepatomata in the C3H/He mice with or without 3Gy whole-body irradiation. The control diet without radiation (CC), the control diet with irradiation at 3Gy (3C), the group with restriction with or without radiation (3R and CR).

見ても多様で、しかもその発生原理は明らかに単純でない。例えば細胞の傷害ひとつをとってみても、細胞骨格の形成傷害とミトコンドリアにおける酸化的傷害では現象も原理も全く異なるわけである。細胞や分子の面から見たときに共通のルートを持たないこれらの雑多な現象をモニターする一般毒性試験を対象とした遺伝子改変動物を作製するストラテジーは、したがって必ずしも単純ではない。

一般毒性試験に遺伝子改変動物を用いる際に求められる一般論としてのメリットには、鋭敏さ、定量性、および、ヒト型反応性などがあげられる。遺伝子改変動物のそうした面からの利用を強調する報文が急増している^{1,2,57,58)}。先に述べた難しさもあって、これらの報文は多分に一般論にとどまる^{1,2)}か、特定物質のいわば特殊毒性に対する高感度検知システム、例えばダイオキシンに対する高感受性マウス⁵⁷⁾といったたぐいのいずれかを論じたものが多い。

細胞死の機構としてこのところ重要性を増しているアポトーシス (apoptosis) は、様々な細胞傷害の共通のエンドポイントをなしているかに見える。一般毒性試験を細胞傷害という点に注目して括ったとき、こうしたアポトーシスを指標とする試みは、毒性発現のかなりの部分をカバーすることができるものと期待される。増殖性の細胞毒性でさえもこれに先だって細胞傷害が生ずることが少なくないであろうから、充分検討に値するものと考えられる。こうした点に着目したアポトーシスの高発現系マウスの作製といった試みはまだ見られないようであるが、筆者等はこのものの可能性に注目している。

すでに毒性試験に用いられている幾つかの遺伝子改変動物の特徴を見てみよう。これらの遺伝子改変動物の構築ストラテジーは、1) 解毒代謝系酵素の過剰発現系「ト」マウスを作製し、当該酵素の動きの鋭敏な検出系として利用する方法、2) 逆に、当該酵素の欠失系 KO 動物をつくり、

その動物の検体への鋭敏な反応（生死など）を指標としバイオアッセイ系として用いる方法、に大別できるが、更に、3) 特定の傷害物質について、その受容体過剰発現系を作製し、通常観察できない反応の検出系を樹立する方法もある。

解毒代謝酵素の過剰発現系「ト」マウス

前述の1)の視点から代表的な遺伝子改変動物を通覧すると、ペルオキシゾーム酵素や、P450 4A1のようなものの過剰発現「ト」マウスを作製し、これらが鋭敏に働く代謝系モデルを作っておき、薬物投与にしたがって、その発現をレポーター遺伝子もしくはmRNAレベルで検知するもの⁵⁹⁾や、メタロチオネイン (metallothioneins, MTs) がアルキル化剤にたいして保護的に働くことを期待して、このものの過剰発現系を作製する試み⁶⁰⁾などが見られ、先の1)の範疇に属するものと理解される。特筆される試みとして、Kamatakiらは、CYP3A7のcDNA導入過剰発現系で且つp53を欠失した、マイコトキシンに高感受性のマウスの系統を樹立した⁶¹⁾。作製者らは、この複合型遺伝子改変マウスから樹立した肝細胞は、マイコトキシンとテラトジェンの双方への高感受性アッセイ系となるであろうとし、引いては胎生期の化学物質暴露でのよい胎児毒性標的となることを期待している⁶²⁾。

メタロチオネイン遺伝子改変動物

これに対してMTsのIおよびII遺伝子^{63,64)}や、MnタイプやCu/ZnタイプのSuperoxide dysmutase (SOD)のKOマウスが作製されており、これらは2)の範疇に該当する。これらの研究の背景としては、まずMTsの「ト」マウスが作られてる。このMTs Iの「ト」マウスは、MTレベルが通常マウスの4~5倍であった。しかし亜鉛(200 mmol/kg)、カドミウム(20 mmol/kg)、ジエチルマレイン酸(5 mmol/kg)などのMT誘導剤の投与に対しては、特段の変化が見られなかった⁶⁰⁾ということであるから、このものの利用については、更に別の角度からの検討が必要である。こうした背景に作られたMTsのKOマウス⁶³⁾の反応性は、このものから取った胚幹細胞では、硫酸カドミウムに対して高度の感受性を示した他、*tert*-butylhydroperoxideによって惹起した酸化ストレスに対しても高い感受性を示した⁶⁴⁾。このマウスでは、グルタチオン、Cu/Zn型SOD、グルタチオン・ペルオキシダーゼ、あるいはカタラーゼのレベルには変化が見られなかった。それにも拘わらずホモ欠失のこの細胞系は*tert*-butylhydroperoxideに対して更に感受性が高かったということで、作製者のChooらはMTレベルが細胞内レドックスの制御に関わるものと推測している。

アリル・ハイドロ・カーボン (Ah) 受容体欠失マウス

上記の3)に属する遺伝子改変動物としては、ゴンザレス(Frank J. Gonzalez)らが作ったダイオキシン類を媒

介するアリル・ハイドロカーボン (Ah) の受容体の欠失マウスが注目を集めている⁶⁵⁾。このマウス (*Ahr*^{-/-}) では、肝重量が50%程度と小さく、リンパ節や脾臓の発育が悪い反面、胸腺のそれには異常がなかった。このもののそうした変化とダイオキシン類の毒性との関連が明らかになるには今少し時間が必要のようであるが、ダイオキシン類の毒性発現機構の解明の糸口が切り開かれた意義は大きい。

6. 遺伝毒性試験

*In vitro*の変異原性試験の延長線上に開発された一連の変異試験用「ト」マウス、通称“ミュータ・マウス (Muta[®] Mouse)⁶⁶⁾”と“ビッグ・ブルー・マウス (Big-blue[®] transgenic mouse)⁶⁷⁾”は、前者は*lacZ*、後者は*lacI*を組み込んだλファージシャトルベクターの導入マウスで、被検物質の暴露後、種々の組織から回収したファージの変異の有無をX galの発色系で検出するものであり、変異の組織特異性の同定がポイントとなっている。

変異の組織特異性を検出する2系統のマウス

Mutaマウスは、オランダのTNOで老化研究に携わっていたKnookらのグループによって開発されたもので、λgt10の*EcoRI*制限酵素切断部位に大腸菌*lacZ*遺伝子を約80コピー変異標的として挿入したCD2F₁ (BALB/c × DBA/2)系マウス(その後種々の交配系がでてい⁶⁸⁾である。このものでは、250 mg/kg.b.w.までのENU (*N*-ethyl-*N*-nitrosourea)の単回投与で用量相関的な変異が検出され、250 mg/kg.b.w.における変異頻度は、肝臓で 3.0×10^{-5} であったのに対して、脳では 7.4×10^{-5} で、しかもGC/AT転移が生じていたという⁶⁹⁾。組織特異性が検出できる変異原性試験としてのMutaマウスの有用性はこのようなかたちで“証明”されているが、他方ビッグ・ブルーの方は、Stratagene社のC57BL/6由来マウス^{67,69)}で、前述の通り*LacI*を用いており、ガンマ線(セシウム137)の影響をみたWinegar-Richardらは、0.4~14 Gyにわたって調査し、線量に応じた変異頻度の上昇とともに、当該*lacI*遺伝子の再構成をも確認している⁷⁰⁾。これらの「ト」マウスを用いた*in vivo*変異原アッセイはその後、精力的に実用化研究がなされており⁷¹⁻⁷⁷⁾、また、それら双方を比較して検討した報文も見られる⁷⁸⁾。

権藤と勝木はHITEC (Hypersensitive *in vivo* test of carcinogenicity)マウスと呼ぶ、大腸菌の*rpsL*遺伝子を標的として導入した「ト」マウスを開発した⁷⁹⁾。これは*rpsL*遺伝子をもつ大腸菌プラスミドpML4がシャトルベクターとして導入されており、*rpsL*遺伝子がストレプトマイシン (SM)耐性の大腸菌を形質転換しSM感受性にするが、ここに*rpsL*遺伝子の変異がおおると、SM耐性そのまま維持されることを利用している。

このようにバクテリア遺伝子を標的としたこの種の一連

の「ト」マウスは、変異原性と、その組織特異性の双方のアクセスを可能にする系として期待されているが、その問題点として指摘されているのが、“鋭敏性”の問題である。ここで指摘されている“鋭敏性”とは、陽性群と対照群との分解点 (resolution) の改善の問題である。更に、先のミュータ・マウスとビッグ・ブルーの双方の「ト」マウスを評価した Sofuni らの研究グループでは、これらの系が広く普及するための隘路として、費用と労力がかかりすぎる点を指摘している⁸⁰⁾。いずれ近い将来、より分解能の良い安価で、アクセスの平易なこの種の「ト」マウスが本邦においても開発されることが強く望まれる。

7. 免疫毒性試験

免疫毒性試験に遺伝子改変動物を導入する考えは余り一般的ではない。免疫現象が多種類の細胞の特にオーケストレーションの名に相応しい共同作用によって構成されるものだけに、その免疫現象に傷害を生ずるメカニズムそのものは、必然的に多岐にわたったものとなる⁸¹⁾。それらの反応の何らかのエンドポイントを誇張して共通して観察するような系が、単一もしくは幾つかの限られた遺伝子の組み合わせ変異によって得られるとは思われない^{82,83)}ので、これはやむを得ない実態とも考えられる。そういったわけで遺伝子改変動物を用いることによって、通常免疫毒性試験で得られないメリットのあるものという視点で見直すと、つぎの2つのタイプの動物の開発が考えられる。

ヒト型動物と修復遺伝子欠損系の応用

すなわち、その第一は、一連のヒト型免疫組織機能アクセス動物で、ヒトのいずれかの免疫組織を移植したアクセス動物を構築するもので scid (severe combined immune deficiency) の系がしばしば用いられ、scid-hu 系と呼称される。第二は、免疫系の傷害が誇張された形で発現することを期待して作られる修復遺伝子傷害系の改変動物で、論理の上からは、DNA などの修復欠陥動物が対象となる。前者の例としては、勝木らによって進行中の“ヒト型マウス”作製のプロジェクトの行方が注目される他、J. G. Vos らが胸腺欠失のヌードラットを用いて長年にわたって続けているヒト胸腺移植ラットの利用⁸⁴⁾および、その延長線上の scid マウスにヒト胸腺を移植して、この移植胸腺への影響を観察する系とがある。De-Heer らの scid-hu 系でのダイオキシンの毒性観察実験⁸⁵⁾によれば、移植ヒト胸腺組織の皮質は、TCDD の濃度 (1, 5, 25 mg) に相関して萎縮し、25 mg では有意であったという。現状においてはこの scid-hu 系がヒトへの外挿のよい橋渡しとなる実験系⁸⁶⁾となることは疑いのない事実である。しかし先の De-Heer らの実験でも少なからぬ皮膚 GvH 反応が観察されており、ここに、scid-hu 系を上回る抜本的なヒト型マウスの望まれる所以がある。後者の第二のタイプに

属す例は、具体的には見られない。免疫毒性の性質にもよるが、p53 欠失マウスや scid マウスで観察される免疫毒性傷害は、少なくともこれが細胞死や遺伝子傷害を伴っている限り、これらのマウスでは回復が困難と考えられるからこれを検知系として用いる方法が期待される^{44,87)}。これらのマウスでは、その傷害がいわば“固定”された状態ともいふべき誇張された形で観察される可能性が予想されるので、これをリスク評価に応用しようというものである。ヘテロの scid マウス (+/scid) を用いて観察される免疫組織の変化は、それが免疫担当細胞の死につながる傷害ならばその回復は遅いので検出効果が高まる可能性がある。他方、p53 欠失マウスの方ではアポトーシスが生じにくいので、その場の免疫反応に見かけ上の変化は見られないかもしれないが、担当細胞系の細胞群を回収して調べると、何らかの遺伝子レベルでの変化が観察される可能性も期待される。

8. バイオ製剤と遺伝子改変動物

バイオ医薬品の安全性に関する考えかたを国際間で協調する討議が ICH (International Congress of Harmonization = 医薬品規制国際協調推進会議) のひとつの分科会で進められている。ここで検討課題となっている点は、“バイオ医薬品が、とりもなおさずヒト型蛋白製剤に他ならず、したがってこのものの多くは必然的に動物試験が意味をなさない事態が少なくない”ということであり、これに対する合理的な対応策は如何にあるべきかということについてである。

動物試験が意味をなさない事態の背景とは、1) 試験動物の被検物質に対する抗体産性ゆえに反復投与やがん原性などの試験が成立しないこと、2) 当該のリガンドがしばしば受容体との親和性を全く持たないこと、したがって何等の薬理効果も観察し得ないことなどが対象となるが、更に、3) リガンドにたまたま特異的もしくは非特異的に交差性のある別の受容体を認識して作用を惹起するという特異な可能性も論理上は想定され、従来の薬物で見られなかった甚だユニークな問題を内包している⁸⁸⁾。

バイオ製剤特有の作用機序とその対策

ヒト由来蛋白の安全性の問題には上記の諸点にとどまらない、薬効動態面からの解決の困難な現象が含まれている。この点については、もともとヒト型の物質であるだけに本来の生体内物質との同一性が確かめられてさえいれば安全性には問題はないであろうといった考えに陥りがちな面があるが、実際には、必ずしも単純ではない。これについては現在のところ十分な整理がなされているわけではないが、およそ Table 2 に示すようなバイオ医薬品に特有な幾つかの諸現象が想定される⁸⁸⁾。この表は、サイトカインを念頭に置いて作られているが、この表に見られるように、バ

Table 2. Possible sample problems by biotechnologically produced cytokines

| Phenotypes | Molecular background | Possible sample hazards or outcome |
|--|--|--|
| selective action based on receptor(s) | requirement for receptor(s) | receptor diseases (possible hypersensitive reactions) |
| species difference | possible different sub-unit system | requirement of homologous protein for animal testing |
| pleiotropism | inter-organic wide-distribution of receptor(s) | unfavorable side effects in distant organ(s) |
| redundancy | subunits-sharing, and signal cross-talk | unfavorable down-moduration of receptors for related cytokine(s) |
| discontinuity of dose response | hetero-oligomerization of subunit system | difficulty in experimental or preclinical dosimetry |
| possible signals for cell death or cell growth | intra-cytoplasmic signal cross-talk | unfavorable accidental signal for cell-death/cell-growth |

イオの薬物にあっては、先ずその影響は受容体の有無とその程度によって影響される。そしてそれら受容体は、種が異なるにしたがって対リガンド親和性の面、あるいは受容体の構造上の違いによって作用が異なることも知られている。プレイオトロピズムとは臓器を越えた広範な部位での受容体発現を、リダンダンシーと呼ばれる現象は、種々のリガンドが受容体のサブ・ユニットを共用することがあることを意味している。こうしたサブ・ユニットの存在様式によっては用量相関関係が直線性を示さないということも想定される。こうした予想の困難なヒト型サイトカインの作用の把握は、通常の薬理動態によって把握できる可能性は乏しい。ここで強調されるのは、受容体遺伝子の「ト」マウスなどによるヒト型受容体動物⁸⁹⁾の利用についてである。受容体「ト」マウスが正しくヒトとミミックな受容体分布を示すかどうかは分からないし、homologousな受容体遺伝子の機能が、同じ機能をもつ保証はない。ヒトにおける発現分布様式と異なったものとなる可能性はむしろ否定できない。しかし上記のような背景にあっては、安全性を確かめる上では有効な手段のひとつといわねばならない。併せて、これらのマウスでもがん原性試験などのような長期投与実験は行うことができないので、ここでも文字どおりのヒト型マウスの樹立が強く期待されるのである。

9. 第2世代遺伝子改変動物の将来

遺伝子改変動物の機能を概観すると、がん原性試験にとどまらず、種々の生物試験で、単一の遺伝子の変異改変のみでは充分な検知システムの樹立には無理があるということが次第に明らかになって来つつある。もちろんこうした見地から作られるマウスがかえって複雑になりすぎれば、従来の生物試験の実験系の単純化と理論化への方向性から本末転倒してしまうが、実例をあげて検討するとその有用性は明らかである。一般毒性の項で引用したKamatagiらの試みたp450酵素、CYP3A7のcDNA導入過剰発現系で、かつp53遺伝子を欠失した、マイコトキシンに高感受性のp53欠失マウスなどは、そうした延長線上に開発さ

れた複合遺伝子改変動物である^{61,62)}。ある種の遺伝子毒性検出系をより高度の感受性を持ち、かつ、その遺伝子傷害の修復系を欠失させることによりpotential lethal damageのような更に潜在的な変化をもカバーする遺伝子改変動物なども開発の期待されるものである。この領域の研究はまだ緒についたばかりなのでここでレビューする段階ではないが、将来の展望としては重要な点であるので、最後にわざわざ一項を設けた。

10. 補遺：プリオン遺伝子研究をめぐる最近の話題

伝達性海綿状脳症、いわゆるプリオン (prion=PrP) 病は、その“伝達”様式や病因に未知の事柄が多く、大きな問題となっているが、この研究での遺伝子改変動物の果たしている役割には注目すべきものがある。PrP遺伝子は、Oeschらによって1985年に明らかになったが、その後間もなく作製された、マウス型のPrP遺伝子をハムスター型に置換した「ト」マウスは、プリオン病の一種であるスクレイピーの発症が有意に早かった⁸⁹⁾。変異PrPの遺伝子を導入したものでは自然発症も認められ⁹⁰⁾、更にマウスのPrP遺伝子の一部をヒトのPrPと置換したキメラ遺伝子「ト」マウスでは、クロイツフェルト・ヤコブ病で死亡した患者の脳組織の移植により対照の40%という短時間で病変が伝達された⁹¹⁾。驚きを持って迎えられたのは、このもののKOマウスであり、Bülerらの報告⁹²⁾によれば、このものではマウスの発育に全く異常がなかったばかりでなく、スクレイピー感染マウス脳乳剤の接種で発症がみられなかった。そして翌年、このマウスがPrPに対する抗体を作ることも直ちにPrusinerによって突き止められた⁹³⁾。最近Fischerらは、マウスのPrPのKOマウスに対して、あらたに人為的に一部を削った変異PrP遺伝子を導入するという複合操作を行い、脳乳剤による発症の極めて短い変異マウスを作製⁹⁴⁾し、安全性研究の面からも鋭敏で実用的なアッセイ系を開発することに成功した。伝達性海綿状脳症におけるこうした遺伝子改変動物のすばやい開発過程は、基礎と応用が同時に進行しつつある今日

の科学の方向性を如実に示しているように思われる。

11. おわりに—代替法試験研究などに関連して—

生物試験研究に種々の「ト」マウスやKOマウスを用いる可能性について、各々の毒性試験においてその意義を論じた。発がん試験や遺伝毒性にとどまらず、種々の毒性を含む生物試験全般にわたった「ト」マウスやKOマウスの利用の展望は、毒性学に関連した日米非エネルギー研究交流計画の一環で米国のFDAを訪問した際、Cordaro博士との討論の際にも話題になった。Cordaro博士は氏の考えを1989年のRisk Analysis誌に掲載していたが、その内容は、実質的には発がん試験を主としたもので、他の毒性面を対象とした論議は殆どしていなかった。それは「ト」マウスやKOマウスの当時の開発状況から考えるならば、そして僅かばかり前とはいえ、この領域の急速な進展の度合いからみるならば、それはやむを得ない事情であったともいえる。翻って、今日にあっては、もっと有機的で効果的な遺伝子改変動物の将来展望が可能となっている。それだけ多くの進展がここ数年に集中している。こうした認識にたつて本稿を新しく纏めてみようという動機が芽吹いてきた。本稿は、こうした背景に基づいている。

遺伝子改変動物を用いた試験研究の進展と相まって、他方、動物実験に対しては、*in vivo*の試験法を*in vitro*試験への置き換えることの可能性を追求する波が押し寄せている。こうした“代替法 (alternative methods)”研究の牽引力は、科学技術本来が内包する原理の解明・メカニズム研究への意欲と、製品を生産する立場からの将来的な経済効果への期待とが複合している。意外な印象をもって受けとめる向きもあろうが、今回論じた遺伝子改変動物の開発と利用は、こうした代替法を推進する科学の流れと同一線上の重要な一課題であり、それはむしろ代替法を推進する科学的・理論的基礎となるものである。このことは、もっと広く認識されてよいが意外に知られていない。蓋し少なからぬ個体動物試験が、しばしば幅広い標的スペクトラムをもった応用性の高い試験法である反面、それら個々の現象に対する原理的意味は必ずしもよく分析されないまま、“毒性現象”という龐大な現象論が一人歩きし、その枠内からみることが“毒性”を認識する唯一の手段と錯覚されていることが少なくない。今日の動物試験法にはそうした従来の試験法の、細胞機能や分子機能への置き換えによる理論化が求められている。先にOhnoら⁹⁰⁾によって分析の進められているDraizeの眼粘膜刺激試験法⁹⁰⁾の*in vitro*代替法試験への置き換えへの試みは、そうした意味で貴重な試みといえよう。現象の理論化の延長線上に位置する遺伝子改変動物の作製は、こうした試みと同一線上の意味を持つことを改めて強調しておきたい。他方、代替法の推進にとっても、そうした*in vivo*試験と*in vitro*試験

の綿密な摺り合わせ過程を踏まずに直接*in vitro*の系への置き換えを急ぐと、意外なデッド・ロックに直面することが少なくないという代替法の側の問題点を内包している⁹¹⁾。代替法研究の推進のために遺伝子改変動物の開発がますます重要性を帯びていることが代替法推進のためのワークショップで強調される背景がこのあたりに在ることも併せて紹介しておきたい。

たまたま筆者らには、畏友、相澤慎一教授 (熊本大学) との共同研究を通じて、諸領域の少なからぬ遺伝子改変動物と接触する機会が与えられた。筆者自らも、サイトカイン受容体を中心とした少なからぬ「ト」マウスの作製に関わり合ってきた。こうしたこれまでの経過が、結果としてこの主題での執筆を引き受けることに繋がったものであるが、安全性分野の生物試験研究は広範にわたり、それらすべてをカバーすることはなかなか困難なことである。いずれこれら遺伝子改変動物の将来的な普及とともに、諸家の協力も得つつ更にきちんと纏め直す時期が遠からずやってくるものと思われる。

文 献

- 1) Cordaro J. C.: Transgenic mice as future tools in risk assessment. Risk Analysis 9: 157-68 (1989)
- 2) Andrews G. K.: Environmental toxicology using transgenic mouse models. Crisp Data Base National Institutes of Health. (1994)
- 3) Hogan B, Constantini F, Lacy E.: Manipulating the Mouse Embryo. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 232 (1986)
- 4) Robertson E. J. Ed.: Teratocarcinomas and Embryonic Stem Cells. A Practical Approach, IRL Press, Oxford, pp. 260 (1987)
- 5) First N. L.: New animal breeding techniques and their application. J Reprod Fertil Suppl 41: 3-14 (1990)
- 6) Du S. J, Gong Z, Hew C. L, Tan C. H, Fletcher G. L.: Development of an all-fish gene cassette for gene transfer in aquaculture. Mol Mar Biol Biotechnol 1: 290-300 (1992)
- 7) 野村達次, 勝木元也: 発生工学実験マニュアル—トランスジェニックマウスの作り方, 講談社サイエンティフィック, 東京, pp. 232 (1987)
- 8) 相澤慎一: ジーンターゲティング—ES細胞を用いた変異マウスの作製, 実験医学別冊バイオマニュアルシリーズ 8, 羊土社, 東京, pp. 174 (1995)
- 9) Gordon J. W, Scangos G. A, Plotkin D. J, Barbosa J. A, Ruddle F. H.: Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA. Proc Natl Acad Sci USA 77: 7380-4 (1980)
- 10) Gordon J. W, Ruddle F. H.: Integration and stable germ line transmission of genes injected into mouse pronuclei. Science 214: 1244-6 (1981)
- 11) Gordon J. W, Ruddle F. H.: Germ line transmission in transgenic mice. Prog Clin Biol Res 85PtB: 111-24 (1982)
- 12) Palmiter R. D, Brinster R. L, Hammer R. E, Trumbauer M. E, Rosenfeld M. G, Birnberg N. C, Evans R. M.:

- Dramatic growth of mice that develop from eggs micro-injected with metallothionein-growth hormone fusion genes. *Nature* **300**: 611~5 (1982)
- 13) Palmiter R. D, Chen H. Y, Brinster R. L.: Differential regulation of metallothionein-thymidine inase fusion genes in transgenic mice and their offspring. *Cell* **29**: 701~10 (1982)
- 14) Gordon J. W.: Studies of foreign genes transmitted through the germ lines of transgenic mice. *J Exp Zool* **228**: 313~24 (1983)
- 15) Brinster R. L, Chen H. Y, Messing A, van Dyke T, Levine A. J, Palmiter R. D.: *Cell* **37**: 367~79 (1984)
- 16) Stewart T. A, Pattengale P. K, Leder P.: Spontaneous mammary adenocarcinomas in transgenic mice that carry and express MTV/myc fusion genes. *Cell* **38**: 627~37 (1984)
- 17) Evans M. J, Kaufman M. H.: Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* **292**: 154 (1981)
- 18) Martin G. R.: Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells *Proc natl Acad Sci USA* **78**: 7634 (1981)
- 19) Capecchi M. R.: Altering the genome by homologous recombination. *Science* **244**: 1288~1292 (1989)
- 20) McDonnell, Deane N, Platt F. M, Nunez G, Jaeger U, McKearn J. P, Korsmeyer S. J.: bcl-2-immunoglobulin transgenic mice demonstrate extended B cell survival and follicular lymphoproliferation. *Cell* **57**: 79~88 (1989)
- 21) Hino O, Kitagawa T, Nomura K, Ohtake K, Cui L, Furuta Y, Aizawa S.: Hepatocarcinogenesis in transgenic mice carrying albumin-promoted SV40 T antigen gene. *Jpn J Cancer Res* **82**: 1226~33 (1991)
- 22) Dyer K. R, Messing A.: Metal-inducible pathology in the liver, pancreas, and kidney of transgenic mice expressing SV40 early region genes. *Am J Pathol* **135**: 401~10 (1989)
- 23) Ornitz D. M, Hammer R. E, Messing A, Palmiter R. D, Brinster RL.: Pancreatic neoplasia induced by SV40 T-antigen expression in acinar cells of transgenic mice. *Science* **238**: 188~93 (1987)
- 24) Mahon K. A, Chepelinsky A. B, Khillan J. S, Overbeek P. A, Piatigorsky J, Westphal H.: Oncogenesis of the lens in transgenic mice. *Science* **235**: 1622~8 (1987)
- 25) Suda Y, Aizawa S, Hirai S, Inoue T, Furuta Y, Suzuki M, Hirohashi S, Ikawa Y.: Driven by the same Ig enhancer and SV40 T promoter ras induced lung adenomatous tumors, myc induced pre-B cell lymphomas and SV40 large T gene a variety of tumors in transgenic mice. *EMBO J* **6**: 4055~65 (1987)
- 26) Furuta Y, Aizawa S, Suda Y, Ikawa Y, Nishikawa S, Hayashi S, Hirabayashi Y, Inoue T.: MDS-like experimental myelodysplasia: multilineage abnormal hematopoiesis in transgenic mice harboring the SV40 large T antigen under an immunoglobulin enhancer. *Exptl Hematol* **21**: 806~15 (1993)
- 27) Inoue T, Hirabayashi Y, Mitsui, Furuta Y, Suda Y, Aizawa S, Ikawa Y.: Experimental model for MDS-like myelodysplasia in transgenic mice harboring the SV40 large T antigen under an immunoglobulin enhancer. *Leukemia* **8**: S202~5 (1994)
- 28) Adams J. M, Harris A. W, Pinkert C. A, Corcoran L. M, Alexander W. S, Cory S, Palmiter R. D, Brinster R. L.: The c-myc oncogene driven by immunoglobulin enhancers induces lymphoid malignancy in transgenic mice. *Nature* **318**: 533~8 (1985)
- 29) Hirabayashi Y, Inoue T, Suda Y, Aizawa S, Ikawa Y.: Hemopoietic neoplasms in lethally irradiated mice repopulated with bone marrow cells carrying the human c-myc oncogene: a repopulation assay. *Exptl Hematol* **20**: 167~72 (1992)
- 30) Chang E. H, Gonda M. A, Ellis R. W, Scolnick E. M, Lowy D. R.: Human genome contains four genes homologous to transforming genes of Harvey and Kirsten murine sarcoma viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* **79**: 4848~52 (1982)
- 31) Dhar R, Ellis RW, Shih T. Y, Oroszlan S, Shapiro B, Maizel J, Lowy D, Scolnick E.: Nucleotide sequence of the p21 transforming protein of Harvey murine sarcoma virus. *Science* **217**: 934~6 (1982)
- 32) Leder A, Kuo A, Cardiff R. D, Sinn E, Leder P.: v-Ha-ras transgene abrogates the initiation step in mouse skin tumorigenesis: effects of phorbol esters and retinotic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* **87**: 9178~82 (1990)
- 33) Spalding J. W, Momma J, Elwell M. R, Tennant R. W.: Chemically induced skin carcinogenesis in a transgenic mouse line. *Carcinogenesis* **14**: 1335~41 (1993)
- 34) Katsuki M, Kimura M, Hata J, Takahashi R, Nozawa S, Yokoyama M, Izawa M, Sekiya T, Nishimura S, Nomura T.: Embryonal tumors from transgenic mouse zygotes carrying human activated c-Ha-ras genes. *Mol Biol Med* **6**: 567~72 (1989)
- 35) Saitoh A, Kimura M, Takahashi R, Yokoyama M, Nomura T, Izawa M, Sekiya T, Nishimura S, Katsuki M.: Most tumors in transgenic mice with human c-Ha-ras gene contained somatically activated transgenes. *Oncogene* **5**: 1195~200 (1990)
- 36) Zambetti G. P, Quartin R. S, Martinez J, Georgoff I, Momand J, Dittmer D, Finlay C. A, Levine A. J.: Regulation of Transformation and the cell cycle by p53. In: *Cell Cycle, Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* **56**: 219~25 (1991)
- 37) Dulic V, Kaufmann W. K, Wilson S. J, Tlsty T. D, Lees E, Harper J. W, Elledge S. J, Reed S.I.: p53-dependent inhibition of cyclin-dependent kinase activities in human fibroblasts during radiation-induced G1 arrest. *Cell* **76**: 1013~23 (1994)
- 38) Donehower L. A, Harvey M, Slagle B. L, McArthur M. J, Montgomery C. A, Butel J. S, Bradley A.: *Nature* **356**: 215~21 (1992)
- 39) Tsukada T, Tomooka Y, Takai S, Ueda Y, Nishikawa S, Yagi T, Tokunaga T, Takeda N, Suda Y, Abe S, Aizawa S.: Enhanced proliferative potential in culture of cells from p53-deficient mice. *Oncogene* **8**: 3313~22 (1993)
- 40) Jacks T, Remington L, Williams B. O, Schmitt E. M, Halachmi S, Bronson R. T, Weinberg R. A.: *Curr Biol* **4**: 1~7 (1994)
- 41) Harvey M, McArthur M. J, Montgomery Jr, C, Bradley A, Donehower L. A.: Genetic background alters the spectrum of tumors that develop in p53-deficient mice. *Faseb J* **7**: 938~43 (1993)

- 42) Kemp C. J, Wheldon, Balmain A.: p53-deficient mice are extremely susceptible to radiation-induced tumorigenesis. *Nat Genet* 8: 66~69 (1994)
- 43) Harvey M, McArthur M. J, Montgomery Jr, C, Butel J. S, Bradley A, Donehower L. A.: Spontaneous and carcinogen-induced tumorigenesis in p53-deficient mice. *Nature Genet* 5: 225~9 (1993)
- 44) Hirabayashi Y, Matsuda M, Matsumura T, Mitsui H, Sasaki H, Tsukada T, Aizawa S, Yoshida K, Inoue T.: The p53-deficient hemopoietic stem cells: their resistance to radiation-apoptosis, but lasted transiently. *Leukemia*, in press. (1996)
- 45) Tennant R. W, French J. E, Spalding J. W.: Identifying chemical carcinogens and assessing potential risk in short-term bioassays using transgenic mouse models. *Environ Health Perspect* 103: 942~950 (1995)
- 46) Tennant R. W.: Unpublished personal communication. (1996)
- 47) Jacks T, Fazeli A, Schmitt E. M, Bronson R. T, Goodell M. A, Weinberg R. A.: Effects of an Rb mutation in the mouse. *Nature* 359: 295~300 (1992)
- 48) Inoue T.: The use of biotechnical recombinant-mice to test the safety of potential carcinogenic pharmaceuticals. *J Toxicol Sci* 20: 468~470 (1995)
- 49) Yoshida K, Inoue T, Hirabayashi Y, Matsumura T, Nemoto K, Sado T.: Radiation-induced myeloid leukemia in mice under calorie restriction. *Leukemia Res*, in press. (1996)
- 50) Albanes D.: Total calories, body weight, and tumor incidence in mice. *Cancer Res* 47: 1987~92 (1987)
- 51) Kritchevsky D, Klurfeld D. M.: Influence of caloric intake on experimental carcinogenesis: a review. *Adv Exp Med Biol* 206: 55~68 (1986)
- 52) Fu P. P, Dooley K. L, von Tungeln L. S, Bucci T, Hart R. W, Kadlubar F. F.: Caloric restriction profoundly inhibits liver tumor formation after initiation by 6-nitrochrysene in male mice. *Carcinogenesis* 15: 159~61 (1994)
- 53) Hass B. S, Hart R. W, Lu M. H, Lyn-Cook B. D.: Effects of caloric restriction in animals on cellular function, oncogene expression and DNA methylation *in vitro*. *Mutat Res* 295: 281~9 (1993)
- 54) Himeno Y, Engelman R. W, Good R. A.: Influence of caloric restriction on oncogene expression and DNA synthesis during liver regeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 5497~501 (1992)
- 55) Hursting S. D, Perkins S. N, Phang J. M.: Calorie restriction delays spontaneous tumorigenesis in p53-knockout transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 7036~40 (1994)
- 56) Hirabayashi Y, Yoshida K, Inoue T.: unpublished data. (1996)
- 57) Bradfield C. A.: Transgenic models of dioxin action. *Crisp Data Base National Institutes of Health*. (1994)
- 58) Liggitt H. D, Reddington G. M.: Transgenic animals in the evaluation of compound efficacy and toxicity: will they be as useful as they are novel? *Xenobiotica* 22: 1043~54 (1992)
- 59) Glauert HP.: Peroxisomal genes and environmental carcinogenesis. *Crisp Data Base National Institutes of Health*. (1992)
- 60) Iszard M. B, Liu J, Liu Y, Dalton T, Andrews G. K, Palmiter R. D, Klaassen C. D.: Characterization of metallothionein-I-transgenic mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 133: 305~12 (1995)
- 61) Shimoji M, Hattori K, Itoh S, Nakayama K, Katsuki M, Aizawa S, Yokoi T, Kamataki T.: Establishment of immortal hepatocytes from a CYP3A7-transgenic/p53-knockout mouse. *Biochem Biophys Res Commun* 217: 1001~5 (1995)
- 62) Kamataki T, Hashimoto H, Shimoji M, Itoh S, Nakayama K, Hattori K, Yokoi T, Katsuki M, Aizawa S-I.: Expression of CYP3A7, a human fetus-specific cytochrome P450, in cultured cells and in the hepatocytes of p53-knockout mice. *Toxicol Lett* 82-83: 879~82 (1995)
- 63) Michilska A. E, Choo K. H.: Targeting and germ-line transmission of a null mutation at the metallothionein I and II loci in mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 8088~92 (1993)
- 64) Lazo J. S, Kondo Y, Dellapiazza D, Michalska A. E, Choo K. H, Pitt B. R.: Enhanced sensitivity to oxidative stress in cultured embryonic cells from transgenic mice deficient in metallothionein I and II genes. *J Biol Chem* 270: 5506~10 (1995)
- 65) Fernandez-Salguero P, Pneau T, Hilbert D. M, McPhail T, Lee S. S. T, Kimura S, Nebert D. W, Rudikoff S, Ward J. M, Gonzalez F. J.: Immune system impairment and hepatic fibrosis in mice lacking the dioxin-binding Ah receptor. *Science* 268: 722~726 (1995)
- 66) Myhr B.: Validation studies with Muta[®] Mouse-transgenic mouse model for detection mutations *in vivo*. *Environment Mol Mutagen*. 18: 308~315 (1991)
- 67) Short J. M, Kohler S. W, Provost G. S, Ferik A, Kretz P. L.: The use of lambda phage shuttle vectors in transgenic mice for development of a short-term mutagenicity assay. In: *Mutation and the Environment, Part A*, Eds. M. Mendelsohn and R. Albertini. pp. 355~367, Wiley-Liss, NY. (1990)
- 68) Gossen J. A, de Leeuw W. J, Tan C. H, Zwarthoff E. C, Berends F, Lohman P. H, Knook D. L, Vijg J.: Efficient rescue of integrated shuttle vectors from transgenic mice: a model for studying mutations *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 7971~5 (1989)
- 69) Kohler S. W, Provost G. S, Fieck A, Kretz P. L, Bullock W. O, Sorge J. A, Putman D. L, Short J. M.: Spectra of spontaneous and mutagen-induced mutations in the lacI gene in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 7958~62 (1991)
- 70) Winegar R. A, Lutze L. H, Hamer J. D, O'Loughlin K. G, Mirsalis J. C.: Radiation-induced point mutations, deletions and micronuclei in lacI transgenic mice. *Mutat Res* 307: 479~87 (1994)
- 71) Myhr B. C.: Validation studies with Muta Mouse: a transgenic mouse model for detecting mutations *in vivo*. *Environ Mol Mutagen* 18: 308~15 (1991)
- 72) Brooks T. M, Szegedi M, Rosher P, Dean S. W.: The detection of gene mutation in transgenic (Muta Mouse) following a single oral dose of 2-acetylaminofluorene. *Mutagenesis* 10: 149~50 (1995)
- 73) Shephard S. E, Gunz D, Schlatter C.: Genotoxicity of agaritine in the lacI transgenic mouse mutation assay: evaluation of the health risk of mushroom consumption. *Food Chem Toxicol* 33: 257~64 (1995)

- 74) Skopek T. R, Kort K. L, Marino D. R.: Relative sensitivity of the endogenous hprt gene and lac I transgene in ENU-treated Big Blue B3C3F1 mice. *Environ Mol Mutagen.* **26**: 9~15 (1995)
- 75) Suzuki T, Hayashi M, Myhr B, Sofuni T.: Diethylnitrosamine is mutagenic in liver but not in bone marrow of lacZ transgenic mice (Muta Mouse). *Mamm Mtagen Study Group Commun* **3**: 33~9 (1995)
- 76) Young R. R, Rogers B. J, Provost G. S, Short J. M, Putman D. L.: Interlaboratory comparison: liver spontaneous mutant frequency from lambda/lacI transgenic mice (Big Blue) (II). *Mutat Res* **327**: 1~2, 1995 (1995)
- 77) Suzuki T, Hayashi M, Sofuni T, Myhr B. C.: The concomitant detection of gene mutation and micronucleus induction by mitomycin C *in vivo* using lacZ transgenic mice. *Mutat Res* **285**: 219~24 (1993)
- 78) Lefevre P. A, Tinwell H, Galloway S. M, Hill R, Mackay J. M, Elcombe C. R, Foster J, Randall V, Callander D, Ashby J.: Evaluation of the genetic toxicity of the peroxisome proliferator and carcinogen methyl clofenapate, including assays using Muta Mouse and Big Blue transgenic mice. *Hum Exp Toxicol* **13**: 764~75 (1994)
- 79) Gondo Y, Katsuki M.: Unpublished. Personal communication. (1996)
- 80) Suzuki T, Hayashi M, Sofuni T.: Initial experiences and future directions. *Mutat Res* **307**: 489~94 (1994)
- 81) Burleson G. R, Dean J. H.: Immunotoxicology: Past, present and future. In: Burleson G. R, Dean J. H, Munson A. E.: (Eds) *Methods In Immunotoxicology*, Wiley-Liss, NY, pp. 3~10 (1995)
- 82) Pallardy M, Mishail Z.: Interleukin-2 receptor and sensitivity assay. In: Burleson G. R, Dean J. H, Munson A. E.: (Eds) *Methods In Immunotoxicology*, Wiley-Liss, NY, pp. 277~93 (1995)
- 83) Schook L. B, Lockwood J. F, Witsell A. L, Yang S-D.: Molecular approaches for monitoring interleukin-1 gene expression. In: Burleson G. R, Dean J. H, Munson A. E.: (Eds) *Methods In Immunotoxicology*, Wiley-Liss, NY, pp. 295~325 (1995)
- 84) Schuurman H. J, Vaessen L. M, Vos J. G, Hertogh A, Geertzema J. G, Brandt C. J, Rozing J.: Implantation of cultured thymic fragments in congenitally athymic nude rats: ignorance of thymic epithelial haplotype in generation of alloreactivity. *J Immunol* **137**: 2440~7 (1986)
- 85) De-Heer C, Schuurman H. J, Liem A. K. D, Penninks A. H, Vos J. G, Van-Loveren H.: Toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) to the human thymus after implantation in SCID mice. *Toxicol Appl Pharmacol* **134**: 296~304 (1995)
- 86) De-Heer C, Schuurman H. J, Houben G. F, Pieters P. H. H, Penninks A. H, Van-Loveren H.: The SCID-hu mouse as a tool in immunotoxicological risk assessment: Effects of 2-acetyl-4 (5)-tetrahydroxybutyl-imidazole (THI) and di-n-butyltin dichloride (DBTC) on the human thymus in SCID-hu mice. *Toxicology* **100**: 203~11 (1995)
- 87) Taniguchi S, Hirabayashi Y, Inoue T, Kanisawa M, Sasaki H, Komatsu K, Mori KJ.: Hemopoietic stem-cell compartment of the SCID mouse: Double-exponential survival curve after g irradiation. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**: 4354~48 (1993)
- 88) Inoue T.: Promotion of further safety research on biotechnology products. In: *Proceedings of The Third International Conference on Harmonisation Yokohama 1995*. P. F. D'Arcy and D. W. G. Harron Eds. W. & G. Baird Ltd, Northern Ireland, 1996. pp. 237-244.
- 89) Oesch B, Westaway D, Walchli M, McKinley M. P, Kent S. B. H, Aebersold R, Barry R. A, Tempst P, Teplow D. B, Hood L. E, Prusiner S. B and Weissmann C.: A cellular gene encodes scrapie PrP 27-30 protein. *Cell* **40**: 735~46 (1985)
- 90) Hsiao K, Baker H. F, Crow T. J, Poulter M, Owen F, Terwilliger J. D, Westaway D, Ott J, Prusiner S. B.: Linkage of a prion protein missense variant to Gerstmann-Sträussler syndrome. *Nature* **338**: 342~5 (1989)
- 91) Telling G. C, Scott M, Hsiao K. K, Foster D, Yang S. L, Torchia M, Sidle K. C, Collinge J, DeArmond S. J, Prusiner S. B.: Transmission of Crocutzfeldt-Jakob disease from humans to transgenic mice expressing chimeric human-mouse prion protein. *Proc Natl Acad Sci USA* **91**: 9936~40 (1994)
- 92) Büler H, Fischer M, Lang Y, Bluethmann H, Lipp H, DeArmond S. J, Prusiner S. B, Aguet M, Weissmann C.: Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell-surface PrP protein. *Nature* **356**: 577~582 (1992)
- 93) Prusiner S. B, Groth D, Serban A, Koehler R, Foster D, Torchia M, Burton D, Yang S. L, DeArmond S. J.: Ablation of the prion protein (PrP) gene in mice prevents scrapie and facilitates production of anti-PrP antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**: 10608~12 (1993)
- 94) Fischer M, Rütcke T, Raeber A, Sailer A, Moser M, Oesch B, Brandner S, Aquzzi A, Weissmann C.: Prion protein (PrP) with amino-proximal deletions restoring susceptibility of PrP knockout mice to scrapie. *EMBO J* **15**: 1255~64 (1996)
- 95) Ohno Y, Kaneko T, Kobayashi T, Inoue T, Kuroiwa Y, Yoshida T, Momma J, Hayashi M, Akiyama J, Atsumi T, Chiba K, Endo T, Fujii A, Kakishima H, Kojima H, Masamoto Y, Masuda M, Matsukawa K, Ohkoshi K, Okada J, Sakamoto K, Takano K, Suzuki T, Takanaka A.: First phase inter-laboratory validation of the *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (1) Overview, organization and results of the validation study. *Alternat Animal Test Exp (AATEX)* **3**: 123~36 (1995)
- 96) Draize J. H.: Dermal toxicity. In: *Appraisal of the safety of chemicals in Food, Drugs and Cosmetics*. P46, The Association of Food and Drug Officials of the United States, Austin, TX. (1959)
- 97) Environment Directorate Chemicals Group and Management Committee, Organisation for Economic Co-operation and Development.: *Test Guidelines Programme: Draft report of the OECD workshop on harmonization of validation and acceptance criteria for alternative toxicological test methods*. January 22~24, Solna, Sweden, pp. 55 (1996)

下痢症患者より分離された *Escherichia coli* O44 の制限酵素 *Eco*O44I の精製

宮原美知子・篠原 信之*・三瀬 勝利

Purification of *Eco*O44I restriction endonuclease in *Escherichia coli* O44 isolated from an affected human

Michiko Miyahara, Nobuyuki Shinohara, Katsutoshi Mise

A restriction endonuclease (ENase) designated *Eco*O44I was purified without non-specific nucleases from enteropathogenic *Escherichia coli* O44 Hiromi strain of affected human origin. The yield was 1, 100 units/g of wet cells. The *Eco*O44I ENase recognized and cleaved the specific sequence of 5'-GGTCTC-3' (1/5) as was the case with *Eco*31I or *Bsa*I ENase. Because of the stability and high yield, *Eco*O44I would be useful for recombinant DNA technology after isolation of *Eco*O44-positive, avirulent mutant strains of *E. coli* O44 Hiromi.

Keywords : restriction endonuclease, enteropathogenic *Escherichia coli* serotype O44, *Eco*O44I restriction endonuclease, *Eco*31I restriction endonuclease, food-poisoning bacteria

(Received May 31, 1996)

緒 言

大腸菌からの制限酵素は *Eco*RI をはじめ、多数のものが見いだされている¹⁻³⁾。しかし、病原大腸菌の制限酵素はほとんど見いだされていない。我々の研究室ではヒトおよび動物由来の病原大腸菌から数種の制限酵素を発見し、そのうち三種のものが企業化され遺伝子操作に使用されている⁴⁻⁶⁾。

我々は本報告で1980年代後半愛媛県で分離された病原大腸菌を使って制限酵素のスクリーニング研究を行い、5'-GGTCTC-3' という非パルンドローム配列を認識する *Eco*O44I 制限酵素を見いだしたので、その精製と性質を報告する。なお、本酵素の産生菌は腸管病原性大腸菌血清型 O44 である。

実験方法

1. 菌株と培地

使用した病原性大腸菌 10 株は患者由来株で、すべて 1980 年代後半愛媛県で分離されたものである。病原性大腸菌には、腸管病原性大腸菌 (enteropathogenic *Escherichia coli*; EPEC)、腸管毒素原性大腸菌 (enterotoxigenic *E. coli*; ETEC)、および腸管侵入性大腸菌 (enteroinvasive *E. coli*; EIEC) が含まれる。菌株の培養には BHI 培地と LB 培地⁷⁾ を使用した。

2. 酵素類と DNA

前報⁸⁾と同様、宝酒造⁸⁾、東洋紡⁹⁾、日本ジーン¹⁰⁾および New England Biolabs より購入した。

3. 制限酵素の検出と制限切断解析

前報⁹⁾と原則的に同一の方法 (=リゾチーム溶菌法¹⁰⁾) によっている。制限酵素の検出実験は最低 3 回反復追試した。

4. *Eco*O44I 制限酵素の精製法

E. coli O44I Hiromi 株からの *Eco*O44I 制限酵素の精製法を Table 1 にまとめる。最終分画には非特異的ヌクレアーゼは検出されなかった。

実験結果

1. 病原大腸菌 O44 からの制限酵素の検出

検索した病原大腸菌 10 株はすべてリゾチームで良く溶菌した。このうち 1 株、すなわち *E. coli* O44 Hiromi 株から 1 種類の制限酵素が検出され、Smith と Nathans の命名法¹¹⁾により *Eco*O44I と命名した。本菌は 1987 年夏、愛媛県の A 中学の散発的下痢症患者の一人から分離されたものである。当時 500 人の中学生のうちで十数名が下痢を起こしたが、発生は小規模で予後良好、原因等が特定できなかった。食中毒事件としては扱われなかった。本菌は病原性機構から enteropathogenic *E. coli* として分類されている。

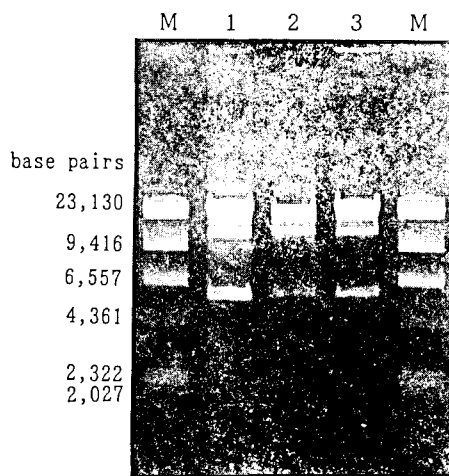
2. *Eco*O44I 制限酵素の精製と特異性

Table 1 に示した方法により、湿重量 23 g の菌体から

* 愛媛県立医療技術短期大学

Table 1. Procedure for purification of *Eco*O44I ENase from *E. coli* O44 Hiromi

| Step | Procedure |
|------|--|
| 1. | Twenty-three g of <i>E. coli</i> O44 Hiromi cells grown overnight in BHI broth were disrupted by sonication. |
| 2. | The cell lysate was centrifuged at 40,000 rpm for 100 min in a Hitachi 55p-72 rotor to remove cell debris. |
| 3. | PEI (polyethyleneimine) was slowly added to the supernatant at a final concentration of 1%. |
| 4. | <i>Eco</i> O44I ENase was recovered from the PEI pellet by repeated extraction with buffer A supplemented with 200 mM NaCl as described in Miyahara et al. ⁹ . |
| 5. | The extract containing <i>Eco</i> O44I was applied to heparin-agarose column chromatography. <i>Eco</i> O44I eluted at 480 ~610 mM NaCl. |
| 6. | The <i>Eco</i> O44I fraction obtained in step 5 were applied to MonoQ anion column chromatography (Pharmacia LKB, Uppsala). <i>Eco</i> O44I eluted at 500 mM NaCl. The yield of <i>Eco</i> O44I was 1,100 units/g of wet cells. |

Fig. 1. Cleavage patterns of λ DNA after digestion with *Eco*O44I and *Bsa*I (*Eco*31I isoschizomer)

Lane 1, phage λ DNA+*Eco*O44I; 2, λ DNA+*Eco*O44I+*Bsa*I; 3, λ DNA+*Bsa*I; M, molecular size marker (*Hind*III-cleaved λ DNA)

26,000 unitsの*Eco*O44Iを精製することができた。*E. coli* O44 Hiromiにおける*Eco*O44Iの収量はかなり高く1g当たり1,100 units以上のものが得られたことになる。本酵素は安定で、精製中失活することはなかった。

全塩基配列の決定されている基質DNAの切断パターンとコンピューター解析より、*Eco*O44Iは5'-GGTCTC-3' (1/5)を認識・切断する*Eco*31I¹²⁾と*Bsa*I(市販品)のアイソシゾマーであることが推定された。このため上記*Eco*O44Iと*Bsa*I酵素の混合切断実験を行い(Fig. 1),両者がアイソシゾマーであることを確認した。また、両酵素によって得られたpBR322 DNAの切断断片の結合実験から、*Eco*O44Iは*Eco*31Iと同一の場所、すなわち5'-GGTCTC-3' (1/5)を切断することを確認した(宮原、未発表)。

また、この*Eco*O44Iは、対照実験に使用した*Bsa*Iと比較すると、反応至適温度が、37と55℃であり、至適塩濃度も50と100 mM NaClと条件の違いが大きかった。

考察と要約

1987年愛媛県で散発的下痢患者から分離された enteropathogenic *E. coli* O44 Hiromi 株より 5'-GGTCTC-3' を認識する制限酵素 *Eco*O44I を精製し、その特徴づけを行った。*Eco*O44I の prototype は *Eco*31I であり、すでに A. Janulaitis の研究室で *E. coli* より 20 数種にのぼるアイソシゾマーが分離されている。しかし、我々の知る限り、*Eco*31I のアイソシゾマーが病原性大腸菌から分離されたという報告はない。また、*Bsa*I は既に市販されているが反応温度が 55℃ と特殊である。更に、塩濃度においても *Eco*O44I は多く制限酵素の切断に使われる 50 mM NaCl 塩濃度が至適濃度であることから、他の制限酵素と同時に反応させることもでき *Bsa*I より、利用しやすい制限酵素であると思われる。*Eco*O44I は安定であり、かつ *E. coli* O44 Hiromi 株より比較的容易に高収率で精製できるため、制限酵素陽性で、非病原性変異株が得られれば、*Eco*31I 産生菌の入手が難しいわが国では、企業化が可能と思われる。

なお、5'-GGTCTC-3' を認識する制限酵素は *Bacillus* 属菌や *Vibrio* 属菌でも見いだされている^{2,3,8)}。興味深いことに腸炎ピブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) から 2 種ものアイソシゾマーが発見された⁸⁾ ことである。これらのことは *Eco*31I アイソシゾマーが自然界に比較的広く存在している可能性を示唆するものであろう。

文 献

- 1) Yoshimori, R., Roulland-Dussoix, D., Boyer, H. W.: *J. Bacteriol.*, **112**, 1275~1279 (1972)
- 2) Roberts, R. J., Macelis, D.: *Nucleic Acids Res.*, **21**, 3125~3137 (1993)
- 3) Kessler, C., Manta, V.: *Gene*, **92**, 1~248 (1990)
- 4) Yoshida, Y., Mise, K.: *J. Bacteriol.*, **165**, 357~362 (1986)
- 5) Mise, K., Nakajima, K., Terakado, N., Ishidate, Jr., M.: *Gene*, **44**, 165~169 (1986)
- 6) Miyahara, M., Mise, K., Kimizuka, F., Matsumoto, H., Terawaki, Y.: *Gene*, **113**, 135~136 (1992)

- 7) Lennox, E. S.: *Virology*, **1**, 190~206 (1955)
- 8) 宮原美知子, 藤原理恵, 三瀬勝利, 島田俊雄, 松下 秀, 工藤泰雄, 石渡尚子, 谷村顕雄: 食衛誌, **35**, 605~609 (1994)
- 9) 宮原美知子, 島田俊雄, 三瀬勝利: 食衛誌, **35**, 599~604 (1994)
- 10) Miyahara, M., Mise, K.: *Analytica Chimica Acta*, **213**, 273~277 (1988)
- 11) Smith, H. O., Nathans, D.: *J. Mol. Biol.*, **83**, 419~423 (1973)
- 12) Butkus, V., Bitinaite, J., Bersulyte, D., Janulaitis, A.: *Biochim. Biophys. Acta*, **826**, 208~212 (1985)

塩化マグネシウム六水和物のラットを用いた催奇形性試験

宇佐見 誠・酒見 和枝・津田 充宥・大野 泰雄

Teratogenicity Study of Magnesium Chloride Hexahydrate in Rats

Makoto Usami, Kazue Sakemi, Mitsuhiro Tsuda and Yasuo Ohno

Teratogenicity of magnesium chloride hexahydrate ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) was examined in rats. Magnesium chloride hexahydrate 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, 200, 400 and 800 mg/kg/day. The pregnant rats were sacrificed on day 20 of pregnancy and their fetuses were examined for malformation. Magnesium chloride hexahydrate caused no increased incidences of fetal malformation, and no toxic signs in the pregnant rats and the fetuses. It was concluded that magnesium chloride hexahydrate has no teratogenicity in rats when given by gavage. The no observed adverse effect level was estimated to be over 800 mg/kg/day for both pregnant rats and rat fetuses.

Keywords : magnesium chloride hexahydrate, Wistar rat, teratogenicity, malformation, developmental toxicity

(Received May 31, 1996)

緒 言

塩化マグネシウムは、豆腐の凝固剤として使用が認められている食品添加物である。使用基準はない¹⁾。塩化マグネシウムは難吸収性であり、経口摂取された場合の毒性症状としては瀉下作用が知られている。ラットにおける経口投与時の最小致死量は 2800 mg/kg である。しかし、塩化マグネシウムの催奇形性に関しては、報告は見当たらない。本試験では、塩化マグネシウム六水和物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

食品添加物用の塩化マグネシウム六水和物 ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 食品添加物塩化マグネシウム S, 富田製薬株) を用いた。性状は無～白色の結晶で、添付資料による純度は 95% 以上であった。CAS 登録番号は 7791-18-6 で、式量は 203.30 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

飼いし、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 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $55 \pm 5\%$ 、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

用量の設定にあたって、0, 250, 500 および 1000 mg/kg/day の 3 用量を用いて、1 群 4 匹にて予備試験を実施した (Table 1)。その結果、1000 mg/kg/day で鎮静、体温低下、流涎、水様便が観察され、2 匹が死亡した。生存動物の生殖に関する成績には塩化マグネシウム六水和物の影響は認められなかった。これらの結果を考慮して、本試験における群構成は、塩化マグネシウム六水和物投与群として 200, 400 および 800 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 群の妊娠動物数は 22 匹とした。

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 とするにした。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

Table 1. Preliminary teratogenicity test of magnesium chloride hexahydrate in rats

| | Dose (mg/kg/day) | | | |
|---|------------------|-------------|-------------|-------------|
| | 0 (control) | 250 | 500 | 1000 |
| No. of pregnant rats | 4 | 4 | 4 | 4 |
| No. of dead pregnant rats | 0 | 0 | 0 | 2 |
| No. of litters | 4 | 4 | 4 | 2 |
| No. of corpora lutea ^{a)} | 14.5 ± 0.6 | 17.8 ± 2.1 | 16.5 ± 1.0 | 16.0 ± 2.8 |
| No. of implants ^{a)} | 14.0 ± 0.8 | 14.5 ± 1.3 | 15.0 ± 0.8 | 14.0 ± 4.2 |
| No. of live fetuses ^{a)} | 14.0 ± 0.8 | 14.5 ± 1.3 | 15.0 ± 0.8 | 14.0 ± 4.2 |
| Sex ratio (male/female) | 1.24 | 1.26 | 0.92 | 1.32 |
| Fetal weight (g) ^{a)} | | | | |
| Male | 3.84 ± 0.09 | 3.75 ± 0.33 | 3.93 ± 0.15 | 3.82 ± 0.22 |
| Female | 3.73 ± 0.18 | 3.58 ± 0.22 | 3.73 ± 0.26 | 3.68 ± 0.22 |
| Mortality of implants (%) ^{a)} | 1.8 | 5.0 | 7.4 | 6.9 |
| No. of fetuses with gross malformation | 0 | 0 | 1 | 1 |

a) Mean ± S.D. is shown.

および胚胎児死亡を調べた。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²⁾。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³⁾を、胸部については顕微解剖法⁴⁾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。対照群と塩化マグネシウム六水和物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。

結 果

1. 妊娠動物に及ぼす影響

いずれの群においても、一般状態の変化および死亡動物は認められなかった。体重には、対照群と塩化マグネシウム六水和物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、対照群と塩化マグネシウム六水和物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、対照群と塩化マグネシウム六水和物投与群との間に有意差は認められなかった (Table 2)。

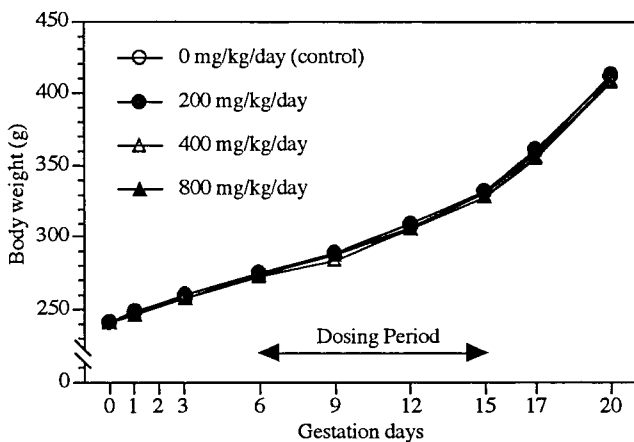


Fig. 1. Body weight of pregnant rats treated with magnesium chloride hexahydrate

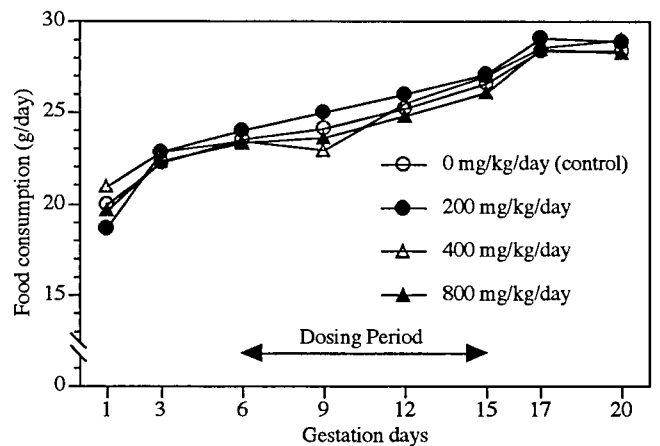


Fig. 2. Food consumption of pregnant rats treated with magnesium chloride hexahydrate

Table 2. Fetal growth in pregnant rats treated with magnesium chloride hexahydrate

| | Dose (mg/kg/day) | | | |
|-------------------------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | 0 (control) | 200 | 400 | 800 |
| No. of litters | 22 | 22 | 22 | 22 |
| No. of corpora lutea | 373 | 370 | 361 | 362 |
| Mean \pm S.D. | 17.0 \pm 1.6 | 16.8 \pm 2.2 | 16.4 \pm 2.1 | 16.5 \pm 1.5 |
| No. of implants | 364 | 340 | 345 | 345 |
| Mean \pm S.D. | 16.5 \pm 1.7 | 15.5 \pm 3.2 | 15.7 \pm 1.9 | 15.7 \pm 1.8 |
| Implantation rate (%) ^{a)} | 97.7 \pm 4.5 | 91.4 \pm 12.2 | 95.9 \pm 6.6 | 95.4 \pm 8.3 |
| No. of live fetuses | 346 | 326 | 324 | 332 |
| Mean \pm S.D. | 15.7 \pm 1.5 | 14.8 \pm 3.5 | 14.7 \pm 1.8 | 15.1 \pm 1.8 |
| Sex ratio (male/female) | 1.28 | 1.15 | 1.23 | 1.38 |
| Fetal weight (g) ^{a)} | | | | |
| Male | 3.95 \pm 0.22 | 3.98 \pm 0.29 | 3.87 \pm 0.21 | 3.98 \pm 0.22 |
| Female | 3.73 \pm 0.25 | 3.75 \pm 0.23 | 3.72 \pm 0.20 | 3.81 \pm 0.17 |
| No. of dead implants | 18 | 14 | 21 | 13 |
| Early death | 18 | 14 | 21 | 13 |
| Late death | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Mortality (%) ^{a)} | 4.8 \pm 4.6 | 4.8 \pm 5.8 | 5.9 \pm 6.1 | 3.6 \pm 5.7 |

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

Table 3. Gross malformations in the fetuses from pregnant rats treated with magnesium chloride hexahydrate

| | Dose (mg/kg/day) | | | |
|--|------------------|-----------|-----------|-----------|
| | 0 (control) | 200 | 400 | 800 |
| No. of litters | 22 | 22 | 22 | 22 |
| No. of fetuses examined | 346 | 326 | 324 | 332 |
| No. of litters with malformed fetuses | 3 (13.6%) | 1 (4.55%) | 3 (13.6%) | 1 (4.55%) |
| No. of fetuses with malformation ^{a)} | 3 (0.88%) | 1 (0.32%) | 4 (1.18%) | 1 (0.25%) |
| Anal atresia | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) | 1 (0.30%) | 1 (0.25%) |
| Dwarf | 3 (0.88%) | 1 (0.32%) | 2 (0.61%) | 0 (0.00%) |
| Kinky tail | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) | 1 (0.27%) | 0 (0.00%) |
| Pes varus | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) | 1 (0.30%) | 0 (0.00%) |
| Rudimentary tail | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) | 1 (0.30%) | 1 (0.25%) |

a) Total number and mean incidence are shown.

2.2. 胎児外表

各群において1~4匹の胎児に外表奇形が認められたが、対照群と塩化マグネシウム六水和物投与群との間には、発生率に有意差は認められなかった (Table 3).

2.3. 胎児骨格

骨格奇形は800 mg/kg/dayにおいて1匹の胎児に認められたが、対照群との間には発生率に有意差は認められなかった (Table 4). 骨格変異の発生率には、対照群と塩化マグネシウム六水和物投与群との間には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。

2.4. 胎児内部器官

各群において4~6匹の胎児に奇形が認められたが、対照群と塩化マグネシウム六水和物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 5).

考 察

本試験の結果から、塩化マグネシウム六水和物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。塩化マグネシウム六水和物は妊娠ラットを死亡させない最大投与量であると考えられる800 mg/kg/day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⁵⁾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

Table 4. Skeletal variations in the fetuses from pregnant rats treated with magnesium chloride hexahydrate

| | Dose (mg/kg/day) | | | |
|--|------------------|-------------|-------------|-------------|
| | 0 (control) | 200 | 400 | 800 |
| No. of litters | 22 | 22 | 22 | 22 |
| No. of fetuses examined | 174 | 168 | 165 | 165 |
| No. of fetuses with malformation ^{a)} | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) | 1 (0.51%) |
| Vertebral agenesis | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) | 1 (0.51%) |
| No. of fetuses with variation ^{a)} | 76 (43.1%) | 71 (42.6%) | 89 (54.0%) | 84 (51.5%) |
| Hypoplastic supraoccipital | 27 (15.2%) | 21 (12.2%) | 28 (16.9%) | 27 (16.5%) |
| Cervical rib | 1 (0.57%) | 2 (1.22%) | 0 (0.00%) | 2 (1.41%) |
| Wavy rib | 5 (2.66%) | 6 (3.52%) | 10 (6.85%) | 10 (6.25%) |
| Shortened rib | 2 (1.14%) | 1 (0.76%) | 3 (1.52%) | 1 (0.51%) |
| Deformed cervical vertebral arch | 22 (11.8%) | 8 (4.44%) | 18 (10.9%) | 6 (3.92%) |
| Deformed sternebrae | 8 (4.53%) | 9 (5.57%) | 12 (7.45%) | 13 (7.82%) |
| Deformed thoracic vertebral body | 33 (18.8%) | 39 (23.0%) | 39 (23.8%) | 37 (23.6%) |
| 25 or 27 presacral vertebrae | 2 (1.14%) | 2 (1.33%) | 7 (3.74%) | 1 (0.57%) |
| Lumbar rib | 14 (8.10%) | 13 (7.27%) | 18 (11.6%) | 16 (9.77%) |
| Extra rib | 0 (0.00%) | 6 (3.41%) | 3 (1.80%) | 2 (1.41%) |
| Rudimentary rib | 14 (8.10%) | 11 (6.14%) | 15 (9.81%) | 16 (9.77%) |
| Others | 2 (1.14%) | 1 (0.57%) | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) |
| No. of sacro-caudal vertebrae ^{b)} | 8.19 ± 0.55 | 8.22 ± 0.54 | 8.12 ± 0.45 | 8.13 ± 0.47 |
| No. of metacarpus ^{b)} | 7.70 ± 0.39 | 7.70 ± 0.49 | 7.62 ± 0.48 | 7.68 ± 0.45 |
| No. of metatarsus ^{b)} | 8.05 ± 0.22 | 8.12 ± 0.26 | 8.06 ± 0.15 | 8.09 ± 0.24 |

a) Total number and mean incidence are shown.

b) Mean ± S.D. is shown.

Table 5. Visceral malformations in the fetuses from pregnant rats treated with magnesium chloride hexahydrate

| | Dose (mg/kg/day) | | | |
|--|------------------|-----------|-----------|-----------|
| | 0 (control) | 200 | 400 | 800 |
| No. of litters | 22 | 22 | 22 | 22 |
| No. of fetuses examined | 170 | 157 | 159 | 166 |
| No. of litters with malformed fetus | 4 (18.2%) | 4 (18.2%) | 5 (22.7%) | 4 (18.2%) |
| No. of fetuses with malformation ^{a)} | 5 (2.80%) | 4 (2.45%) | 6 (3.49%) | 5 (3.24%) |
| Abnormal lung lobulation | 1 (0.65%) | 1 (0.65%) | 1 (0.76%) | 0 (0.00%) |
| Pulmonary hypoplasia | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) | 1 (0.57%) | 0 (0.00%) |
| Diaphragmatic hernia | 1 (0.51%) | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) |
| Unilateral adrenal agenesis | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) | 1 (0.65%) | 0 (0.00%) |
| Ectopic kidney | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) | 2 (1.14%) | 1 (0.51%) |
| Dilatated renal pelvis | 1 (0.57%) | 0 (0.00%) | 1 (0.57%) | 0 (0.00%) |
| Horseshoe kidney | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) | 1 (0.65%) | 0 (0.00%) |
| Ectopic ovary | 0 (0.00%) | 0 (0.00%) | 1 (0.65%) | 0 (0.00%) |
| Left-sided umbilical artery | 2 (1.07%) | 3 (1.80%) | 2 (1.22%) | 5 (3.24%) |

a) Total number and mean incidence are shown.

することはないと推定される。

本試験条件下での塩化マグネシウム六水和物の妊娠ラットに対する無影響量は 800 mg/kg/day であると考えられる。これは、800 mg/kg/day では母動物に塩化マグネシウム六水和物投与の影響は認められないが、予備試験にお

いて 1000 mg/kg/day では鎮静、体温低下、流涎、水様便および死亡が認められたからである。

ラット胎児に対する無影響量は 800 mg/kg/day であると考えられる。これは、800 mg/kg/day 投与においても対照群と比較して、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) 石館守三, 谷村顕雄監修: “第5版食品添加物公定書解説書”, 廣川書店, 東京 (1987)
- 2) Dawson. A. B.: *Stain Technol.*, **1**, 123 (1926)
- 3) Wilson. J. G.: “Teratology principles and techniques” (eds. Wilson. J. G. and Warkany, J.) pp. 262. The University of Chicago Press. Chicago (1965)
- 4) 西村耕一: 先天異常, **14**, 23 (1974)
- 5) 安田峰生, 前田広由: 先天異常, **13**, 25 (1973)

Benzimidazole 系化合物反復投与ラットにおける肝腫瘍プロモーション作用の強さ

小野寺博志・三森 国敏・畝山智香子・安原加壽雄
竹川 潔・高橋 道人

Intensity of Liver Tumor Promotion Effects in Rats Given Repeated Oral Administrations of Benzimidazole Compounds

Hiroshi Onodera, Kunitoshi Mitsumori, Chikako Uneyama, Kazuo Yasuhara,
Kiyoshi Takegawa and Michihito Takahashi

Liver tumor-promoting effects of anthelmintic agents, febantel (Feb), fenbendazole (Fen) or oxfendazole (Oxf), were investigated in a rodent 2-stage carcinogenesis model. Five-week-old male F344 rats were initiated with or without diethylnitrosamine (DEN) and one week later given diet containing Fen (3600, 1800, 600, 200 or 70 ppm), Feb (2000, 1000, 500 or 100 ppm) or Oxf (500, 250, 100 or 10 ppm) for 8 weeks. Induction of CYP1A1/2 was observed in treated groups of DEN+Feb and DEN+Oxf groups, and its induction was most marked in DEN+Oxf groups. CYP2B1 and CYP4A1 were also induced in these treated groups. The number or area of Cx32 positive spots per hepatocyte was significantly decreased in treated groups except for DEN+Oxf 100 ppm group, as compared to DEN alone group. GST-P positive foci was significantly increased in DEN+Fen groups treated with 1800 ppm or more, DEN+Feb groups treated with 1000 ppm Feb or more and DEN+Oxf groups treated with 250 ppm Oxf or more. These results suggest that these three compounds have liver tumor promotion effects and the promoting action in Oxf is most strong among them.

Keywords : Fenbendazole, Febantel, Oxfendazole, connexin 32, tumor promoter
(Received May 31, 1996)

緒 言

残留動物用医薬品の安全性については米国食品医薬品局 (FDA), ヨーロッパ連合 (EU) や国連食糧農業機構 (FAO) と世界保健機構 (WHO) の合同食品規格委員会などにおいて各々評価を行っているが, 各国により事情が異なり, 各薬品ごとに残留基準値 (MRL) を一律に設定することは困難な場合がある。近年, 親化合物に加えてその代謝物についても毒性評価を行うべきである事が指摘されてきている。Benzimidazole 系動物用内寄生虫駆除薬の fenbendazole (Fen) は暫定 MRL が設定されてはいるものの, ラットに肝腫瘍が誘発される事が報告されている¹⁾。しかし, その催腫瘍性の発現機序や代謝物の安全性については不明な点が多く, 今後の研究に負うところが大きい。また, Fen のプロドラックである febantel (Feb) や Fen の主代謝物である oxfendazole (Oxf) に関しては, すでに実施された発癌性試験では用量が低かったことに起因するものと考えられるが, 肝に催腫瘍性がないと報告されている²⁾。一方, これらの物質を動物に投与することにより, いずれも肝細胞が肥大する事実から肝に対し腫瘍プロモーション作用を有する可能性が推察される。そこで今回, 肝二段階発がんモデルを用い, これらの物質を 8 週間ラットに投

与して肝臓での形態変化を観察するとともに, 肝 P450 分子種の誘導, 細胞間結合蛋白 (connexin 32: Cx32) の変動や肝胎盤型 glutathione S-transferase (GST-P) 陽性細胞巢を指標として, これらの物質の肝におけるプロモーション作用の有無とその強さについて比較検討した。

実験方法

1. 被験物質

被験物質の構造式を Fig. 1 に示した。Fen は淡褐色をおびた白色粉末, Oxf は白色粉末で, いずれも林純薬工業 (大阪) から購入した。純度はいずれも 99% 以上であった。Feb (商品名 Rintal) はバイエル社 (ドイツ) より入手し, 白色粉末で純度は 98% であった。diethylnitrosamine (DEN) は Nacalai Tesque (京都) より購入した。

2. 動物および飼育条件

日本チャールスリバー (厚木) より 4 週齢の雄性 F344/DuCrj ラットを購入し, 一週間の順化飼育後実験に供した。飼料はオリエンタル酵母 (東京) の CRF-1 粉末飼料を用い, 飲料水は水道水を自由に与えた。動物は, 室温 23±2°C, 湿度 55±5%, 換気回数 18 回/時間, 12 時間照明/消灯に設定されたバリアーシステム下の動物飼育室で飼育した。

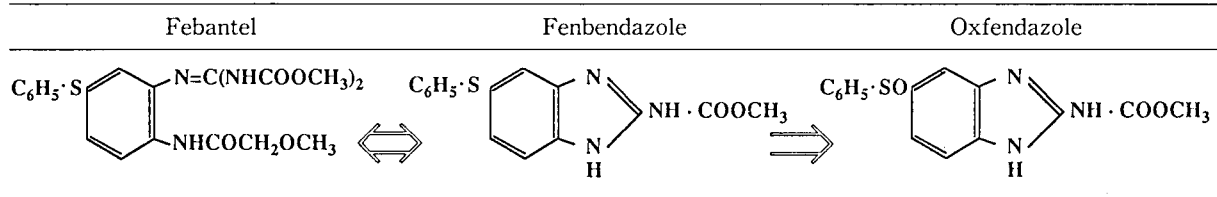


Fig. 1. Chemical structures metabolic pathway of anthelmintic agents, febantel, fenbedazole and oxfendazole

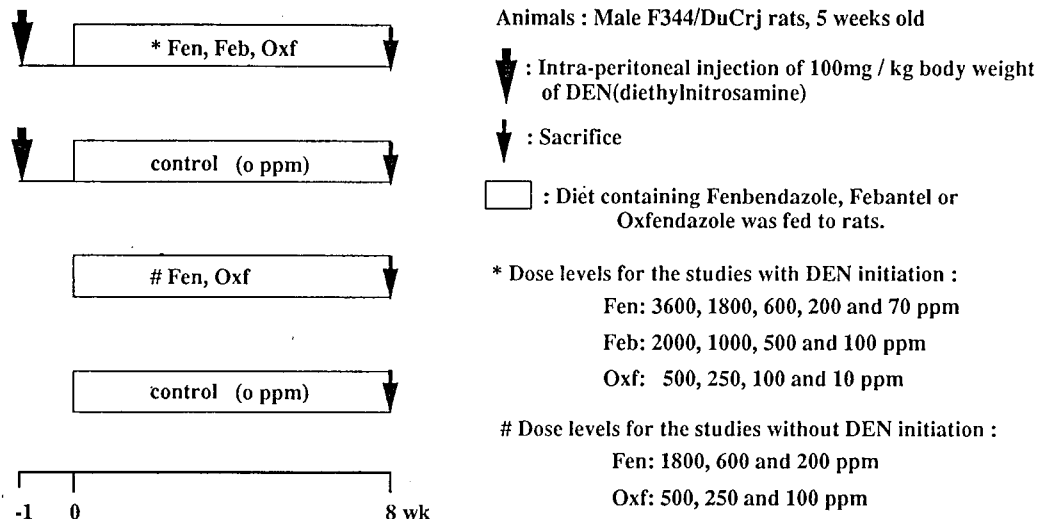


Fig. 2. Experimental design

3. 投与量および投与方法 (Fig. 2)

5週齢の動物に生理食塩水に溶解したDENを100 mg/kg体重量で一回腹腔内に投与し、その一週間後より、Fenは3600, 1800, 600, 200および70 ppm, Febを2000, 1000, 500および100 ppm, Oxfを500, 250, 100および10 ppm含有する粉末飼料を自由に与え、8週後に屠殺解剖した。各被験物質の用量は、既に報告されている慢性毒性試験の無影響量 (NOEL) を最低用量とし、次にそれぞれの肝肥大最少発現量の近似値を設定し、その他の用量は公比2から3を用いて高用量を設定した¹⁾。また、DENを処置しない群も設け、それらはFen 1800, 600および200 ppmとOxf 500, 250および100 ppm含有飼料を同様に8週間投与した。対照群には基礎粉末飼料を同様に与えた。

4. 観察方法

P450 Western blotting

解剖時に肝重量を測定後、一部の肝臓をwestern blottingとCx32抗体による免疫蛍光染色用に液体窒素で凍結した。DEN+Feb, DEN+OxfとOxf群の動物の凍結肝よりmicrosomeを抽出後、SDS-ポリアクリルアミドゲルを用いて電気泳動した。ニトロセルロース膜に転写した後、一次抗体として抗ラットCYP1A1/2, 2B1, 2E1, 3A2, 4A1ヤギ抗体 (第一化学薬品, 東京) で反応させ、二次抗体をペルオキシダーゼ結合抗ヤギIgGで反応後HRPで発色

させた。

免疫組織化学

GST-P染色については、肝のパラフィン切片を脱パラ後、抗GST-P抗体 (MBL, 名古屋) を2000倍で希釈し、常法によりABC法で処理後、DABで発色させた。

Cx32免疫蛍光染色には、DEN+Feb, DEN+FenやDEN+Oxf群の肝の凍結切片に対し、一次抗体として抗Cx32抗体 (IARCの山崎博士より供与)、二次抗体としてビオチン標識ウサギIgG (VECTER, 米国) を用い反応させ、FITCストレプトアビジン (VECTER, 米国) と反応後、蛍光顕微鏡下で写真撮影をした。Cx32陽性スポット数と面積は病理画像解析装置IPAP (住化テクノス, 大阪) を用いて測定した。

光学顕微鏡的観察

全動物の肝を10%中性ホルマリンで固定後、常法に従いHE染色標本作製し、顕微鏡観察を行った。

結 果

解剖時における体重と肝重量をTable 1に示した。DEN+Fenでは600 ppm以上の投与群で体重の増加抑制が軽度ではあるが有意かつ用量相関性に認められた。DEN+Febでは500 ppm以上の投与群で増加抑制が認められたが、DEN+Oxf群では有意な変動はみられなかった。肝の実重量ではDEN+Fenの1800 ppm群とDEN+

Table 1. Body weight, absolute and relative liver weight of rats given diet containing fenbendazole, febantel or oxfendazole with or without DEN initiation

| Dose levels (ppm) | Body weight (g) | Liver weight | |
|-------------------|-----------------|--------------|----------------|
| | | Absolute (g) | Relative (g/%) |
| DEN+Fen | | | |
| 3600 | 275.3± 8.2***# | 9.30±0.18 | 3.38±0.05** |
| 1800 | 285.2± 7.3** | 9.57±0.22* | 3.36±0.08** |
| 600 | 287.7± 5.9* | 9.27±0.45 | 3.22±0.11** |
| 200 | 301.7± 6.4 | 9.31±0.25 | 3.09±0.06* |
| 70 | 309.8±12.3 | 9.57±0.66 | 3.09±0.09* |
| DEN+Feb | | | |
| 2000 | 286.8± 9.7* | 10.68±0.56** | 3.72±0.09** |
| 1000 | 285.6±17.7* | 8.95±0.72 | 3.13±0.10* |
| 500 | 277.8±10.6** | 8.37±0.65 | 3.01±0.15 |
| 100 | 292.6±15.2 | 8.41±0.83 | 2.87±0.14 |
| DEN+Oxf | | | |
| 500 | 280.8±10.9 | 9.87±0.44** | 3.52±0.07** |
| 250 | 289.1±21.1 | 9.51±0.90 | 3.28±0.10** |
| 100 | 288.1± 7.4 | 8.40±0.38 | 2.92±0.08 |
| 10 | 281.0±10.4 | 8.09±0.30 | 2.88±0.06 |
| DEN alone | | | |
| | 304.7±12.0 | 9.04±0.50 | 2.97±0.11 |
| Fen | | | |
| 1800 | 294.8±11.0 | 10.17±0.47** | 3.43±0.03** |
| 600 | 296.1±14.2 | 9.57±0.82* | 3.23±0.12** |
| 200 | 300.1±11.6 | 9.16±0.52* | 3.05±0.06* |
| Oxf | | | |
| 500 | 302.8±24.6 | 10.51±0.85** | 3.47±0.08** |
| 250 | 295.4±33.5 | 9.20±1.39 | 3.10±0.14** |
| 100 | 305.6±22.0 | 9.16±0.62* | 3.00±0.09* |
| Control | 283.8±46.2 | 7.95±1.28 | 2.81±0.18 |

*: Mean±S.D

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

Feb, DEN+Oxf の最高用量群で有意な増加を認めた。肝の相対重量では、DEN+Fen の全群、DEN+Feb の 1000 ppm 以上の投与群、DEN+Oxf の 250 ppm 以上の投与群で有意に増加した。DEN の処置を行わなかった投与群では体重変化には有意な変動は認められなかったが、肝の実重量と相対重量は全 Fen および Oxf 投与群で増加傾向が認められた。

病理組織学的には DEN+Fen では 200 ppm 以上の投与群で小葉中心性の肝細胞の肥大が認められ、最高用量でその程度は顕著であった。DEN+Feb では 500 ppm 以上の投与群で肝細胞の肥大が認められた。DEN+Oxf では同様の肝細胞の肥大が 10 ppm 群から認められ、かつ用量相関性をもってその程度は増強した。また、Fen や Feb 投与群で認められなかった脂肪と思われる空胞が散見され、

Table 2. Induction of liver P450 isozymes in rats given diet containing fenbendazole, febantel or oxfendazole with or without DEN initiation

| Dose levels (ppm)/CYP | 1A1/2 | 2B1 | 2E1 | 3A2 | 4A1 |
|-----------------------|-------|-----|-----|-----|-----|
| DEN+Feb | | | | | |
| 2000 | ## | ## | - | ± | ## |
| 1000 | + | ± | - | - | + |
| 500 | + | - | - | - | ± |
| 100 | + | - | - | - | - |
| DEN+Oxf | | | | | |
| 500 | ## | + | - | ± | + |
| 250 | ## | + | - | ± | + |
| 100 | ## | + | - | ± | + |
| 10 | ## | + | - | ± | + |
| DEN only | | | | | |
| | - | - | - | - | - |
| Oxf | | | | | |
| 500 | ## | + | - | ± | - |
| 250 | ## | - | - | - | - |
| 100 | + | ± | - | - | + |
| Control | | | | | |
| | - | - | - | - | - |

##: Severe, #: moderate, +: mild, ±: weak, -: negative

その程度は用量に依存して増加した。DEN を処置していない Fen と Oxf でも同様の肝肥大が認められたが、Oxf における空胞化の出現頻度は軽度であった。

P450 アイソザイムの発現とその強さを Table 2 に示した。CYP1A1/2 はいずれの投与群でも誘導されたが、特に DEN+Oxf 群で強く誘導され、DEN の処置を行わなかった Oxf 群においても用量相関的に誘導された。CYP2B1 は DEN+Feb の 2000 ppm 群と DEN+Oxf 群で誘導されたが、明確な用量相関性は認められなかった。CYP4A1 は DEN+Feb の 1000 ppm 以上の投与群で用量相関的に、DEN+Oxf 群では用量相関性は認められないもののすべての用量群で誘導された。CYP2E1, 3A2 の誘導はいずれの投与群においても認められないか、あるいは軽微なものであった。

肝についての細胞間結合蛋白 (コネクシン 32: Cx32) 抗体による免疫蛍光染色の結果を Fig. 3 に示した。Fig. 3-1 は各投与群における Cx32 陽性スポット数の推移を DEN のみ投与した対照群を「1」とした時の割合で示した。全投与群で対照群に比し陽性スポット数が減少する傾向を認めたが、特に DEN+Fen の 1800 ppm 群以上と DEN+Feb の 2000 ppm 群での減少は著しく、また DEN+Oxf では用量相関性は認められなかったものの最低用量の 10 ppm 群でも有意に減少した。Fig. 3-2 は Cx32 陽性面積を数と同様に DEN 投与のみの対照群を「1」とした割合で示した。Cx32 陽性面積の減少も数と同様の傾向を示したが、DEN+Oxf 100 ppm 群、DEN+Fen 70 ppm 群および DEN+Feb 1000 ppm 群を除くすべての用量群で有意な陽性面積の減少を認めた。

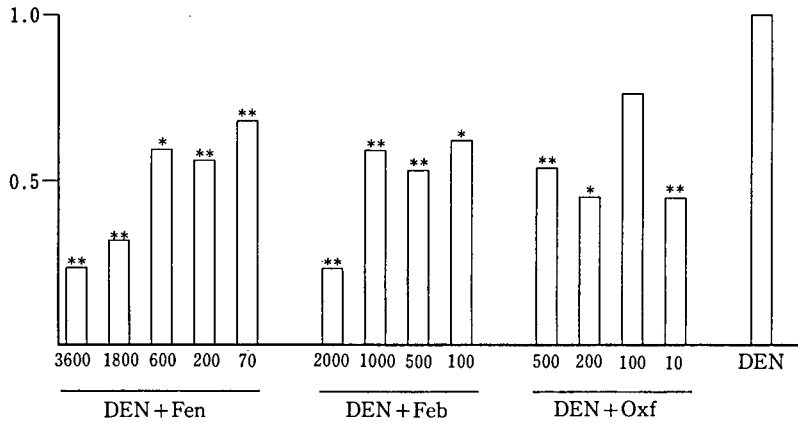


Fig. 3.1. Changes in number of Cx32 Spots per hepatocyte in rats given diet containing fenbendazole, febantel or oxfendazole with DEN initiation.

Asterisks represent significant differences from the DEN alone group values (**, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$).

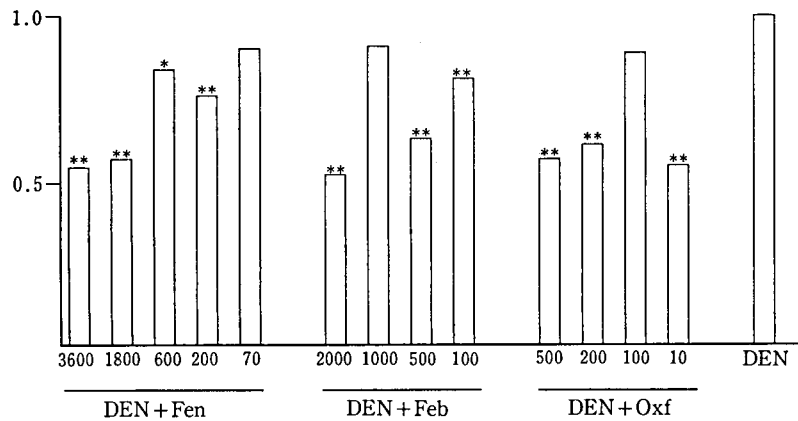


Fig. 3.2. Changes in area of Cx32 spots per hepatocyte in rats given diet containing fenbendazole, febantel or oxfendazole with DEN initiation.

Asterisks represent significant differences from the DEN alone group values (**, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$).

GST-P 免疫組織学的染色結果を Table 3 に示した。今回の実験ではすべての投与群で肝臓の GST-P 陽性巣が結節状増殖巣として認められることはなく、単細胞、あるいは数個の陽性細胞の集簇として認められた。各群、陽性単細胞数と 2 個以上の陽性細胞の集簇数、それらの合計陽性巣数を算定したところ、陽性単細胞数は DEN+Fen では 1800 ppm 以上の投与群、DEN+Feb では 1000 ppm 以上の投与群、DEN+Oxf では 250 ppm 以上の投与群で有意な増加が認められた。2 個以上の陽性細胞集簇および合計陽性巣数は、DEN+Fen の 1800 ppm 以上の投与群、DEN+Fen 2000 ppm 群、DEN+Oxf 250 ppm 群で有意に増加した。

考 察

Fen は畜産動物の内寄生虫駆除剤として日本を除く世界

各国で広く用いられており、輸入畜産食品中にはこれらの系統の薬物が残留している可能性がある。Fen をラットに大量長期間投与することにより肝腫瘍が誘発される報告があり、ヒトへの発がん性リスクが FAO/WHO の食品添加物専門家委員会 (JECFA) によって評価されている²⁾。それによると Fen には変異原性が認められない事から、遺伝子障害性発がん物質とは考えられず、肝に対する作用に閾値が存在するものと判定して、暫定 ADI (0~25 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{b.w.}$) が提案されている²⁾。一方、Fen のプロドラッグである Feb および両剤の体内での主代謝物である Oxf については、発がん性試験は実施されているが、発がん性は認められていないことから、これらの薬剤についても暫定 ADI が設定されている。

今回の実験では各被験物質の投与群において肝の相対重量の増加が低用量から認められたが、絶対および相対重量

Table 3. No. of liver GST-P positive foci in rats given diet containing fenbendazole, febantel or oxfendazole with or without DEN initiation

| Dose levels (ppm) | Single cell | Multiple cells | Total |
|-------------------|--------------------------|----------------|-------------|
| DEN+Fen | | | |
| 3600 | 48.2±3.3*** [‡] | 21.2±1.8** | 69.4± 3.5** |
| 1800 | 26.0±6.1** | 8.2±1.5** | 34.2± 7.3** |
| 600 | 10.0±1.4 | 1.8±1.6 | 11.8± 2.3 |
| 200 | 11.0±2.6 | 5.0±1.2 | 16.0± 2.2 |
| 70 | 13.0±3.7 | 6.0±4.5 | 19.0± 7.9 |
| DEN+Feb | | | |
| 2000 | 21.8±9.9* | 8.8±1.6** | 30.6±10.7* |
| 1000 | 12.8±0.8* | 3.4±1.8 | 16.2± 1.1 |
| 500 | 14.8±4.0 | 3.8±2.2 | 18.6± 5.5 |
| 100 | 13.0±2.0 | 2.8±1.9 | 15.8± 2.2 |
| DEN+Oxf | | | |
| 500 | 14.8±4.1* | 5.0±3.4 | 19.8± 7.5 |
| 250 | 22.6±8.2 | 13.8±6.8** | 36.4±14.4* |
| 100 | 10.8±4.1 | 4.2±3.0 | 15.0± 6.9 |
| 10 | 10.8±2.8 | 4.0±1.9 | 14.8± 3.4 |
| DEN alone | 11.4±2.3 | 4.6±2.2 | 16.0± 3.3 |

[‡]: Mean±S.D

***: Significantly different from DEN alone group values at p<0.01 and p<0.05, respectively.

の両者が有意に増加したのは、DEN 処置群では Feb 2000 ppm 群と Oxf 500 ppm 群のみであり、DEN を処置しなかった投与群 (Fen 200 ppm 以上の群) での変動と一貫性がなかった。これには DEN 処置による肝臓に対する傷害性が関連しているものと考えられた。最近、肝 P450 アイソザイムの誘導と肝腫瘍プロモーション作用との間に関連がある事が報告されている。特に CYP2B1 の誘導が肝腫瘍プロモーターであることを示唆する報告が多々なされている³⁾。今回の実験では、P450 アイソザイムの誘導は CYP1A1/2 を主体に CYP2B1 や CYP4A1 が誘導され、CYP2B1 の誘導能から、これらの物質にも肝腫瘍プロモーション作用が存在することが窺える。また、これらのアイソザイムが誘導される強さは Oxf で顕著であり、代謝物質の肝薬物

代謝酵素誘導能が最も強いことが示唆された。GST-P 免疫組織化学染色では、肝の前癌性病変と考えられている結節状変異陽性細胞巣は今回認められなかったが、陽性単細胞か数個の陽性細胞集簇の増加が各物質の高用量群でみられた。これは、DEN 処置後の被験物質の投与期間が短かった事およびプロモーション作用がそれ程強くない事に起因するものと考えられた。しかし、いずれの物質も高用量群で陽性細胞が増加する傾向を示した事から、これらの物質を長期間投与することにより、肝腫瘍が誘発される可能性が推察された。

近年、ギャップ結合細胞間連絡は組織の恒常性を維持する上で必須であることが知られており、その障害は発がん過程を促進する上で重要な役割を果たしていることが報告されている⁴⁾。事実、肝の前癌病変部位あるいはフェノバルビタールや DDT 等、肝腫瘍プロモーション作用を有する物質を投与された肝においては細胞間結合蛋白の変異や減少が認められている⁵⁻¹⁰⁾。また、発がん抑制物質を投与する事により、これらの蛋白が増加する事実も報告されている¹¹⁾。更に、P450 CYP2B1 が誘導される肝細胞では Cx32 の抑制が同時に認められる報告もあり、CYP2B1 を誘導し、かつ Cx32 を抑制する化学物質は肝腫瘍プロモーターである可能性が非常に高いとみなされる。今回の実験では、Fen で Cx32 の発現が各用量で抑制され、かつ変異原性陰性や GST-P 陽性細胞巣の増加も考え合わせると、Fen の肝における催腫瘍性は、この物質の腫瘍プロモーション作用によって発現したものと推察された。Fen のプロドドラッグである Feb やその代謝物である Oxf においても CYP2B1 が誘導されたことから、Feb や Oxf にも同様の肝腫瘍プロモーション作用が存在することが強く示唆された。Table 4 に示すように、Oxf の LD₅₀ 値は Feb や Fen に比べ約 1/2 倍とその毒性は高く、NOEL (無作用量) も Feb のそれより更に 1/6 倍低いことが報告されている。更に、P450 の誘導は Oxf で強く、Cx32 の抑制も Oxf の低い用量でみられた。したがって三物質中 Oxf が最も強いプロモーション作用を有するものと推察された。今回の実験では、各物質ともに既に実施された慢性毒性試験で NOEL と報告されている用量においても Cx32 の陽

Table 4. Summary of the toxicity and carcinogenicity of benzimidazole compounds

| | Febantel | Fenbendazole | Oxfendazole |
|--|------------|--------------|-------------|
| LD ₅₀ (mg/kg) | 10605 | 10000 | 6400 |
| Minimum dose inducing hepatocellular hypertrophy (mg/kg) | 40(1/250)* | 15(1/650) | 7.8(1/800) |
| NOEL (mg/kg) | 8(1/1300) | 5(1/2000) | 0.8(1/8000) |
| High dose in carcinogenicity study (mg/kg) | 40(1/265) | 135(1/75) | 6.6(1/1970) |
| Result of carcinogenicity study | - | + | - |

* Number in parenthesis represents the ratio of each value to LD₅₀ value.

-: negative, +: positive

性スポット数や面積が減少した。これは、従来の試験法より鋭敏に投与に関連する変化を検出し得る事を示すものであり、毒性試験のNOELを決定する手法として今後充分に検討すべき指標と考えられた。

以上の成績から、畜産食品中に残留する薬物については、親化合物のみならず、代謝物の毒性についても評価すべきであることが強く示唆された。残留動物用医薬品の代謝物についての毒性の評価に関する資料は今の所少なく、今回の実験成績は今後の安全性評価に重要な情報を提供するものであると考える。すでにFAO/WHOにおいて国際規格として勧告されている薬物の中には、代謝物についての安全性に関する資料が少ないものもあり、今後更にこの種の資料の蓄積が望まれる。

文 献

- 1) WHO Technical Report Series 815, pp. 13~30 (1991) "Evaluation of certain veterinary drug residues in food" World Health Organization, Geneva.
- 2) Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: "Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food" WHO food additives series: 29 pp. 23~106 (1991), World Health Organization, Geneva.
- 3) Mark J. Neveu, Karlee L. Babcock, Elliot L. Hertzberg, David L. Paul, Bruce J. Nicholson and Henry C. Pitot.: Colocalized alteration in connexin32 and cytochrome P450IIB1/2 by phenobarbital and related liver tumor promoters. *Cancer Research*, **54**, 3145~3152 (1994)
- 4) I. V. Budunoval and G. M. Williams.: Cell culture assays for chemicals with tumor-promoting or tumor-inhibiting activity based on the modulation of intercellular communication. *Cell Biology and Toxicology*, **10**, 71~116 (1994)
- 5) D. James Fitzgerald and Hiroshi Yamasaki.: Tumor Promotion: Models and Assay Systems "Assay Systems of Tumor Promotion" pp. 89~102 (1990) Programme of Multistage Carcinogenesis, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France
- 6) Marc Mesnil and Hiroshi Yamasaki.: Cell-cell communication and growth control of normal and cancer cells: Evidence and hypothesis. *Molecular carcinogenesis*, **7**, 14~17 (1993)
- 7) Mark J. Neveu, James R. Hully, Karlee L. Babcock, Elliot L. Hertzberg, Bruce J. Nicholson, David L. Paul and Henry C. Pitot.: Multiple mechanisms are responsible for altered expression of gap junction genes during oncogenesis in rat liver. *Journal of Cell Science*, **107**, 83~95 (1994)
- 8) Shigeyuki Sugie, Hideki Mori and Masayoshi Takahashi: Effect of in vivo exposure to the liver promoters phenobarbital or DDT on the gap junctions of rat hepatocytes: a quantitative freeze-fracture analysis. *Carcinogenesis*, **8**(1), 45~51 (1987)
- 9) J. E. Trosko, C. C. Chang, B. V. Madhukar, J. E. Klaunig: Chemical, oncogene and growth factor inhibition of gap junctional intercellular communication: an integrative hypothesis of carcinogenesis. *Pathobiology*, **58**, 265~278 (1990)
- 10) Marc Mesnil, Colette Piccoli and Hiroshi Yamasaki: An improved long-term culture of rat hepatocytes to detect liver tumour-promoting agents: results with phenobarbital. *European Journal of Pharmacology*, **248**, 59~66 (1993)
- 11) Kristi Sigler and Randall J. Ruch.: Enhancement of gap junctional intercellular communication in tumor promoter-treated cells by components of green tea. *Cancer Letters*, **69**, 15~19 (1993)

クチナシ青色素の F344 ラットにおける 13 週間亜慢性毒性試験

今沢 孝喜・西川 秋佳・古川 文夫・田中丸善洋
李 仁善・金 享津・高橋 道人

A 13-Week Subchronic Toxicity Study of Gardenia Blue in F344 Rats

Takayoshi Imazawa, Akiyoshi Nishikawa, Fumio Furukawa, Zen-yo Tanakamaru,
In-Seon Lee, Hyoung-Chin Kim and Michihito Takahashi

A 13-week oral toxicity study of gardenia blue was performed in male and female F344 rats at the dose levels of 5.0, 2.5, 1.25, 0.6 and 0% in the diet, to determine the maximum tolerable dose (MTD) for subsequent investigation of carcinogenicity. Rats were randomly allocated to 5 groups, each consisting of 10 males and 10 females.

No groups showed decreases in body weight gain and food intake, and all animals survived until the end of the experiment.

A dose-dependent decrease in number of platelets was observed in females treated with gardenia blue in hematological examination, but not in males. No histopathological change, relating to the treatment, in megakaryocyte which is the progenitor cell of platelets was observed in the treated-females.

Serum biochemistry revealed increases in GOT and GPT in both sexes treated with the 5.0% and 2.5% gardenia blue, as compared to the control value. However, these were not considered to be specific changes because of lack of any clear dose response. In addition, no histopathological changes indicating obvious toxicity of gardenia blue were observed in the liver of both sexes treated with gardenia blue.

Based on these data, the MTD of gardenia blue for both sexes in F344 rats was considered to be 5.0% or more in the diet.

Keywords : gardenia blue, subchronic toxicity study, food additive, F344 rat, MTD

(Received May 31, 1996)

緒 言

クチナシ青色素 (Gardenia blue) は、クチナシ (*Gardenia jasminoides* Ellis) の果実抽出物と脱脂大豆粉を食用酵素 β -グルコシダーゼおよびプロテアーゼ存在下で、作用させて得られた青色天然着色料¹⁾である。クチナシ青色素は、50%以下の含水プロピレングリコール、30%以下の含水エタノールには容易に溶解するが、無水エタノールにはほとんど溶けず、エーテル、アセトン、クロロホルム、ベンゼンなどには不溶である。味はほとんどなく、吸湿性が少なく、色価・色調の変化はほとんどみられず、更には耐熱性、耐光性もあるため保存性も良好である²⁾。現在、わが国におけるクチナシ青色素の用途は冷菓、飲料、リキジュール類、チューインガム、水産加工品、漬物、農産製造加工品などに食品添加物の着色料として食品業界で多量に使用されているほか、緑色系色調調整用の合剤原料として利用されている。

クチナシ青色素のマウスにおける LD₅₀ 値は 16.7 g/kg 以上であり、マウスの 5 ヶ月間の亜急性毒性試験の最高用

量 (4%混餌投与) においても、毒性を示さないことが報告されている³⁾。しかし、ラットにおける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、ラットを用いてクチナシ青色素の短期間大量投与での毒性を明らかにする目的で、最高用量を混餌投与の上限とされる 5%とし、13 週間の亜慢性毒性試験を実施したので、その成績を報告する。

試験材料および方法

1. 被験物質および動物

クチナシ青色素はクチナシ青色素懇話会 (大阪) より供与されたものを用いた。

動物は 5 週齢の F344/DuCrj 系ラット (SPF) 雌雄各 50 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 5 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 ± 1°C, 湿度 55 ± 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4群を被験物質投与群とし, 5%, 2.5%, 1.25%, 0.6%の割合でクチナシ青色素を混合した固型飼料(ラボMRストック薬添飼料, ニック食品工業(株))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群にはクチナシ青色素を含まない基礎飼料(ラボMRストック薬添飼料)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, 瀉血後剖検した。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, 膀胱, 膀胱, 前立腺, 精嚢腺, 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。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-120A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(BUN), 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), γ -glutamyl transpeptidase (γ -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Scheffé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³⁾。

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推移をFig.1に示した。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。

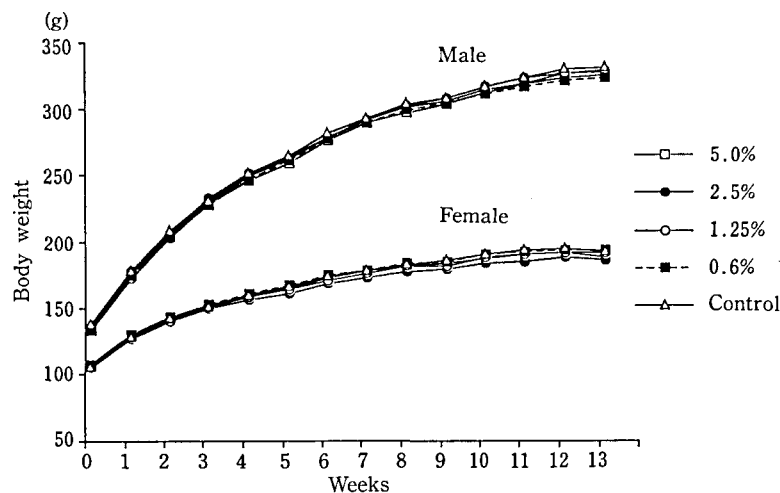


Fig. 1. Growth curves of F344 rats treated with gardenia blue for 13 weeks

Table 1. Body weight, food intake and total chemical intake in rats fed diet containing gardenia blue for 13 weeks

| | Group | Final body weight (g) | Food intake (g / rat / day) | Total chemical intake (g / rat / 13wk) |
|--------|---------|-----------------------|-----------------------------|--|
| Male | 5.0% | 312.2±14.80 | 15.86 | 72.15 |
| | 2.5% | 314.3±10.66 | 16.21 | 36.89 |
| | 1.25% | 312.9±8.77 | 15.76 | 17.93 |
| | 0.6% | 307.9±12.96 | 16.03 | 8.75 |
| | Control | 314.0±10.04 | 16.15 | — |
| Female | 5.0% | 176.5±7.89 | 10.69 | 48.62 |
| | 2.5% | 172.4±10.07 | 10.58 | 24.07 |
| | 1.25% | 178.5±6.63 | 10.68 | 12.15 |
| | 0.6% | 179.9±8.37 | 11.03 | 6.02 |
| | Control | 179.3±9.62 | 10.96 | — |

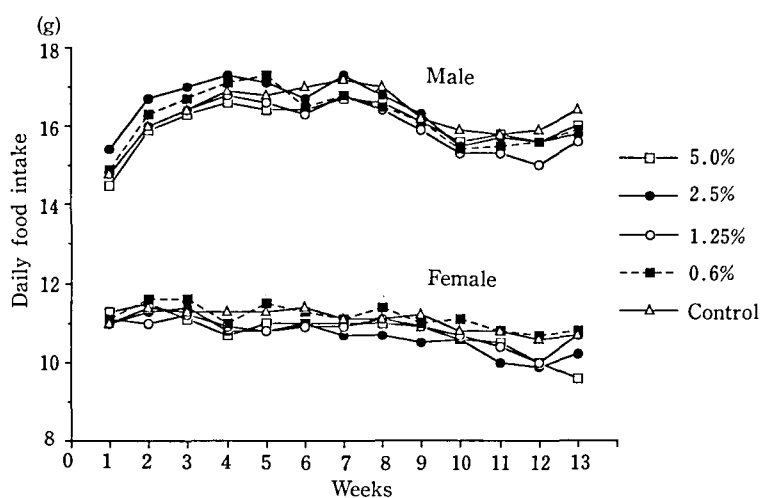


Fig. 2. Sequential changes of daily food intakes in F344 rats treated with gardenia blue for 13 weeks

3. 摂餌量および被験物質摂取量

雌雄各群の最終体重、摂餌量および被験物質摂取量を Table 1 に、摂餌量の推移を Fig. 2 に示した。雄の 1.25% 投与群および雌の 5.0% 投与群では 11 週目から摂餌量の減少傾向がみられたが、体重増加抑制は認められなかった。その他の雌雄各群ともに試験期間を通して対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一匹一日当たりの平均摂餌量については、雌雄とも対照群と被験物質投与群との間に大きな差はみられず、被験物質であるクチナシ青色素の摂取量も被験物質の用量段階にほぼ関連した (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、雄では白血球およびヘマトクリット値の上昇が 0.6% 投与群で、総コレステロールの上昇が 5% 投与群で、無機リンの減少が 5.0% 投与群で、上昇が 1.25% 投与群で、GOT 値の上昇が 5% および 2.5% 投与群で、減少が 0.6% 投与群で、

GPT 値の上昇が 5.0%、2.5% および 0.6% 投与群で、ALP 値の上昇が 2.5% および 0.6% 投与群で、 γ -GTP 値の減少が 1.25% 投与群で有意に認められた。しかし、投与用量に相関した変化は特に認められなかった。一方、雌では PLT 値の減少が投与群全群で、GOT 値と GPT 値の上昇が 5.0% および 2.5% 投与群で、PLT 値の減少がクチナシ青色素を投与したすべての群で有意に認められた。

この他、白血球の型別分類の結果、雌雄とも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. 臓器重量

相対重量において、雄では 1.25% 投与群の肺 (左)、2.5% 投与群の腎臓 (右) で有意な減少、0.6% 投与群の肺 (右) で有意な増加が認められた (Table 4)。雌では 2.5% 投与群の脳および腎臓で有意な増加、5% 投与群の肝臓および副腎 (右) で有意な減少が認められた (Table 5)。その他の臓器の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。

Table 2. Hematological and serum biochemical data of male rats treated with gardenia blue for 13 weeks

| Item | Dose level | | | | |
|-----------------------------------|---------------------|----------------------|--------------------|---------------------|-------------------|
| | 5.0% | 2.5% | 1.25% | 0.6% | 0% (Control) |
| Hematology | | | | | |
| WBC ($\times 10^2/\mu\text{l}$) | 36.5 \pm 4.93 | 33.6 \pm 3.17 | 34.4 \pm 5.42 | 38.3 \pm 6.02 * | 33.1 \pm 3.28 |
| RBC ($\times 10^4/\mu\text{l}$) | 934.9 \pm 40.75 | 938.4 \pm 41.62 | 916.9 \pm 21.38 | 941.2 \pm 38.08 | 917.5 \pm 19.33 |
| Hb (g/dl) | 15.54 \pm 0.61 | 15.54 \pm 0.63 | 15.23 \pm 0.34 | 15.67 \pm 0.38 | 15.30 \pm 0.33 |
| Ht (%) | 45.20 \pm 1.99 | 45.21 \pm 1.94 | 44.29 \pm 1.10 | 45.81 \pm 1.53 ** | 43.96 \pm 1.00 |
| MCV (fl) | 48.36 \pm 0.23 | 48.16 \pm 0.55 | 48.32 \pm 0.50 | 48.68 \pm 0.70 | 47.91 \pm 0.27 |
| MCH (pg) | 16.63 \pm 0.27 | 16.57 \pm 0.13 | 16.61 \pm 0.21 | 16.67 \pm 0.39 | 16.68 \pm 0.18 |
| MCHC (g/dl) | 34.38 \pm 0.66 | 34.39 \pm 0.43 | 34.4 \pm 0.66 | 34.22 \pm 0.57 | 34.80 \pm 0.38 |
| PLT ($\times 10^4/\mu\text{l}$) | 77.22 \pm 3.22 | 77.30 \pm 2.44 | 77.08 \pm 1.72 | 77.95 \pm 3.40 | 76.30 \pm 0.404 |
| Serum biochemistry | | | | | |
| Tp (g/dl) | 6.46 \pm 0.05 | 6.52 \pm 0.32 | 6.34 \pm 0.11 | 6.4 \pm 0.003 | 6.44 \pm 3.23 |
| A/G | 2.88 \pm 0.11 | 2.88 \pm 0.25 | 2.88 \pm 0.31 | 3.24 \pm 0.33 | 2.88 \pm 0.13 |
| Alb (g/dl) | 4.8 \pm 0.002 | 4.84 \pm 0.21 | 4.7 \pm 0.19 | 4.88 \pm 0.11 | 4.78 \pm 0.08 |
| T. Cho (mg/dl) | 68 \pm 2.55 ** | 65.4 \pm 3.57 | 62.2 \pm 3.11 | 63.4 \pm 4.67 | 61.8 \pm 3.03 |
| BUN (mg/dl) | 18.28 \pm 1.90 | 21.9 \pm 2.01 * | 17.86 \pm 0.90 | 20.62 \pm 0.59 | 18.46 \pm 2.30 |
| CRN (mg/dl) | 0.58 \pm 0.04 | 0.64 \pm 0.05 | 0.56 \pm 0.05 | 0.56 \pm 0.05 | 0.60 \pm 0 |
| Na (mEQ/dl) | 142.4 \pm 0.88 | 145.2 \pm 1.64 | 144.4 \pm 1.13 | 144.8 \pm 0.84 | 143.8 \pm 0.83 |
| Cl (mEQ/dl) | 104 \pm 1.00 | 105.4 \pm 1.34 | 106.6 \pm 0.54 | 105.4 \pm 2.51 | 105 \pm 0.70 |
| K (mEQ/dl) | 4.34 \pm 0.23 | 4.82 \pm 1.11 | 4.32 \pm 0.46 | 4.24 \pm 0.21 | 4.36 \pm 0.09 |
| Ca (mg/dl) | 10.04 \pm 0.13 | 10.5 \pm 0.57 | 10.3 \pm 0.12 | 10.54 \pm 0.22 | 10.24 \pm 0.11 |
| P (mg/dl) | 5.22 \pm 0.04 *** | 6.36 \pm 0.98 | 6.22 \pm 0.20 ** | 6.14 \pm 0.47 | 5.72 \pm 0.13 |
| GOT (IU/l) | 120.6 \pm 9.04 ** | 107.2 \pm 4.21 * | 90.8 \pm 10.43 | 80.4 \pm 2.88 *** | 97.4 \pm 5.27 |
| GPT (IU/l) | 59.4 \pm 3.64 * | 61.4 \pm 2.61 ** | 53.2 \pm 2.95 | 59 \pm 3.08 * | 53.4 \pm 4.04 |
| ALP (IU/l) | 248.2 \pm 13.18 | 277.4 \pm 21.71 ** | 245 \pm 5.48 | 252.6 \pm 12.93 * | 235.4 \pm 8.21 |
| γ -GTP (IU/l) | 1.2 \pm 0.45 | 1.2 \pm 1.30 | 0.4 \pm 0.55 ** | 1.6 \pm 1.34 | 1.8 \pm 1.45 |
| Cho-E (IU/l) | 2.6 \pm 2.30 | 6.6 \pm 5.41 | 2.6 \pm 1.95 | 4.8 \pm 2.05 * | 1.4 \pm 2.07 |

Data represent mean values \pm S.D.*, **, ***: Significantly different from the control at $p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively

6. 病理組織学的検索結果

病理組織学的検索の結果、雄では対照群を含めて各群とも3~6匹の動物に肝中心静脈周辺に泡沫状の空胞変性細胞がみられ、同様に雌では1~3匹の動物に空胞変性がみられた。しかし、その程度はクチナシ青色素の投与用量に相関しなかった。また、肝細胞の小壊死巣が雄の5.0, 2.5, 0.6%投与群および対照群の動物各1匹に、雌の0.6%投与群の1匹に認められた。その他、雄の心臓における心筋炎が各群それぞれ5~7匹の動物にみられた。雌の腎臓に鉍質沈着が各群それぞれ8~10匹にみられた。以上のほかには、雌雄ともにクチナシ青色素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 ラットを用いてクチナシ青色素の混餌投与による13週間の亜慢性毒性試験を実施した。その結果、雌雄各群ともに平均体重から動物は順調に成育し、試験期間を通じ外見上、皮膚、体毛などに異常は認められず、被験物質の影響を受けていないことを示しているものと考えられた。

血液学的に、雌の投与群に PLT 値の有意な減少がみられたが、生物学的に正常値範囲であり、また病理組織学的

にも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ともに2.5%以上の投与群では GOT, GPT 値の有意な上昇がみられたが、雄の0.6%投与群では有意な GOT 値の減少, GPT 値の上昇がみられた。本試験での GOT および GPT 値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、雄の2.5%と1.25%投与群では ALP 値の上昇がみられたが軽度な変動であり、更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。

剖検における肉眼的観察では、消化管および各臓器とも正常で、クチナシ青色素による沈着はいずれの臓器にもなく、対照群との間に差は認められなかった。クチナシ青色素は、高分子構造を持つものであることが推定されていることから経口摂取された場合には胃、小腸および大腸においてはほとんど吸収されにくいものと思われる。実際、同じく高分子で吸収されない食用着色料や抗酸化剤について報告されている^{4,5)}。

病理組織学的検索の結果、認められた雄の心筋炎および雌の腎臓の鉍質沈着はいずれも対照群にも発生し、クチナ

Table 3. Hematological and serum biochemical data of female rats treated with gardenia blue for 13 weeks

| Item | Dose level | | | | |
|-----------------------------|----------------------|---------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| | 5.0% | 2.5% | 1.25% | 0.6% | 0% (Control) |
| Hematology | | | | | |
| WBC ($\times 10^2/\mu l$) | 30.3 \pm 5.12 | 31.2 \pm 6.01 | 31.3 \pm 5.58 | 29.9 \pm 4.61 | 29.3 \pm 4.72 |
| RBC ($\times 10^4/\mu l$) | 853.7 \pm 27.07 * | 854.4 \pm 35.59 | 869.3 \pm 23.35 | 875.6 \pm 13.48 | 878 \pm 23.49 |
| Hb (g/dl) | 15.37 \pm 0.52 | 15.67 \pm 0.66 | 15.86 \pm 0.35 | 15.86 \pm 0.27 | 15.65 \pm 0.67 |
| Ht (%) | 42.97 \pm 1.31 | 43.23 \pm 1.76 | 43.93 \pm 1.29 | 44.39 \pm 0.74 | 44.16 \pm 1.53 |
| MCV (fl) | 50.34 \pm 0.27 | 50.57 \pm 0.26 | 50.43 \pm 0.36 | 50.7 \pm 0.35 | 50.28 \pm 0.84 |
| MCH (pg) | 17.99 \pm 0.20 | 18.05 \pm 0.90 | 18.26 \pm 0.24 * | 18.11 \pm 0.26 | 17.81 \pm 0.51 |
| MCHC (g/dl) | 35.77 \pm 0.34 | 36.26 \pm 0.37 ** | 36.11 \pm 0.42 * | 35.74 \pm 0.69 | 35.44 \pm 0.70 |
| PLT ($\times 10^4/\mu l$) | 77.01 \pm 6.00 ** | 80.48 \pm 4.27 ** | 81.84 \pm 4.93 * | 83.27 \pm 3.29 * | 98.4 \pm 15.87 |
| Serum biochemistry | | | | | |
| TP (g/dl) | 6.14 \pm 0.21 | 6.32 \pm 0.11 | 6.3 \pm 0.10 | 6.34 \pm 0.55 | 6.2 \pm 0.23 |
| A/G | 3.44 \pm 0.51 | 3.66 \pm 0.41 | 3.32 \pm 0.26 | 3.64 \pm 0.49 | 3.54 \pm 0.48 |
| Alb (g/dl) | 4.74 \pm 0.31 | 4.96 \pm 0.89 | 4.84 \pm 0.11 | 4.96 \pm 0.13 | 4.82 \pm 0.16 |
| T. Cho (mg/dl) | 94.4 \pm 4.51 | 96.4 \pm 4.88 | 95.6 \pm 4.80 | 98.2 \pm 5.68 | 96.6 \pm 12.18 |
| BUN (mg/dl) | 16.82 \pm 2.68 | 19.7 \pm 2.22 | 16.88 \pm 2.86 | 18.46 \pm 1.40 | 16.0 \pm 1.30 |
| CRN (mg/dl) | 0.48 \pm 0.04 | 0.54 \pm 0.09 | 0.52 \pm 0.04 | 0.54 \pm 0.05 | 0.60 \pm 0 |
| Na (mEQ/dl) | 143.6 \pm 1.34 | 143.6 \pm 1.82 | 143.8 \pm 0.43 * | 145.4 \pm 2.07 * | 142.8 \pm 0.83 |
| Cl (mEQ/dl) | 106.8 \pm 1.31 | 106.4 \pm 0.89 | 107 \pm 1.01 | 105.6 \pm 1.95 | 106.2 \pm 1.48 |
| K (mEQ/dl) | 4.24 \pm 0.11 | 4.4 \pm 0.27 | 4.08 \pm 0.27 | 4.08 \pm 0.23 | 4.06 \pm 0.33 |
| Ca (mg/dl) | 9.84 \pm 0.15 ** | 10.2 \pm 0.23 | 10.24 \pm 0.19 | 10.34 \pm 0.25 | 10.14 \pm 0.11 |
| P (mg/dl) | 4.74 \pm 0.30 * | 5.82 \pm 0.64 | 5.26 \pm 0.30 | 5.7 \pm 0.56 | 5.28 \pm 0.40 |
| GOT (IU/l) | 104.4 \pm 6.11 *** | 94.4 \pm 4.39 ** | 86 \pm 7.91 | 84.8 \pm 6.26 | 83.6 \pm 3.05 |
| GPT (IU/l) | 46 \pm 4.18 ** | 45 \pm 6.04 * | 42.2 \pm 4.92 | 44 \pm 5.70 | 37.6 \pm 3.36 |
| ALP (IU/l) | 155 \pm 20.09 | 191.4 \pm 20.18 | 189.6 \pm 18.12 | 186.6 \pm 8.44 | 171.6 \pm 13.33 |
| γ -GTP (IU/l) | 2 \pm 1.41 | 1.2 \pm 0.84 | 1.2 \pm 0.84 | 1.4 \pm 1.14 | 1.4 \pm 1.67 |
| Cho-E (IU/l) | 6.6 \pm 2.07 | 8.2 \pm 2.68 | 5.4 \pm 1.52 | 6.6 \pm 3.13 | 6.6 \pm 0.89 |

Data represent mean values \pm S.D.*, **, ***: Significantly different from the control at $p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively

Table 4. Absolute and relative organ weights of male rats treated with gardenia blue for 13 weeks

| Organs | Dose level | | | | |
|----------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | 5.0% | 2.5% | 1.25% | 0.6% | 0% (Control) |
| Body weight | 310.2 \pm 14.80 | 314.3 \pm 10.66 | 312.9 \pm 8.770 | 307.9 \pm 12.96 | 314.0 \pm 10.04 |
| Brain | 1.977 \pm 0.043 (0.64) | 1.969 \pm 0.028 (0.63) | 1.963 \pm 0.045 (0.63) | 1.951 \pm 0.039 (0.63) | 1.963 \pm 0.055 (0.63) |
| Thymus | 0.224 \pm 0.062 (0.07) | 0.180 \pm 0.036 (0.06) | 0.197 \pm 0.045 (0.06) | 0.201 \pm 0.097 (0.07) | 0.199 \pm 0.046 (0.06) |
| Lung (R) | 0.669 \pm 0.051 (0.22) | 0.690 \pm 0.062 (0.22) | 0.637 \pm 0.053 (0.20) | 0.688 \pm 0.043 (0.22*) | 0.658 \pm 0.031 (0.21) |
| Lung (L) | 0.346 \pm 0.018 (0.11) | 0.361 \pm 0.033 (0.12) | 0.334 \pm 0.013 (0.10*) | 0.347 \pm 0.020 (0.11) | 0.351 \pm 0.021 (0.11) |
| Heart | 0.907 \pm 0.045 (0.29) | 0.919 \pm 0.048 (0.29) | 0.949 \pm 0.065 (0.30) | 0.930 \pm 0.061 (0.30) | 0.918 \pm 0.045 (0.29) |
| Spleen | 0.637 \pm 0.041 (0.21) | 0.644 \pm 0.045 (0.21) | 0.638 \pm 0.039 (0.20) | 0.661 \pm 0.034 (0.22) | 0.657 \pm 0.029 (0.21) |
| Liver | 7.523 \pm 0.430 (2.43) | 7.812 \pm 0.693 (2.49) | 7.400 \pm 0.243 (2.37) | 7.680 \pm 0.276 (2.50) | 7.559 \pm 0.396 (2.41) |
| Adrenal g. (R) | 0.018 \pm 0.003 (0.0059) | 0.019 \pm 0.001 (0.0062) | 0.018 \pm 0.001 (0.0057) | 0.019 \pm 0.003 (0.0061) | 0.018 \pm 0.002 (0.0059) |
| Adrenal g. (L) | 0.020 \pm 0.004 (0.0063) | 0.022 \pm 0.003 (0.0070) | 0.020 \pm 0.001 (0.0065) | 0.022 \pm 0.004 (0.0071) | 0.021 \pm 0.003 (0.0066) |
| Kidney (R) | 0.877 \pm 0.037 (0.28) | 0.874 \pm 0.052 (0.28) | 0.883 \pm 0.028 (0.28) | 0.881 \pm 0.050 (0.29) | 0.916 \pm 0.061 (0.29) |
| Kidney (L) | 0.897 \pm 0.034 (0.29) | 0.906 \pm 0.056 (0.29) | 0.942 \pm 0.025 (0.30) | 0.921 \pm 0.053 (0.30) | 0.932 \pm 0.054 (0.30) |
| Testis (R) | 1.446 \pm 0.067 (0.47) | 1.477 \pm 0.137 (0.47) | 1.492 \pm 0.046 (0.47) | 1.480 \pm 0.076 (0.48) | 1.479 \pm 0.062 (0.47) |
| Testis (L) | 1.482 \pm 0.033 (0.48) | 1.513 \pm 0.075 (0.48) | 1.504 \pm 0.069 (0.48) | 1.528 \pm 0.069 (0.50) | 1.512 \pm 0.046 (0.48) |

Data represent mean values (g) \pm S.D.

Relative organ weights are shown in parentheses (%)

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

Table 5. Absolute and relative organ weights of F344 female rats treated with gardenia blue for 13 weeks

| Organs | Dose level | | | | |
|----------------|----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | 5.0% | 2.5% | 1.25% | 0.6% | 0% (Control) |
| Body weight | 176.5±7.89 | 172.4±10.07 | 178.5±6.63 | 179.9±8.37 | 179.3±9.62 |
| Brain | 1.802±0.043 (1.02) | 1.821±0.031 (1.06) | 1.816±0.054 (1.01) | 1.877±0.147 (1.04) | 1.794±0.025 (1.00) |
| Thymus | 0.167±0.027 (0.10) | 0.171±0.037 (0.10) | 0.174±0.026 (0.10) | 0.184±0.027 (0.10) | 0.170±0.022 (0.09) |
| Lung (R) | 0.451±0.034 (0.26) | 0.479±0.034 (0.28) | 0.457±0.030 (0.26) | 0.493±0.040 (0.27) | 0.478±0.048 (0.27) |
| Lung (L) | 0.250±0.016 (0.14) | 0.237±0.034 (0.14) | 0.256±0.017 (0.14) | 0.272±0.041 (0.15) | 0.255±0.014 (0.14) |
| Heart | 0.582±0.042 (0.33) | 0.582±0.043 (0.34) | 0.602±0.031 (0.34) | 0.609±0.038 (0.34) | 0.590±0.046 (0.33) |
| Spleen | 0.370±0.025 (0.21) | 0.369±0.022 (0.21) | 0.372±0.021 (0.21) | 0.395±0.021 (0.22) | 0.449±0.217 (0.25) |
| Liver | 3.703±0.220 (2.10*) | 3.897±0.225 (2.26) | 3.941±0.210 (2.21) | 4.058±0.136 (2.26) | 4.065±0.404 (2.27) |
| Adrenal g. (R) | 0.019±0.002 (0.011*) | 0.021±0.003 (0.012) | 0.020±0.003 (0.011) | 0.023±0.002 (0.013) | 0.022±0.002 (0.012) |
| Adrenal g. (L) | 0.022±0.002 (0.012) | 0.021±0.004 (0.012) | 0.022±0.003 (0.013) | 0.023±0.003 (0.013) | 0.023±0.003 (0.013) |
| Kidney (R) | 0.559±0.028 (0.32) | 0.554±0.053 (0.32*) | 0.539±0.031 (0.30) | 0.546±0.025 (0.30) | 0.541±0.037 (0.30) |
| Kidney (L) | 0.579±0.026 (0.33) | 0.552±0.042 (0.32) | 0.565±0.032 (0.32) | 0.558±0.033 (0.31) | 0.568±0.034 (0.32) |

Data represent mean values (g)±S.D.

Relative organ weights are shown in parentheses (%)

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

シ青色素の投与用量との間に明らかな相関性が認められなかったこと、また F344 ラットでの自然発生が知られている病変であることから、偶発的な病変であると考えられた⁶⁾。

以上、いずれの投与群においても体重増加抑制および中途死亡例が無く、組織学的に明らかな毒性所見も認められなかったことから、ラットでの混餌投与によるクチナシ青色素の毒性は極めて低いものと考えられた。

文 献

1) Inouye, H., Saito S., Taguchi, H., and Endo, T.: Zwei neue Iridoidglucoside aus *Gardenia Jasminoides*: Gardenosid und Geniposid. *Tetrahedron Letters*, **28**, 2347~2350 (1969)

2) 吉積智司, 奥山秀俊, 遠山良介: クチナシ酵素処理天然色素の理化学的性質とその安全性について. *食品工業*, **23**, 41~67 (1980)

3) 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)

4) Furia, T. E., and Bellanca, N.: The properties and performance of poly AOTM-79; a nonabsorbable, polymeric antioxidant intended for use in foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **54**(6), 239~244 (1977)

5) Furia, T. E.: Nonabsorbable, polymeric food colors. *Food Technol.*, **31**(5), 34~38 (1977)

6) Boorman, G. A., Eustis, S. L., Elwell, M. R., Montgomery, C. A., Jr. and Mackenzie, W. F. (eds): "*Pathology of the Fischer rat, Reference and Atlas*" Academic Press, San Diego (1990)

ラット肝および肺の腫瘍発生に対する抗甲状腺物質の修飾作用

竹川 潔・三森 国敏・小野寺博志・下 武男
高橋 正一*・安原加壽雄・高橋 道人

Modifying Effects of Goitrogens on the Tumor Development in the Liver and Lung of Rats

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

In order to investigate whether goitrogens and liver enzyme-inducers modify the tumorigenesis in the liver or lung, 6-week old male F344 rats were given single subcutaneous injection of DHPN, and starting one week later received water containing goitrogens, namely sulfadimethoxine (SDM), propylthiouracil (PTU) and potassium thiocyanate (KSCN), or an enzyme-inducer, phenobarbital (PB), for 19 weeks ad libitum. Although the number of GST-P positive foci in the liver was significantly increased in the PB group as compared to the control group, there were no significant fluctuations in the SDM, PTU and PB groups. With respect to the lung, it is suggested that SDM, KSCN and PB may enhance the lung tumorigenesis, since the multiplicities of hyperplasias of alveolar epithelia were increased in groups treated with these compounds.

Keywords : lung tumorigenesis, promotion, goitrogen, F344/DuCrj rat

(Received May 31, 1996)

はじめに

甲状腺の機能を抑制する各種の抗甲状腺物質や肝臓の薬物代謝酵素を誘導する物質が、甲状腺の濾胞上皮由来の腫瘍を誘発することが知られている。甲状腺を標的の一つとする *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN) でイニシエーション処置したラットに、これらの物質を投与する短期の二段階発癌実験においては、甲状腺に濾胞上皮由来の過形成や腫瘍等の増殖性病変が誘発される¹⁻¹¹⁾。これらの物質は、甲状腺ホルモンの合成を抑制するからあるいはそれらのホルモンの代謝・排泄を増強することにより、血中の甲状腺ホルモンレベルを低下させ、その結果ネガティブフィードバックによって血中 TSH が上昇してその増殖刺激により甲状腺濾胞由来の増殖性病変の発生が増強されると考えられている¹²⁻¹⁵⁾。DHPN はラットに皮下投与した場合、甲状腺の他、肝臓および肺を標的とする^{16,17)}、肝臓においては、その腫瘍発生が薬物代謝酵素誘導物質により増強されることが報告されている^{18,19)}。しかし、甲状腺ホルモンの合成を抑制する抗甲状腺物質が肝臓の腫瘍発生に影響を与えるのかどうか、またやはり DHPN の標的臓器であるラットの肺の腫瘍発生に対して抗甲状腺物質や

薬物代謝酵素誘導物質が影響を与えるか否かについては検討されていない。今回われわれは、DHPN でイニシエーション処置したラットに、3種の抗甲状腺物質すなわち sulfadimethoxine (SDM), propylthiouracil (PTU) および potassium thiocyanate (KSCN) ならびに薬物代謝酵素誘導物質の phenobarbital (PB) を投与して、肝臓および肺の腫瘍発生に対する修飾作用の有無を検討した。

実験材料および方法

4週齢の雄性 F344 ラットを日本チャールス・リバー(株) (厚木) から入手し、床敷を敷いたプラスチックケージに5匹ずつ収容して、温度 23±2℃、湿度 60±5%、12時間明暗周期の動物室で飼育した。2週間馴化した後、異常のみられなかった25匹の動物を実験に用いた。飼料として粉末飼料 CRF-1 (オリエンタル酵母工業(株), 東京) を自由に摂取させた。飲料水としては馴化期間中には水道水をあたえ、実験開始後は下に記すとおり飲水投与を行った。DHPN および KSCN をナカライテスク (京都) から、SDM を Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A) から、PTU を和光純薬工業(株) (大阪) から、PB を岩城製薬(株) (東京) から入手した。

馴化終了後、25匹のラットに DHPN を 2800 mg/kg の用量で単回皮下投与した。その1週間後に各群5匹からな

* 佐々木研究所 病理部

る5群に分け、19週間にわたりSDM, PTU, KSCNおよびPBをそれぞれ0.1%, 0.1%, 0.5%および0.05%の濃度で蒸留水に溶解し飲料水として自由に摂取させた。対照群には蒸留水を19週間与えた。DHPNの投与量はこれまでの実験結果からイニシエーション作用を示し、かつ動物を死亡させない量として選択した。SDM, PTU, KSCNおよびPBについては、先に行った実験において甲状腺ろ胞上皮由来の増殖性病変を誘発した量を選択した。

投与期間終了後、動物にエーテル麻酔を施し、腹大動脈から採血して血清試料を採取し、血清中の甲状腺ホルモンT3およびT4ならびにTSH値を測定した。T3およびT4はT3-DainapackおよびT4-Dainapack (Abbot Laboratories, U.S.A)を用いMicroparticle Enzyme ImmunoassayおよびFluorescence Polarization Immunoassayでそれぞれ測定した。TSHはDr. A. F. Parlow (Pituitary and Antisera Center, Harbor-UCLA Medical Center, U.S.A.)より供与されたNIADDK radioimmunoassay kitを用いて測定した。採血後放血致死させた動物を解剖し、肝臓重量を測定した。肝臓および肺を10%中性緩衝ホルマリンで固定し、パラフィン包埋して4~5 μ mの厚さに薄切し、HE染色を施して病理組織学的に検査した。肺については、切片中に認められた増殖性病変の個数を光学顕微鏡下で計数し、肺切片の面積を画像解析装置IPAP (住化テクノス, 兵庫)で計測して、単位面積あたりの増殖性病変の個数を算出した。肝臓については、胎盤型グルタチオンS-トランスフェラーゼ (GST-P) について免疫染色を行った。抗GST-Pポリクローナル抗体 (MBL, 名古屋)を一次抗体として用い、streptavidin biotin complex (DAKO, Glostrup, Denmark)を用い、3,3'-diaminobenzidine (DAB)で発色し、カウンター染色としてヘマトキシリンで核染色した。肝臓切片中のGST-P陽性巣の個数を光学顕微鏡下で計数し、肝臓切片の面積を画像解析装置IPAPで測定して、単位面積あたりのGST-P陽性巣の個数を算出した。

血清中の甲状腺ホルモン値およびTSH値、最終体重、肝臓重量、肺の単位面積あたりの増殖性病変の個数および肝臓の単位面積あたりのGST-P陽性巣の個数について、各群毎に平均値および標準偏差を求め、対照群との差をStudentのt検定で検定した。肺の増殖性病変の発生率については対照群と各投与群との差をFisherの直接確立法で検定した。

結 果

血清中のT3値はKSCN群を除く各投与群で、T4値は全投与群で対照群に比べて有意に低下した。TSH値はPTU群で対照群に比し有意な高値を示したが、SDM群では差がなく、KSCNおよびPB群では逆に低値を示し

Table 1. Serum levels of thyroid hormones and TSH in rats treated with goitrogens for 19 weeks after DHPN initiation

| Treatment after DHPN initiation | No. of animals | Serum levels (ng/ml) | | |
|---------------------------------|----------------|----------------------|-----------|--------------|
| | | T3 | T4 | TSH |
| 0.1%SDM | 4 | 0.39±0.05* | 25.9±1.8* | 54.98±34.26 |
| 0.1%PTU | 5 | 0.21±0.07* | 9.7±1.2* | 108.10±9.91* |
| 0.5%KSCN | 5 | 0.56±0.04 | 33.0±1.2* | 8.74±1.92* |
| 0.05%PB | 5 | 0.43±0.08* | 40.4±2.5* | 8.60±2.18* |
| Control | 5 | 0.66±0.10 | 46.5±1.7 | 13.5±1.8 |

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

Table 2. Body weights and liver weights of rats given goitrogens for 19 weeks after DHPN initiation

| Treatment after DHPN initiation | No. of animals | Body weight (g) | Liver weight | |
|---------------------------------|----------------|-----------------|---------------|---------------------|
| | | | Absolute (g) | Relative (g/100 BW) |
| 0.1%SDM | 4 | 293±33* | 7.038±1.186* | 2.4±0.2* |
| 0.1%PTU | 5 | 131±6* | 3.342±0.245* | 2.5±0.2* |
| 0.5%KSCN | 5 | 320±11* | 8.255±0.495* | 2.6±0.1* |
| 0.05%PB | 5 | 353±10 | 12.364±0.455* | 3.5±0.1* |
| Control | 5 | 349±10 | 9.900±0.500 | 2.8±0.1 |

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

Table 3. Severity of centrilobular hepatocellular hypertrophy in rats treated with goitrogens for 19 weeks after DHPN initiation

| Treatment after DHPN initiation | No. of animals | Severity of hypertrophy |
|---------------------------------|----------------|-------------------------|
| 0.1%SDM | 4 | - |
| 0.1%PTU | 5 | - |
| 0.5%KSCN | 5 | + |
| 0.05%PB | 5 | ++ |
| Control | 5 | - |

+: Slight; ++: Marked; -: No abnormalities detected.

た (Table 1)。最終解剖時の体重はPB群を除くすべての投与群において対照群に比べて有意に低い値を示した。肝臓重量は絶対および相対重量ともに対照群に比べてSDM, PTUおよびKSCN群で有意に減少し、PB群で増加した (Table 2)。肝臓について病理組織学的に検索した結果、小葉中心性の肝細胞肥大がKSCN群で軽度に、PB群で顕著に認められた (Table 3)。肝臓の単位面積あたりのGST-P陽性巣の個数は対照群に比し、PB群で著

Table 4. Multiplicity of GST-P positive foci in the liver of rats treated with goitrogens for 19 weeks after DHPN initiation

| Treatment after DHPN initiation | No. of animals | No. of GST-P positive foci per square centimeter of the liver |
|---------------------------------|----------------|---|
| 0.1%SDM | 4 | 5.78±4.85 |
| 0.1%PTU | 5 | 1.58±1.20 |
| 0.5%KSCN | 5 | 4.00±1.58 |
| 0.05%PB | 5 | 41.44±4.40* |
| Control | 5 | 2.60±1.38 |

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

しく増加したが、SDM、PTUおよびKSCN群のいずれにおいても有意な差異はみられなかった (Table 4)。肺においては、肺胞上皮過形成がPTU群を除く各投与群および対照群で高率に発生したが、SDM、KSCNおよびPB群のいずれにおいても対照群の発生率との間に有意な差は認められなかった。PTU群の過形成の発生率は0%であり、対照群との間に有意差が認められた。気管支/肺胞上皮腺腫の発生率については対照群と各投与群との間に有意な差は認められなかった。単位面積あたりの過形成の発生個数がSDM、KSCNおよびPB群で有意に増加した。一方、PTU群では上述の通り過形成は発生しなかった。対照群に比べて腺腫の個数が増加した群はなかった (Table 5)。

考 察

今回DHPNでイニシエーション処置したラットにSDM、KSCNおよびPBを与えた群で、DHPN処置後無処置で飼育した対照群に比べて肺の単位面積あたりの過

形成の発生個数が増加した。すなわち、これらの物質が肺の増殖性病変の発生を増強しており、長期間にわたりこれらの物質をラットに与えた場合に肺腫瘍が発生する可能性が疑われた。肺の腫瘍発生に対する化合物による増強効果としては、いくつかの例が知られている。PCB類のAroclor 1254によりマウスにおいてdimethylnitrosamine誘発肺腫瘍が増加したとの報告がある^{20,21)}。また、脂質過酸化等の酸化的ストレスが実験動物の肺腫瘍の発生を増強したとの報告もある。すなわち、N¹-nitrosonicotine (NNN) または4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) 誘発ラット肺腫瘍の発生がエタノール投与により増強され、その際、肺組織中の脂質過酸化が認められたと報告されている²²⁾。また、酸化的ストレスを惹起するオゾンによってマウスの肺腫瘍の発生が増加し²³⁾、二酸化窒素によってラット肺組織の脂質過酸化が増強されるとともに²⁴⁻²⁶⁾、ラットのDHPN誘発肺腫瘍が増強されたとの報告もある²⁷⁾。更に、肺組織における薬物代謝酵素の誘導と腫瘍プロモーションとの関連も疑われている。P4501Aを誘導することが知られている2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) がdimethylnitrosamine誘発マウス肺腫瘍の発生を増強したほか²⁸⁾、P4501A誘導に関与するAhレセプターのアゴニストである2,2',3,4,4',5'-hexachloro biphenylがマウス肺腫瘍のプロモーターであるとの報告がある²⁹⁾。今回認められた肺の増殖性病変の増強の原因としても上述のようないくつかの可能性が考えられるが、今回の実験ではそれらについて検討していないため、そのメカニズムを明らかにできなかった。その他、甲状腺ホルモンの有する組織の成長作用によって腫瘍プロモーション作用が発現する可能性も疑われる。しかし、今回いずれの投与群においても対照群に比べて血清中の甲状腺ホルモンレベルが低かったことから、その可能性はほとんどないものと考えられた。

今回の実験では、DHPNのもう一つの標的臓器である

Table 5. Incidence and multiplicity of proliferative lesions in the lung of rats treated with goitrogens for 19 weeks after DHPN initiation

| Treatment after DHPN initiation | No. of animals | Incidence of lesions(%) | | No. of lesions per square centimeter of the lung | |
|---------------------------------|----------------|------------------------------------|-------------------------------|--|-------------------------------|
| | | Hyperplasia of alveolar epithelium | Alveolar/ bronchiolar adenoma | Hyperplasia of alveolar epithelium | Alveolar/ bronchiolar adenoma |
| 0.1%SDM | 4 | 100 | 0 | 3.31±0.92* | 0 |
| 0.1%PTU | 5 | 0* | 0 | 0 | 0 |
| 0.5%KSCN | 5 | 100 | 60 | 3.25±0.35** | 0.92±1.30 |
| 0.05%PB | 5 | 100 | 20 | 4.42±1.85** | 0.14±0.30 |
| Control | 5 | 80 | 40 | 1.19±0.98 | 0.38±0.55 |

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

肝臓については対照群に比べてPB群で単位面積あたりのGST-P陽性巣の個数が増加したが、3種の抗甲状腺物質のいずれにおいてもGST-P陽性巣の増加は認められなかった。PBは肝臓の腫瘍プロモーションの指標とされているGST-P陽性巣を増加させることが知られており^{18,19)}、今回の結果もそれと一致している。肝臓のHE標本の組織学的検査の結果、PB群のほかにKSCN群でも軽度ながら小葉中心性の肝細胞の肥大が認められ、KSCN群でも薬物代謝酵素が誘導される可能性が示唆された。肝臓の薬物代謝酵素を誘導する化合物は肝腫瘍プロモーション作用を有する可能性があるが、KSCN群ではGST-P陽性巣の増加は認められず、KSCNが肝腫瘍プロモーション作用を有する可能性は低いものと推察された。

PTU群では肺の増殖性病変の発生がまったく認められず、かつ肝臓のGST-P陽性巣の個数も対照群に比べて少なかったが、同群では体重が著しく低値を示していたことから、これらの変動は動物の生長抑制に起因する可能性が強いと考えられた。

以上の成績より、SDM、KSCNやPBは、甲状腺プロモーション作用の他に、肺腫瘍プロモーション作用も有することが示唆された。

文 献

- Hiasa, Y., Kitahori, Y., Enoki, N., Konishi, N. and Shimoyama, T.: 4,4'-Diaminodiphenylmethane: promoting effects on the development of thyroid tumors in rats treated with *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine. *J. Natl. Cancer Inst.*, **72**, 471~476 (1984)
- Hiasa, Y., Kitahori, Y., Kato, Y., Ohshima, M., Konishi, N. and Murata, Y.: Potassium perchlorate, potassium iodide, and propylthiouracil: promoting effect on the development of thyroid tumors in rats treated with *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine. *Jpn. J. Cancer Res.*, **78**, 1335~1340 (1987)
- Hiasa, Y., Kitahori, Y., Konishi, N. and Ohshima, M.: Chemical carcinogenesis in the thyroid gland. *Toxicol. Lett.*, **64/65**, 389~395 (1992)
- Hiasa, Y., Ohshima, M., Kitahori, Y., Yuasa, T., Fujita, T. and Iwata, C.: Promoting effects of 3-amino-1,2,4-triazole on the development of thyroid tumors in rats treated with *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine. *Carcinogenesis*, **3**, 381~384 (1982)
- Kanno, J., Matsuoka, C., Furuta, K., Onodera, H., Miyajima, H., Maekawa, A. and Hayashi, Y.: Tumor promoting effect of goitrogens in the rat thyroid. *Toxicol. Pathol.*, **18**, 239~246 (1990)
- Kanno, J., Onodera, H., Furuta, K., Maekawa, A., Kasuga, T. and Hayashi, Y.: Tumor-promoting effect of both iodine deficiency and iodine excess in the rat thyroid. *Toxicol. Pathol.*, **20**, 226~235 (1992)
- Kitahori, Y., Hiasa, Y., Konishi, N., Enoki, N., Shimoyama, T. and Miyashiro, A.: Effect of propylthiourea on the thyroid tumorigenesis induced by *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine in rats. *Carcinogenesis*, **5**, 657~660 (1984)
- Kitahori, Y., Ohshima, M., Matsuki, H., Konishi, N., Hashimoto, H., Minami, S., Thamavit, W. and Hiasa, Y.: Promoting effect of 2,4-diaminoanisole sulfate on rat thyroid carcinogenesis. *Cancer Lett.*, **45**, 115~121 (1989)
- Mitsumori, K., Onodera, H., Shimo, T., Takahashi, M., Yasuhara, K., Kitaura, K., Takahashi, M. and Hayashi, Y.: Effect of thyroid stimulating hormone on the development and progression of rat thyroid follicular cell tumors. *Cancer Lett.*, **92**, 193~202 (1995)
- Onodera, H., Mitsumori, K., Takahashi, M., 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 increases in serum TSH. *J. Toxicol. Sci.*, **19**, 227~234 (1994)
- Shimo, T., Mitsumori, K., Onodera, H., Yasuhara, K., Takahashi, M., Takahashi, M., Ueno, Y. and Hayashi, Y.: Time course observation of thyroid proliferative lesions and serum TSH levels in rats treated with thiourea after DHPN initiation. *Cancer Lett.*, **85**, 141~149 (1994)
- Hiasa, Y., Kitahori, Y., Konishi, N., Enoki, N. and Fujita, T.: Effect of varying the duration of exposure to phenobarbital on its enhancement of *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine-induced thyroid tumorigenesis in male Wistar rats. *Carcinogenesis*, **4**, 935~937 (1983)
- Hiasa, Y., Kitahori, Y., Konishi, N., Shimoyama, T. and Lin, J.C.: Sex differential and dose dependence of phenobarbital-promoting activity in *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine-initiated thyroid tumorigenesis in rats. *Cancer Res.*, **45**, 4087~4090 (1985)
- Hiasa, Y., Kitahori, Y., Ohshima, M., Fujita, T., Yuasa, T., Konishi, N. and Miyashiro, A.: Promoting effects of phenobarbital and barbital on development of thyroid tumors in rats treated with *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine. *Carcinogenesis*, **3**, 1187~1190 (1982)
- Shimo, T., Mitsumori, K., Onodera, H., Yasuhara, K., Kitaura, K., Takahashi, M., Kanno, J. and Hayashi, Y.: Synergistic effects of phenobarbital and thiourea on proliferative lesions in the rat liver. *Cancer Lett.*, **81**, 45~52 (1994)
- Konishi, Y., Denda, A., Kondo, H. and Takahashi, S.: Lung carcinogenesis induced by oral administration of *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine in rats. *Gann*, **67**, 773~780 (1976)
- Konishi, Y., Kondo, H., Ikeda, T., Kawabata, A., Shoji, Y. and Denda, A.: Effect of dose on the carcinogenic activity of orally administered *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine in rats. *Gann*, **69**, 573~577 (1978)
- Milner, L. S., Wei, S. H. and Houser, M. T.: Enhancement of renal and hepatic glutathione metabolism by dimethylthiourea. *Toxicol. Lett.*, **66**, 117~123 (1993)
- Moore, M. A. and Kitagawa, T.: Hepatocarcinogenesis in the rat: the effect of promoters and carcinogenesis *in vivo* and *in vitro*. *Int. Rev. Cytol.*, **101**, 125~173 (1986)
- Anderson, L. M., Ward, J. M., Fox S. D., Issaq, H. J. and Riggs, C. W.: Effects of single dose of polychlorinated biphenyls to infant mice on *N*-nitrosodimethylamine-induced lung and liver tumors. *Int. J. Cancer*, **38**, 109 (1986)

- 21) Anderson, L. M., Logsdon, D., Ruskie, S., Fox, S. D., Issaq, H. J., Kovatch, R. M. and Riggs, C. W.: Promotion by polychlorinated biphenyls of lung and liver tumors in mice. *Carcinogenesis*, **15**, 2245~2248 (1994)
- 22) Nachiappan, V., Mufti, S. I., Chakravarti, A., Eskelson, C. D. and Rajasekharan, R.: Lipid peroxidation and ethanol-related tumor promotion in Fischer-344 rats treated with tobacco-specific nitrosamines. *Alcohol-Alcohol*, **29**, 565~574 (1994)
- 23) Last, J. A., Warren, D. L., Goad, E. P. and Witschi, H. P.: Modification of lung tumor development in mice by ozone. *J. Natl. Cancer Inst.*, **78**, 149~154 (1987)
- 24) Sagai, M., Ichinose, T. and Kubota, K.: Studies of the biochemical effects of nitrogen dioxide. IV. Relation between the change of lipid peroxidation and anti oxidative protective system in rat lungs upon life span exposure to low levels of NO₂. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **73**, 444~456 (1984)
- 25) Sagai, M., Ichinose, T., Oda, H. and Kubota, K.: Studies on biochemical effects of nitrogen dioxide. II. Changes of the protective systems in rat lung and of lipid-peroxidation by acute exposure. *J. Toxicol. Environ. Health*, **9**, 153~164 (1982)
- 26) Ichinose, T. and Sagai, M.: Studies on biochemical effects of nitrogen dioxide. III. Changes of the protective systems in rat lung and of lipid peroxidation by chronic exposure. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **66**, 1~8 (1982)
- 27) Ichinose, T., Fujii, K. and Sagai, M.: Experimental studies on tumor promotion by nitrogen dioxide. *Toxicology*, **67**, 211~225 (1991)
- 28) Beebe, L. E., Anver, M. R., Riggs, C. W., Fornwald, L. W. and Anderson, L. M.: Promotion of *N*-nitrosodimethylamine-initiated mouse lung tumors following single or multiple low dose exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Carcinogenesis*, **16**, 1345~1349 (1995)
- 29) Anderson, L. M., Beebe, L. E., Fox, S. D., Issaq, H. J. and Kovatch, R. M.: Promotion of mouse lung tumors by bioaccumulated polychlorinated aromatic hydrocarbons. *Exp. Lung Res.*, **17**, 455~471 (1991)

天然添加物「グレープフルーツ種子抽出物」の HPLC および LC/MS による成分分析

坂元 史歩・佐藤 恭子・米谷 民雄・山田 隆

Analysis of Components in Natural Food Additive “Grapefruit seed extract” by HPLC and LC/MS

Shiho Sakamoto, Kyoko Sato, Tamio Maitani and Takashi Yamada

The components in a commercial natural food additive “Grapefruit seed extract” and the ethanol extract of grapefruit seeds were analyzed by HPLC and LC/MS. The HPLC chromatogram of the commercial grapefruit seed extract was quite different from that of the ethanol extract of grapefruit seeds. Three main peaks were observed in the chromatogram of the commercial grapefruit seed extract. By comparison of the retention times and the absorption spectra with those of authentic samples, two peaks were ascribed to methyl-*p*-hydroxybenzoate and 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenylether (triclosan). Triclosan was also identified by LC/MS by using the negative electrospray ionization method.

Keywords : grapefruit seed extract, 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenylether, methyl-*p*-hydroxybenzoate, HPLC, LC/MS

(Received May 31, 1996)

緒 言

「食品衛生法および栄養改善法の一部を改正する法律」¹⁾が、平成7年5月24日に公布された。この法律改正によって、新たに開発された天然由来の添加物（以下、天然添加物）は、香料や食材（一般に食品として飲食に供されるものであって添加物として使用されるもの）を除き、これまでの化学的合成品の食品添加物（以下、合成添加物）の場合と同様、指定制度が適用されることになった。しかし、法律改正時点で既に使用されていた天然添加物は、「既存添加物名簿」²⁾として同年8月10日に告示され、引き続き使用できるとされているが、順次規格基準を作成していく必要がある。

「グレープフルーツ種子抽出物」は、「既存添加物名簿」²⁾に、「グレープフルーツの種子から得られた、脂肪酸およびフラボノイドを主成分とするものをいう」と記載されており、抗菌活性を有するとして、主として日持向上剤として使用されると考えられるものである。本品目の抗菌活性については、野坂³⁾、仁科⁴⁾によって報告されている。野坂は、米国より輸入されたグレープフルーツ種子抽出物製剤が、4種のグラム陽性細菌類には最小発育阻止濃度 (MIC) = 6.25 ppm 以下で、また4種の真菌類には MIC = 25~50 ppm で抗菌性があることを報告している³⁾。

他方、仁科⁴⁾は、ブラジルより輸入されたグレープ

フルーツ種子抽出物製剤が、5種のグラム陽性細菌類には MIC が 5~25 ppm で、2種の真菌類には MIC = 10~25 ppm で抗菌性があるが、1種のグラム陰性細菌、4種の真菌類には抗菌性が全くないか、微弱であると報告している。この結果は、一般的な合成抗菌剤であるソルビン酸、プロピオン酸、安息香酸より高い抗菌活性を有することを示していた。更に、仁科らは、同製剤の活性本体は、合成抗菌剤として知られている、2,4,4'-トリクロロ-2'-ヒドロキシジフェニルエーテル（以下、トリクロサン）とパラヒドロキシ安息香酸メチル（Fig. 1）であると報告している。これら2種の合成抗菌剤は、日本国内では、食品への使用が認められていない化合物であり、本輸入製剤の使用を差し控えるべきであろうとコメントしている。

このように、天然由来の添加物であっても、その本質が合成添加物であるならば、大きな問題となると考えられる。

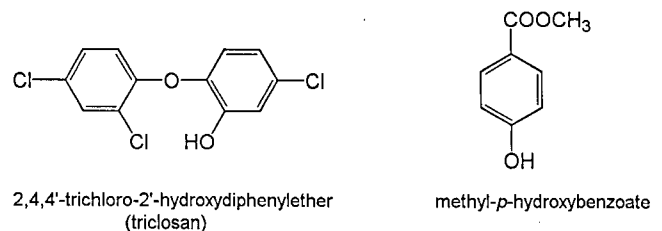


Fig. 1. Structures of 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenylether (triclosan) and methyl-*p*-hydroxybenzoate

そこで著者らは、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用い「グレープフルーツ種子抽出物」の分析を行い、更にそのうちのいくつかの成分については、高速液体クロマトグラフィー/マススペクトロメトリー (LC/MS) を用い、同定を試みた。

実験方法

1. 試料

日本添加物協会を通じて入手した、1社1製品 (エフ・オー・バイオ(株)製) の市販グレープフルーツ種子抽出物を用いた。

グレープフルーツは都内のスーパーで購入した2製品を用いた。

2. 試薬

パラヒドロキシ安息香酸メチル：試薬特級 (和光純薬工業製)

パラヒドロキシ安息香酸エチル：試薬特級 (和光純薬工業製)

パラヒドロキシ安息香酸プロピル：試薬特級 (和光純薬工業製)

パラヒドロキシ安息香酸ブチル：試薬特級 (和光純薬工業製)

2,4,4'-トリクロロ-2'-ヒドロキシジフェニルエーテル (トリクロサン)：当所環境衛生化学部木嶋博士よりいただいたものを用いた。

メタノール：高速液体クロマトグラフ用 (和光純薬工業製)

アセトニトリル：高速液体クロマトグラフ用 (和光純薬工業製)

そのほかの試薬は、いずれも試薬特級 (和光純薬工業製) を用いた。

3. 装置

高速液体クロマトグラフ (HPLC)：SC-8010 システム (東ソー製) に 991J フォトダイオードアレイ検出器 (Waters 製) を接続したものを用いた。

高速液体クロマトグラフ/マススペクトロメトリー (LC/MS)：高速液体クロマトグラフ部、HP1090 SERIES II；マスエンジン部、5989B；インターフェイス部、59987A (いずれも Hewlett Packard 製)

4. 試験溶液の調製

市販グレープフルーツ種子抽出物は、その 0.2 g をメタノール 10 ml で希釈したものを HPLC 用試料とした。

グレープフルーツは種子を取り、種子の 20 倍量のエタノールで一晩抽出した後、溶媒を減圧濃縮し、残渣をメタノール 1 ml に溶解し、HPLC 用試料とした。

5. グレープフルーツ種子抽出物の HPLC による分析

市販グレープフルーツ種子抽出物およびグレープフルー

ツの種子より調製した試験液は、以下の HPLC 条件にて分析した。

カラム：Inertsil ODS-2 (250×4.6 mm i.d., GL サイエンス製)

カラム温度：40℃

移動相：(条件 A) メタノールと 1% 酢酸とのグラジエント。0~10 分, 40% メタノール；10~30 分, 40~100% メタノール, 直線グラジエント；30~45 分, 100% メタノール

(条件 B) アセトニトリルと水とのグラジエント。0~30 分, 0~100% アセトニトリル, 直線グラジエント；30~45 分, 100% アセトニトリル

流速：0.8 ml/分

検出波長：280 nm および 200~500 nm

6. 市販グレープフルーツ種子抽出物の LC/MS による分析

(HPLC 部)

カラム：ODS Hypersil (100×2.1 mm i.d., 粒子径 5 μm, Hewlett Packard 製)

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリルと水のグラジエント。0~5 分, 20% アセトニトリル；5~12 分, 20~90% アセトニトリル, 直線グラジエント；12~15 分, 90% アセトニトリル

流速：0.4 ml/分

検出波長：280 nm

(MS 部)

イオン化法：エレクトロスプレー (ESI) 法

ネブライジングガス：酸素 (80 psi)

キャピラリー電圧：3.5 kV

測定モード：ネガティブモード

結果

1. グレープフルーツ種子抽出物の HPLC 分析

仁科らは、ブラジルより輸入されたグレープフルーツ種子抽出物製剤の抗菌活性本体は、合成抗菌剤であるトリクロサンとパラヒドロキシ安息香酸メチルであることを報告している⁴⁾。したがって、本実験で用いた市販グレープフルーツ抽出物中にも、トリクロサンあるいはパラヒドロキシ安息香酸エステル類が含まれている可能性が考えられる。そこで、まず入手可能な4種のパラヒドロキシ安息香酸エステル類 (メチル, エチル, プロピル, ブチル) およびトリクロサンの分離条件を検討した。既報⁵⁾の条件を参考に、メタノールと1%酢酸とのグラジエントを検討したところ、実験方法の5.に記載の (条件 A) にて、5種の化合物は良好に分離した。

次に、市販グレープフルーツ種子抽出物を同一の条件にて分析したところ、保持時間よりパラヒドロキシ安息香酸

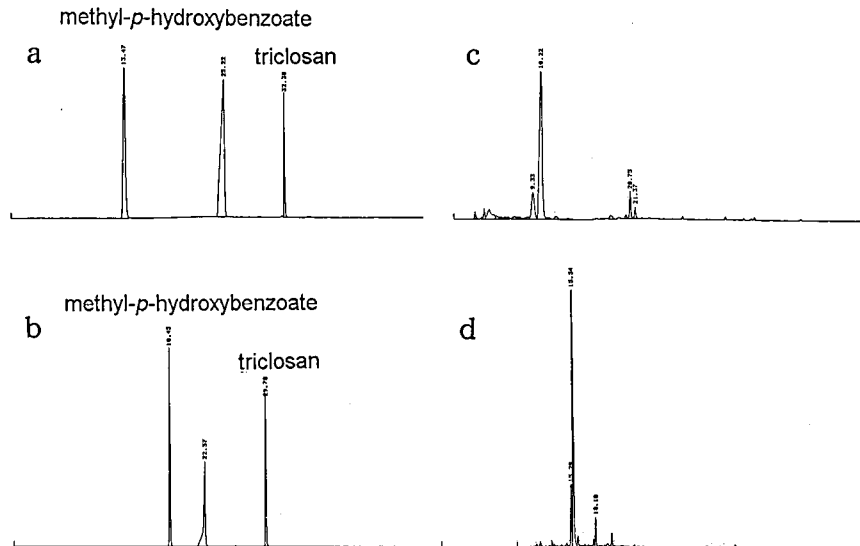


Fig. 2. HPLC chromatograms of commercial grapefruit seed extract (a, b) and ethanol extract of grapefruit seeds (c, d)

a, c: analyzed under condition A

b, d: analyzed under condition B

メチルおよびトリクロサンと考えられるピークが、それぞれ13.5分および32.4分に認められた (Fig. 2a)。しかし、移動相に酢酸を用いると、フォトダイオードアレイ検出器による吸収スペクトルの測定の際、短波長側のスペクトルが測定できないため、アセトニトリルと水とのグラジエントを検討した。その結果、上記5.に記載した (条件B) において、良好な分離が得られ (Fig. 2b)、保持時間および吸収スペクトルの結果から、18.4分のピークはパラヒドロキシ安息香酸メチルと、29.8分のピークはトリクロサンと同定された。

他方、2種の市販グレープフルーツの種子のエタノール抽出液を (条件A) および (条件B) で分析したところ、市販グレープフルーツ種子抽出物とは全く異なったクロマトグラムが得られ、パラヒドロキシ安息香酸エステル類およびトリクロサンに相当するピークは認められなかった (Fig. 2c, d)。

なお、市販グレープフルーツ種子抽出物中に観察された、保持時間22.6分のピークに相当する化合物が何であるか不明である。

2. 市販グレープフルーツ種子抽出物のLC/MS分析

1.で同定されたパラヒドロキシ安息香酸メチルおよびトリクロサンについて、LC/MSによる分析を検討した。

まず、トリクロサンについて、ESI法によるLC/MSを行ったところ、アセトニトリル：水=80：20の移動相を用いたフローインジェクション法により、ネガティブモードで $[M-H]^-$ が m/z 287に検出された。更に、トリクロサンの分子中に存在する、3個の塩素原子由来の同位体ピークである m/z 289, 291, 293も観察された (Fig. 3)。

次に、パラヒドロキシ安息香酸エステル類およびトリクロサンについて、LC/MSを検討した。HPLC条件は、検討の結果、方法の6.に記載の条件を用いた。同条件を用い、ネガティブモードでマススペクトルを測定し、SIMモードにて各化合物の $[M-H]^-$ でモニターしたところ、パラヒドロキシ安息香酸メチルの感度がやや低かったものの、すべての化合物が検出された。

そこで、市販グレープフルーツ種子抽出物について、同じ条件でLC/MSを行った。HPLCのクロマトグラムでは、Fig. 2bの場合と異なり、ピークは2本しか検出されなかった。これら2本のピークについてマススペクトルを測定し、パラヒドロキシ安息香酸メチルおよびトリクロサンの $[M-H]^-$ でモニターした結果、保持時間11.3分のピークは、明らかにトリクロサンであった。他方、保持時間2.9分のピークは、そのマススペクトルから、パラヒドロキシ安息香酸メチルと他の未知物質の混合物の可能性が高いことが明らかとなった (Fig. 4)。

3. 市販グレープフルーツ種子抽出物中のパラヒドロキシ安息香酸メチルおよびトリクロサンの定量

市販グレープフルーツ種子抽出物中のパラヒドロキシ安息香酸メチルおよびトリクロサンの含量を定量した結果、試料1g当たり、それぞれ16.6mgおよび19.6mgであった。

考 察

1. グレープフルーツ種子抽出物のHPLC分析

市販グレープフルーツ種子抽出物と、市販グレープフルーツの種子のエタノール抽出物をそれぞれ2種類の

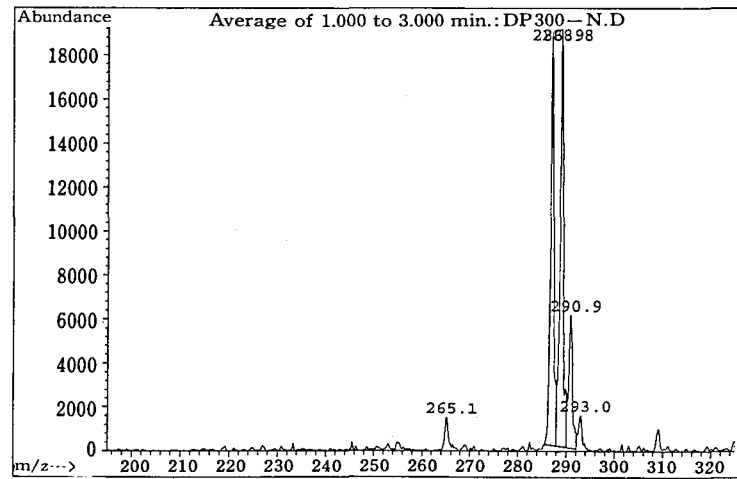


Fig. 3. Electrospray mass spectrum of triclosan

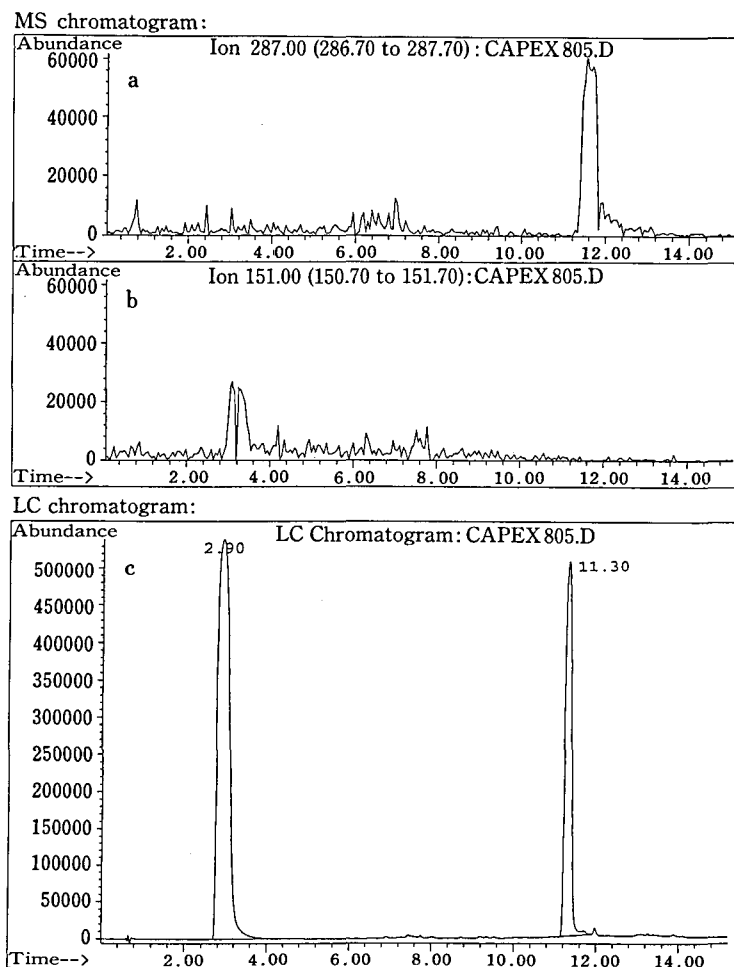


Fig. 4. Extracted ion chromatograms (a, b) and HPLC chromatograms (c) of grapefruit seed extract
 a: m/z 287, b: m/z 151, c: 280 nm

HPLC 条件で分析したところ、互いに全く異なるクロマトグラムが得られた (Fig. 2a~d)。すなわち、市販グレープフルーツ種子抽出物では、グレープフルーツの種子由来の化合物のピークは全く認められず、代わりに合成抗菌

剤であるパラヒドロキシ安息香酸メチルとトリクロサンが検出された。このことは、既に仁科らによって報告⁴⁾されている結果と同様であった。

パラヒドロキシ安息香酸エステル類は化粧品原料基準⁶⁾

に、またトリクロサンは化粧品原料基準外成分規格⁷⁾に記載されている化合物で、いずれも現在わが国では、食品への使用が認められていない化合物である。トリクロサンは、以前は繊維製品にも使用されていたが、1980年代後半に、漂白、燃焼等によりダイオキシン類が生成するという報告がなされ⁸⁻¹⁰⁾、現在では繊維製品には使用されていない。

本実験に用いた製品中のパラヒドロキシ安息香酸メチルとトリクロサンの含量は、試料1g当たりそれぞれ16.6mgおよび19.6mgであった。本製品を、食品にどのくらいの量使用するか分からないので、使用された場合の、これらの化合物の与える影響については不明であるが、これらの化合物がいかなる経路を経て本製品に入ったかを調べる必要があると思われる。

他方、本製品中に含まれていた未知化合物については、吸収スペクトルの形状から、やはり芳香族化合物である可能性が示唆されるが、詳細を検討するには至っていない。今後の検討課題である。

2. グレープフルーツ種子抽出物のLC/MS分析

トリクロサンは、その構造から、ESI法によるLC/MSの分析が可能であると予想され、検討した結果、ネガティブモードで容易に疑似分子イオンを検出することができた。本化合物は、分子内に塩素原子を3個有する化合物であるため、それら塩素原子由来の同位体ピークが存在し、2マスユニットずつの差で、計4本のピークが存在する (Fig. 3)。このことは、トリクロサンの同定をより確かなものにすると考えられる。更に市販グレープフルーツ種子抽出物

を用いたLC/MSにより、試料中の同物質の同定が可能であることが明らかとなった。

他方、パラヒドロキシ安息香酸メチルは、LC/MSを行うにはやや分子量が小さいと考えられたが、事実、他のパラヒドロキシ安息香酸エステル類 (エチル、プロピル、ブチルと比較しても検出感度は低かった。

以上の結果より、LC/MSは非常に簡便かつ確実な化合物の同定手段であると思われる。今後は定量や、他の様々な添加物の分析への応用を検討する予定である。

文 献

- 1) 食品衛生法および栄養改善法の一部を改正する法律、法律第101号 (1995年5月24日公布)
- 2) 厚生省：既存添加物名簿、告示第160号 (1995年8月10日)
- 3) 野坂：New Food Industry, **33**, 6~16 (1991)
- 4) 仁科淳良, 木原 浩, 内堀 毅, 大井 高：防菌防黴, **19**, 401~404 (1991)
- 5) Gagliardi, L., Cavazzutti, G. and Turchetto, L.: J. Chromatogr., **508**, 252~258 (1990)
- 6) 厚生省：第二版化粧品原料基準 (1982)
- 7) 化粧品原料基準外成分規格 1993, 薬事日報社 (1993)
- 8) Kanetoshi, A., Ogawa, H., Katsura, E. and Kaneshima, H.: J. Chromatogr., **389**, 139~153 (1987)
- 9) Kanetoshi, A., Ogawa, H., Katsura, E. and Kaneshima, H.: J. Chromatogr., **442**, 289~299 (1988)
- 10) Kanetoshi, A., Ogawa, H., Katsura, E. and Kaneshima, H.: J. Chromatogr., **454**, 145~155 (1988)

水銀, PCB およびヒ素の魚介類由来の年次別摂取量および 魚体重別汚染レベルの比較調査

五十嵐敦子・佐々木久美子・豊田 正武・斎藤 行生

Annual Daily Intakes of Hg, PCB and Arsenic from Fish and Shellfish and Comparative Survey of Their Residue Levels in Fish by Body Weight

Atsuko Ikarashi, Kumiko Sasaki, Masatake Toyoda and Yukio Saito

We have been surveying toxic substances in food and foodstuffs and carrying out a total diet study on the intakes of various substances since 1979 in cooperation with local public institutes in Japan. In this paper, we report the daily intakes of mercury, PCB and arsenic from foods, and the relation between the concentrations of these substance in fish and the fish body weight.

The intakes of mercury and arsenic were 6.9~11.0 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ and 120~230 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$, respectively. The intakes of these substances remained on a stable level from 1979 to 1994. On the other hand, the intake of PCB decreased from 3.1 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ in 1979 to 0.9 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ in 1994. Most of the intakes of mercury, PCB and arsenic were derived from the diet group "fish and shellfish".

The level of mercury in fish increased with increasing fish body weight. For PCB and arsenic, there was no correlation between these concentrations in fish and the fish body weight, except that mackerel and croaker show a higher concentration of PCB when they are small. Arsenic shows almost a constant level in each fish regardless of their body weight.

Keywords : mercury, polychlorinated biphenyl, arsenic, fish, total diet study

(Received May 31, 1996)

はじめに

国立衛生試験所食品部では、1978年より全国自治体研究機関の協力により食品汚染物のモニタリング調査を行っており、これまでに約169万件のデータが蓄積されている。一方、ほぼ同時に1979年より全国約10機関の協力により、日常食中の汚染物摂取量調査（トータルダイエツトスタデー）も行っている。

本報告では、両調査のデータを基に、魚介類で汚染レベルの高いといわれている水銀およびPCBと海水生物、貝、エビ、海草などに生物濃縮されている¹⁾ヒ素について、1978~1994年のデータを解析した結果を報告する。1981年までのPCB、水銀の汚染と摂取量については内山²⁾の報告があり、1986年までのPCBの摂取量については斎藤の報告³⁾がある。

1. 魚介類由来の水銀摂取量

水銀は外洋の海水中に0.5~3 ng/l含まれ、沿岸の海水中には2~15 ng/l含まれると報告されている⁴⁾。水銀は魚体に蓄積されやすいため、魚については暫定的規制値（総水銀として0.4 ppm、ただしまぐろ等一部の魚介類には適用されない）が設定されている。トータルダイエツトスタデーでは全食品を14群に分けて分析を行うが、魚介類

を含むX群とX群以外の全群に由来する総水銀の一日一人当たり摂取量 (μg) の、1979年から1994年までの15年間の年次変化をFig. 1に示した。全食品からの総水銀の一日摂取量は15年間を通して多少の増減はあるものの、ほぼ同一レベル(6.9~11.0 $\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$)であり減少していない。このレベルは一週間に換算すると約70 μg となり、FAO/WHOのPTWI(暫定的一週間許容摂取量)の0.3 mg/人よりかなり少ない。一方、魚介類由来の総水銀摂取量は、4.2~7.6 $\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ であり、全食品からの総水銀の一日摂取量の53~81%であった。この魚介類由来の平均摂取量は、外国で報告されている2 $\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ ⁵⁾よりも若干高いことが判る。

2. 魚種および魚体重別の水銀汚染レベル

食品汚染物モニタリング調査で分析件数の多いアジ、サバ、イシモチ、コノシロ、タチウオおよびカレイ・ヒラメの総水銀汚染レベル(ppm)について、調査した結果を5年毎にまとめてFig. 2に示した。分析試料数は少ないものでタチウオの82から多いものでアジの726であった。いずれの魚種についても汚染レベルに大きな年次推移は見られなかった。

さらに、上記6種の魚をTable 1に示すような魚体重別に分けて総水銀の汚染レベルを調べた。Fig. 3に魚体重

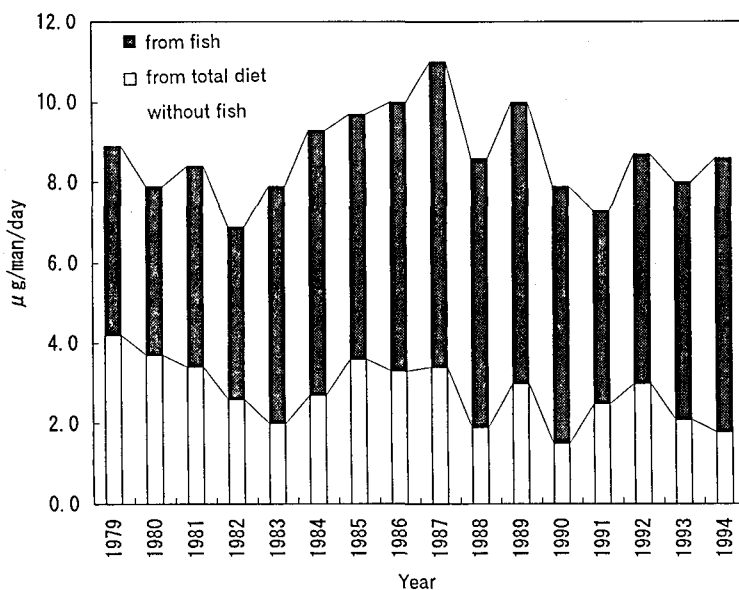


Fig. 1. Average daily intake of mercury from fish and other foods during 1979~1994

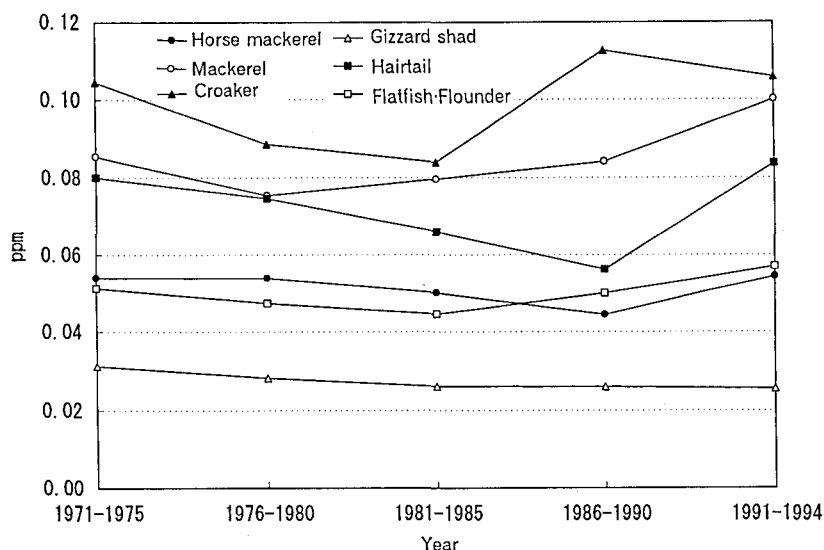


Fig. 2. Annual change of mercury level in fishes

別に分類した小, 中, 大タイプの魚の総水銀汚染レベルを示した。試料数は少ないものでサバの小タイプの233から多いものでアジの小タイプの593であった。コノシロ以外は明らかに魚体重が大きくなるにつれて総水銀汚染レベルが上昇し, 大タイプで最も汚染は高い。例えばタチウオでは, 小, 中, 大のサイズ毎にそれぞれ0.052, 0.079, 0.117 ppmと増加している。タチウオを含めアジ, サバ, カレイ・ヒラメでは魚体重差による水銀汚染レベルに有意差が見られた ($p < 0.01$)。これは, 海水中の水銀が食物連鎖等の生物濃縮により成長とともに魚体内に徐々に蓄積されてくるためと考えられる。

3. 魚介類由来のPCB摂取量

環境汚染物質として代表的なPCBについて, トータル

ダイエツトスタディーのX群(魚介類)およびX群以外の全群について一日一人当たりPCB摂取量(μg)の年次変化を水銀同様に調べ, Fig. 4にその結果を示した。PCBの総摂取量は明らかに最近では減少し, 1979年に $3.1 \mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ であり, 1984年に $2.5 \mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ ³⁾であったものが, 1994年には $0.9 \mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ となっている。WHOのEnvironmental Health CriteriaにはトータルダイエツトスタディーによるPCBの平均的摂取量が $5\sim 15 \mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ と報告されている⁶⁾が, 日本人の摂取量はこの値より低く, イギリス人の $0.031 \mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ (1981), アメリカ人の $0.196 \mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ (1982)³⁾より若干高い。一方PCBの総摂取量に占める魚介類由来の摂取割合は, 調査期間を通してほぼ $60\sim 90\%$ であるが, 最近の数年間は $90\sim 100\%$ となってい

Table 1. Grouping of fish with body weight

| Species | Size (g) | | |
|----------------------------------|----------|---------|-------|
| | Small | Medium | Large |
| Horse mackerel (Aji) | ≤ 100 | 101-200 | ≥ 201 |
| Mackerel (Saba) | ≤ 300 | 301-500 | ≥ 501 |
| Croaker (Ishimochi) | ≤ 150 | 151-300 | ≥ 301 |
| Gizzard shad (Konoshiro) | ≤ 150 | 151-300 | ≥ 301 |
| Hairtail (Tachiuo) | ≤ 300 | 301-500 | ≥ 501 |
| Flatfish-Flounder (Karei-Hirame) | ≤ 150 | 151-300 | ≥ 301 |

る。これは、他の食品の PCB 汚染が低下しているためと考えられる。

4. 魚種および魚体重別の PCB 汚染レベル

Fig. 5 に 6 種の魚種別の PCB 汚染レベル (ppm) を 5 年毎にまとめて示した。分析試料数はタチウオの 35 からアジの 857 までである。いずれの魚種でも汚染レベルは年次的に低下し、1971~1975 年の 5 年間に 0.1~0.9 ppm であったものが、1991~1994 年の 4 年間ではすべての魚種で 0.1 ppm 以下となっている。Fig. 6 に Table 1 で分類したサイズ別の PCB 汚染レベルを示した。水銀汚染と異なり、サバ、イシモチでは魚体重との逆相関に有意な差が認められたが、他の魚では魚体重との間に一定の相関性は見られなかった。桑原ら⁷⁾が報告しているように PCB の残留量に魚体重よりも地域差、魚の棲息環境また代謝等の差が反映されるのかも知れず、今後の検討が待たれる。

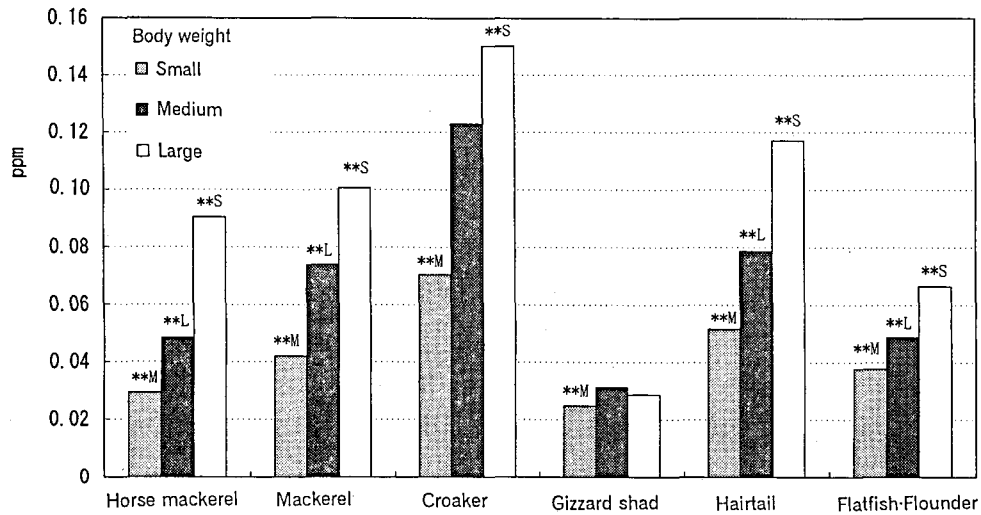


Fig. 3. Difference in mercury level with the fish body weight

** M: Significantly different from Medium group at p<0.01, ** L: Significantly different from Large group at p<0.01, ** S: Significantly different from Small group at p<0.01

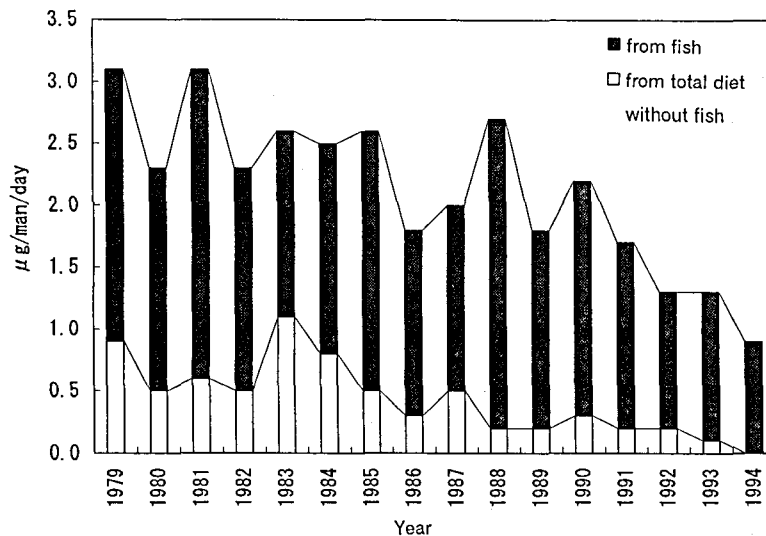


Fig. 4. Average daily intake of PCB from fish and other foods during 1979~1994

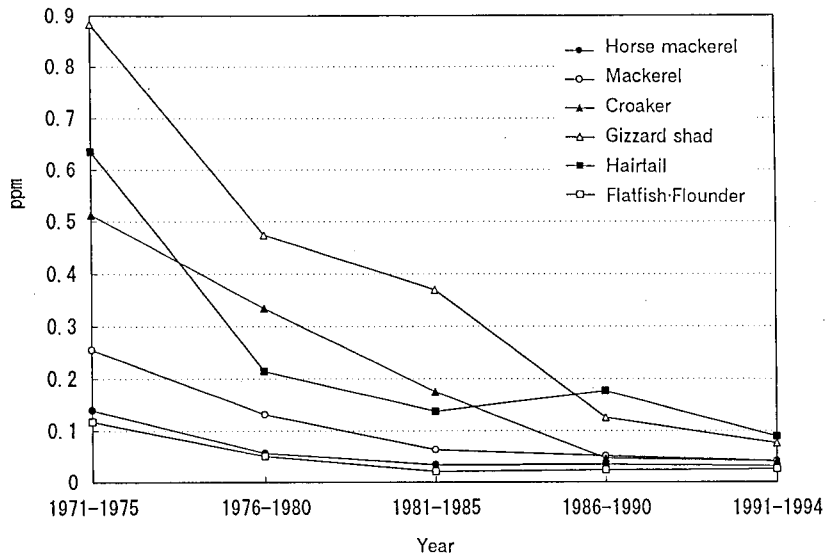


Fig. 5. Annual change of PCB level in fishes

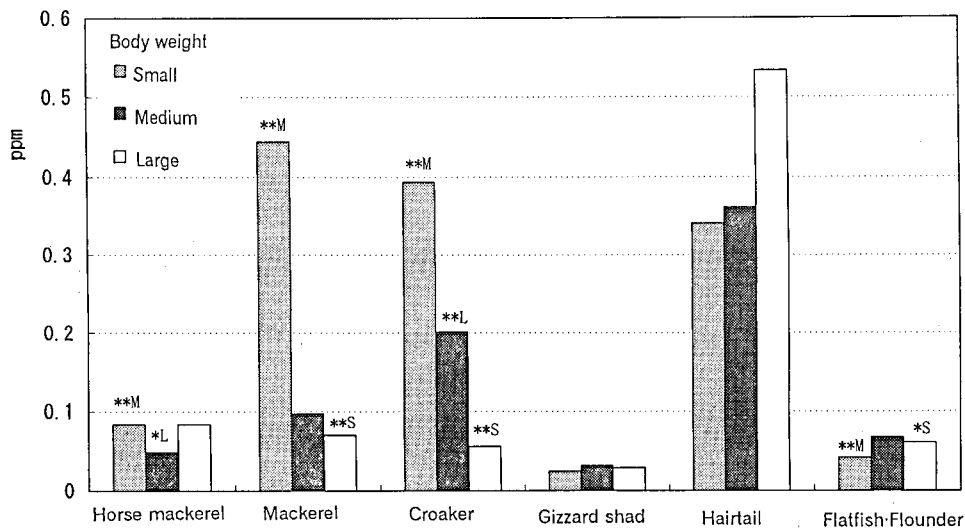


Fig. 6. Difference in PCB level with the fish body weight

** M: Significantly different from Medium group at $p < 0.01$

** L: Significantly different from Large group at $p < 0.01$

* L: Significantly different from Large group at $p < 0.05$

** S: Significantly different from Small group at $p < 0.01$

* S: Significantly different from Small group at $p < 0.05$

5. 魚介類由来のヒ素摂取量

魚介類由来のヒ素摂取量を他の食品由来のヒ素摂取量と比較して Fig. 7 に示した。ヒ素の総摂取量は約 120~230 $\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ で、FAO/WHO の暫定許容量の 50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ から体重を 50 kg として計算した場合の 2500 $\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ と比べ、1/10 以下であるが、イギリスのヒ素摂取量 100 $\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ と比較するとやや高めの傾向であった。魚介類由来の摂取量は 76~140 μg で、総摂取量とともに年次変化はないことが判る。また、魚介類由来の摂取量は総摂取量の 50~60% であった。ヒ素は海草類に高濃度に含まれてい

る⁹⁾が、トータルダイエツスタディーのVIII群に含まれる海草が少量であるため、魚介類の寄与率が高くなったと考えられる。

6. 魚種および魚体重別のヒ素汚染レベル

Fig. 8 に 6 つの魚種の体重別ヒ素汚染レベルを示した。分析試料数は少ないものでタチウオの大タイプの 4、多いものでアジの小タイプの 119 であった。全体の汚染レベルは 0.7~2.5 ppm であり、海産魚で報告されている平均 5 ppm⁸⁾ に近い値であった。また、魚体重との関係には有意な差は見られず、水銀や PCB と異なりヒ素レベルは魚の

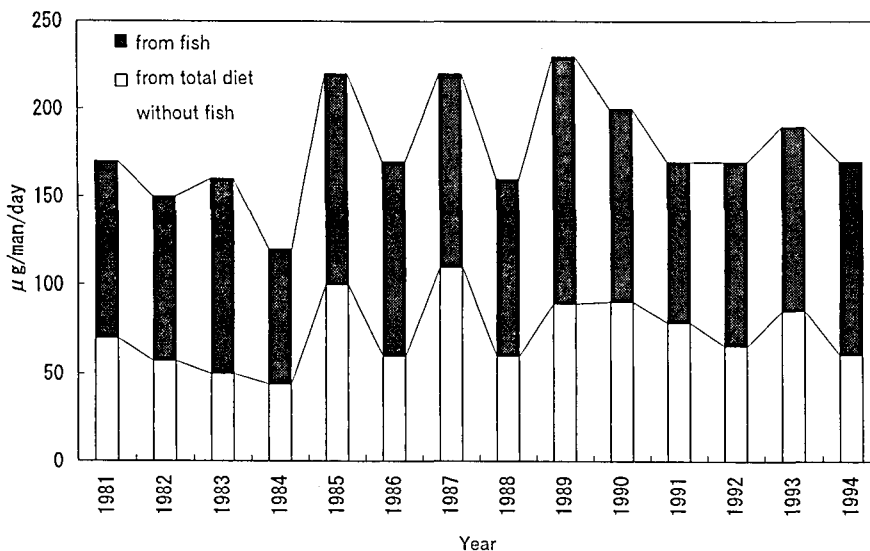


Fig. 7. Average daily intake of arsenic from fish and other foods during 1981 ~ 1994

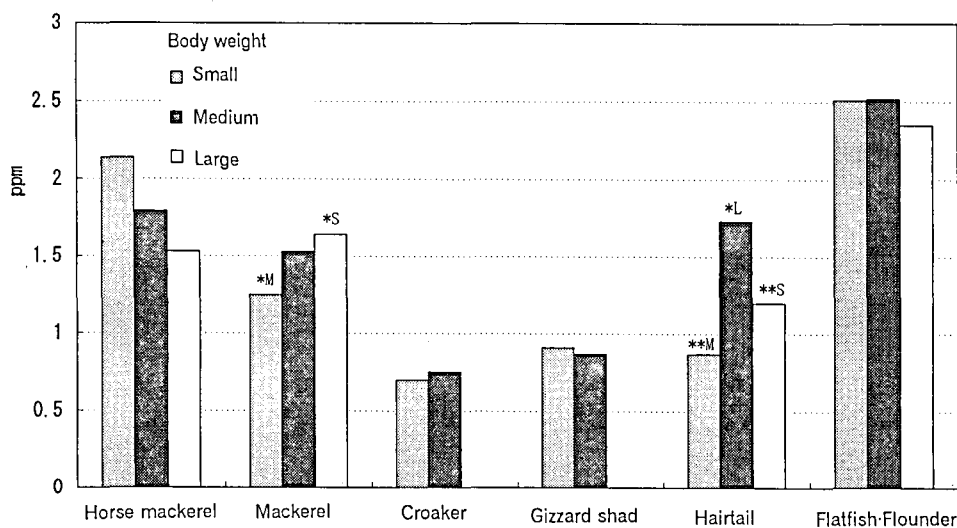


Fig. 8. Difference in arsenic level with the fish body weight

- ** M: Significantly different from Medium group at $p < 0.01$
- * M: Significantly different from Medium group at $p < 0.05$
- * L: Significantly different from Large group at $p < 0.05$
- ** S: Significantly different from Small group at $p < 0.01$
- * S: Significantly different from Small group at $p < 0.05$

体重に関係なく各魚種毎にほぼ一定の値であることがわかる。

文 献

- 1) Suedel, B. C., Boraczek, J. A., Peddicord, R. K., Clifford, P. A. and Dillon, T. M: Trophic transfer and biomagnification potential of contaminants in aquatic ecosystems. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, **136**, 21~89 (1994)
- 2) 内山 充: 環境化学物質による魚介類汚染と安全性. *食品衛生研究*, **32**, 529~546 (1982)
- 3) 斎藤行生: 環境汚染物質摂取量推計とその評価. *食品衛生研究*, **37**(8), 7~29 (1987)
- 4) WHO, IPCS: EHC86, Mercury-Environmental Aspects, p. 14 (1989)
- 5) WHO, IPCS: EHC101, Methylmercury, p. 39 (1990)
- 6) WHO, IPCS: EHC140 Polychlorinated Biphenyls and Terphenyls (2nd. ed.), p. 188~192 (1993)
- 7) 桑原克義, 松本比佐志, 村上保行, 西宗高弘, 佐々木寧: 魚介類に含まれる有機塩素系農薬及びPCBの残留実態—1976年~1994年の調査結果—. *大府公衛研報, 食品衛生編*, **25**, 45~59 (1995).
- 8) WHO, IPCS: EHC18 Arsenic. p. 45~47 (1981)

エイズ医薬品候補スクリーニング研究

VI. 1993 年度報告

牛島 廣治*¹・高橋 啓明*¹・国貞 孝夫*¹・森次 保雄*¹・小林 伸好*²
 野口 有三*²・松山 雅子*³・秋吉 京子*³・野呂 新一*⁴・沢田 春美*⁴
 桜田 教夫*⁴・山田 明*⁵・石崎 徹*⁵・神村 紀子*⁵・吉田 幸雄*⁵
 小野 哲郎*⁶・大友 信也*⁶・森下 高行*⁷・小林 慎一*⁷・三宅 恭司*⁷
 石原 佑弍*⁷・鈴木 亮而*⁷・斉藤 隆行*⁸・衛藤 繁雄*⁸
 大竹 徹*⁹・森 治代*⁹・森本 素子*⁹・上羽 昇*⁹
 千々和勝巳*¹⁰・田中 慶司*¹⁰・関根 大正*¹¹・大貫奈穂美*¹¹
 貞増 健志*¹¹・太田 健爾*¹¹・工藤 泰雄*¹¹・三瀬 勝利

Preliminary Screening for Antiviral AIDS Drugs.

VI. Report for fiscal year 1993

Hiroshi Ushijima*¹, Keimei Takahashi*¹, Takao Kunisada*¹, Yasuo Moritugu*¹,
 Nobuyoshi Kobayashi*², Yuzo Noguchi*², Masako Matsuyama*³, Kyoko Akiyoshi*³,
 Shinichi Noro*⁴, Harumi Sawada*⁴, Norio Sakurada*⁴, Akira Yamada*⁵,
 Tohru Ishizaki*⁵, Noriko Kamimura*⁵, Yukio Yoshida*⁵, Tetsuro Ono*⁶,
 Nobuya Ohtomo*⁶, Takayuki Morishita*⁷, Shinichi Kobayashi*⁷, Takashi Miyake*⁷,
 Yuichi Ishiwarara*⁷, Ryoji Suzuki*⁷, Takayuki Saito*⁸, Shigeo Etoh*⁸,
 Tohru Ohtake*⁹, Haruyo Mori*⁹, Motoko Morimoto*⁹, Noboru Ueba*⁹,
 Katsumi Chijiwa*¹⁰, Keiji Tanaka*¹⁰, Hiromasa Sekine*¹¹, Nahomi Ohnuki*¹¹,
 Kenji Sadamasu*¹¹, Kenji Ohta*¹¹, Yasuo Kudoh*¹¹ and Katsutoshi Mise

Preliminary screening of antiviral AIDS drugs has been carried out using three different *in vitro* assay systems. Among 138 samples tested, two were found to inhibit the growth of HIV *in vitro*. Neither of the positive samples has hopeful signs, as the ranges of effective doses of the samples are very narrow.

Keywords : AIDS, anti-HIV drugs, giant cell, HIV, microplate method.

(Received May 31, 1996)

はじめに

エイズは数年の潜伏期を経て発症に至り、発症者の多くが5年以内に死に至るといわれている^{1,2)}。エイズ患者を対象とする医薬品はAZT (3'-azido-3'-deoxythymidine) やddI (2', 3'-dideoxyinosine) などいくつかのものが知られているが効力や副作用の点で問題が多く、決定的な治療薬は見出されていない^{3,4)}。日本における患者数は諸外国に比べると多くはないが、血友病患者を中心にすくなくとも患者の発生が報告されている。また、アフリカや米国に

おけるエイズの流行は人類の前途に暗影をなげかけている。さらに米国ではエイズ患者を中心に結核を含む抗酸菌症が蔓延しており、健常者への感染も社会問題化している。

エイズ治療薬の開発を目的として、昭和63年度から厚生省とヒューマンサイエンス振興財団が中心となりエイズ医薬品候補物質のスクリーニング研究班が発足した。研究班では医薬品メーカーから提供された生薬抽出物や化学合成物などについて、国立衛生試験所、国立予防衛生研究所、東京都立衛生研究所など10地方衛生研究所から成る研究班で、候補物質のスクリーニング研究を行った。平成5年度は138サンプルが提出され、このうち2サンプルが陽性を示した。陽性のサンプルは有効濃度域が狭いところから、直接はエイズ医薬品候補とはなり得ない。

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

Table 1. Screening of anti HIV drugs tested in fiscal year 1993

| Sample No. | Effective doses ($\mu\text{g/ml}$) | Minimum cytotoxicity doses ($\mu\text{g/ml}$) | Chemicals |
|------------|--------------------------------------|---|----------------------------|
| 930115 | 25 | 12.5 | Extract of medicinal plant |
| 930116 | 200 | 100 | Extract of medicinal plant |

Number of samples tested was 138.

実験方法

スクリーニングは MT-4 細胞の HIV-1 感染による細胞障害性の抑制を指標としたマイクロプレート法を使用した。本法で活性を認められたものは、生細胞数測定法もしくは巨細胞形成抑制法で抗 HIV 活性の確認を行った。実験の詳細は前報⁵⁾に記した通りである。

結 果

マイクロプレート法で試験された合計 138 サンプル中、抗 HIV 活性を示した 2 サンプルの有効濃度、最小毒性濃度、および化合物を Table 1 に示した。特許とのからみがあり、具体的な化合物名を記載することは、申し合わせにより禁じられている。両サンプルとも植物由来の物質である。これら 138 サンプルは参加企業 16 社から提供されたものであり、国立予防衛生研究所と東京都立衛生研究所等の地方衛生研究所で抗 HIV 活性が調べられた。

考 察

Table 1 にまとめられているように、提供された 138 サンプル中 2 サンプルに、*in vitro* の試験で抗 HIV 活性が認められた。これらはいずれもこれまで抗 HIV 活性が試験されていないものと思われる。両者とも有効濃度の幅は非常に狭い。両サンプルともに抗 HIV 活性を示す濃度と毒性を示す濃度は、わずかに一希釈段階にすぎなかった。上記のものはいずれもエイズ医薬品候補とはなりえないが、今回の発見が契機となり、類似化合物などの抗 HIV 活性に関する研究が発展することを期待したい。

本年度は例年とは異なり、あまり有望とは思われる物質が見つからなかった。この事実は残念なことではあるが、引き続き本研究を継続することで有望な物質が発見されることを期待したい。

なお、ここに記したものの以外に、指定期間外において、企業から提出された 3 サンプルについてスクリーニング研究を行ったが、いずれも陰性であった。

文 献

- 1) Gottlieb, M. S., Jeffries, D. J., Mildvan, D., Pinching, A. J., Quinn, T. C. and Weiss, R. A.: "Current topics in AIDS. Vol. I". John Wiley & Sons, Chichester (1987)
- 2) Bridge, T. P., Mirsky, A. F. and Goodwin, F. K.: "Psychological, neuropsychiatric, and substance abuse aspects of AIDS". Raven Press, New York (1988)
- 3) Mitsuya, H., Weinhold, K. J., Furman, P. A., Clair, M. H. St., Lehrman, S. N., Gallo, R. C., Bolognesi, D., Barry, D. W. and Broder, S.: 3'-Azido-3'-deoxy-thymidine (BW A509U): An antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect of human T-cell lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 7096~7100 (1985)
- 4) Dalglish, A. G. and Weiss, R. A.: "AIDS and New Viruses". Academic Press, London (1990)
- 5) 三木 隆, 大貫奈穂美, 新開敬行, 藪内 清, 小野哲郎, 大友信也, 松田良夫, 松山雅子, 秋吉京子, 大竹 徹, 森 治代, 森本素子, 上羽 昇, 国田信治, 藤田宣哉, 石崎 徹, 神村紀子, 永田久紀, 森下高行, 小林慎一, 三宅恭司, 石原佑弐, 磯村思无, 斎藤隆行, 小田和正, 松崎 稔, 桜田教夫, 佐藤七七朗, 野呂新一, 三瀬勝利, 牛島広治, 清水博之, 大野田秀樹, 北村 敬, 徳永 徹: エイズ医薬品候補スクリーニング研究, I. 1988 年度報告, 衛生試報, **108**, 128~131 (1990)

エイズ医薬品候補スクリーニング研究

VII. 1994 年度報告

大貫菜穂美*1・風間 公夫*1・貞増 健志*1・関根 大正*1・太田 健爾*1
 工藤 泰雄*1・小林 伸好*2・野口 有三*2・松山 雅子*3・秋吉 京子*3
 野呂 新一*4・沢田 春美*4・木村 浩男*4・山田 明*5・石崎 徹*5
 神村 紀子*5・吉田 幸雄*5・小野 哲郎*6・橘 宣洋*6・森下 隆行*7
 小林 慎一*7・三宅 恭司*7・石原 祐弼*7・石川 直久*7・斉藤 隆行*8
 衛藤 繁雄*8・大竹 徹*9・森 治代*9・森本 素子*9
 上羽 昇*9・千々和勝巳*10・森 良一*10・三瀬 勝利
 牛島 廣治*11・高橋 啓明*11・国貞 孝夫*11・森次 保雄*11

Preliminary Screening for Antiviral AIDS Drugs.

VII. Report for fiscal year 1994

Nahomi Ohmuki*1, Kimio Kazama*1, Takeshi Sadamasu*1, Hiromasa Sekine*1,
 Kenji Ohta*1, Yasuo Kudoh*1, Nobuyoshi Kobayashi*2, Yuzo Noguchi*2,
 Masako Matsuyama*3, Kyouko Akiyoshi*3, Shinichi Noro*4, Harumi Sawada*4,
 Hiroo Kimura*4, Akira Yamada*5, Tohru Ishizaki*5, Noriko Kamimura*5,
 Yukio Yoshida*5, Tetsuo Ono*6, Nobuyoshi Tachibana*6, Takayuki Morishita*7,
 Shinichi Kobayashi*7, Takeshi Miyake*7, Yuichi Ishiwara*7, Naohisa Ishikawa*7,
 Takayuki Saito*8, Shigeo Etoh*8, Tohru Ohtake*9, Haruyo Mori*9,
 Motoko Morimoto*9, Noboru Ueba*9, Katsumi Chijiwa*10,
 Ryouichi Mori*10, Katsutoshi Mise, Hiroshi Ushijima*11,
 Keimei Takahashi*11, Takao Kunisada*11 and Yasuo Moritugu*11

Preliminary screening of antiviral AIDS drugs has been carried out using three different *in vitro* assay systems. Among 246 samples of different origin tested, six were shown to inhibit the growth of HIV *in vitro*. Two of the positive samples have hopeful signs, as the ranges of effective doses are wider than those of most of positive samples which had been found by us.

Keywords : AIDS, anti-HIV drugs, HIV-1, AZT, microplate method.

(Received May 31, 1996)

はじめに

日本におけるエイズ患者の数は米国やアフリカの流行地ほどではないにしても、血友病患者を中心にかなりの数の患者が報告されている。AZTやddIなどのエイズ医薬品が開発されているが、効力や副作用などの問題がある。長期服用により薬剤耐性の問題も出ている。HIVの迅速検出法の考案とともに、効力の高い、副作用の少ないエイズ医薬品の開発が待望されている¹⁻³⁾。

エイズ治療薬の開発を目的として、昭和63年度より、厚生省とヒューマンサイエンス振興財団が中心となって、エイズ医薬品候補物質のスクリーニング研究班が発足した。この班では医薬品関連企業から提供される化学合成物や生薬抽出物などについて、国立衛生試験所、国立予防衛生研究所、北海道立衛生研究所など10地方衛生研究所よりなる研究班で、候補物質のスクリーニング研究を行ってきた。これまで、千に近い提供物質から約20のHIVの増殖を抑制する物質を見いだしている。そのうちいくつかの物がエイズ医薬品候補物質として、別の班で研究されている。この中で医薬品となった物は、現在の所残念ながら存在しないが、エイズの治療の困難さを思うと、やむを得ないところもある。

平成6年度は例年になく多い246サンプルが提供され、

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

Table 1. Screening of anti HIV drugs tested in fiscal year 1994

| Number | Effective doses ($\mu\text{g/ml}$) | Minimum cytotoxicity doses ($\mu\text{g/ml}$) | Chemicals |
|--------|--------------------------------------|---|----------------------------|
| 940001 | 3.13~100 | 200 or more | New chemical |
| 940002 | 6.25~12.5 | 25 or more | Antibiotics |
| 940008 | 6.25~12.5 | 25 or more | Antibiotics |
| 940032 | 12.5 | 25 or more | Extract of medicinal plant |
| 940034 | 6.25 | 12.5 or more | Extract of medicinal plant |
| 940042 | 6.25~500 | 1000 or more | Extract of medicinal plant |

Number of samples tested was 246.

Table 2. Anti-HIV activities of sample No. 940001 with microplate assay method

| Tube no. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | UC | IC |
|------------------------------------|-----|----|----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|----|
| Concentration ($\mu\text{g/ml}$) | 100 | 50 | 25 | 12.5 | 6.3 | 3.1 | 1.6 | 0.8 | 0.4 | 0.2 | | |
| 3 days incubation Cytotoxicity | G | G | G | G | G | G | | | | | G | |
| CPE | - | - | - | - | - | - | + | ++ | ++ | ++ | - | ++ |
| 6 days incubation Cytotoxicity | G | G | G | G | G | G | | | | | G | |
| CPE | - | - | - | - | - | - | + | ++ | ++ | ++ | - | ++ |

UC, uninfected control; IC, infected control; CPE, cytopathogenic effects; G, cells grew well as in UC; -, CPE was not observed; +, CPE was partially observed; ++, CPE was observed as in IC.

Table 3. Anti-HIV activities of sample No. 940042 with microplate assay method

| Tube no. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | UC | IC |
|------------------------------------|------|-----|-----|-----|------|------|------|-----|-----|-----|----|----|
| Concentration ($\mu\text{g/ml}$) | 1000 | 500 | 250 | 125 | 62.5 | 31.3 | 15.6 | 7.8 | 3.9 | 2.0 | | |
| 3 days incubation Cytotoxicity | G | G | G | G | G | | | | | | G | |
| CPE | - | - | - | - | - | + | + | ++ | ++ | ++ | - | ++ |
| 6 days incubation Cytotoxicity | F | G | G | G | G | | | | | | G | |
| CPE | - | - | - | - | - | + | ++ | ++ | ++ | ++ | - | ++ |

UC, IC, CPE, G, -, +, and ++, same as described in the legend to Table 2; F, growth of cells was partially inhibited by the chemical added.

このうち6サンプルがHIVの増殖を *in vitro* で抑制した。このうち2サンプルは有効濃度域が比較的広がったところから候補物質となり得ると考えている。

実験方法

医薬品候補物質の第一次スクリーニング法として、本班では終始一貫してマイクロプレート法 (microplate method) を採用している。この方法の詳細は文献⁴⁾に記載された通りであるが、MT-4細胞のHIV-1感染による細胞障害性の抑制を指標としている。マイクロプレート法で陽性となった物は、生細胞数測定法または巨細胞形成抑制法⁴⁾で抗HIV活性を確認している。

結果

マイクロプレート法で試験されたサンプル数は246であり、これらは参加企業9社より提供されたものである。6サンプルが抗HIV活性を示した (Table 1)。比較的有効

濃度域の広がった940001と940042のマイクロプレート法の生データをTable 2とTable 3に示す。940001は巨細胞形成抑制法でも抗HIV活性陽性であった (Table 4)。940001はコロミン酸誘導体であり、940042は生薬抽出物である。企業の特許に触れるので、具体的な化学物質名は記載できない。

考察

Table 1に要約されているように、本年度は6サンプルに抗HIV活性陽性の物が見いだされた。例年になく⁵⁻⁸⁾有望な物が多かった。いずれもこれまで抗HIV活性が試されていない物と想像される (被検サンプル名は我々には伏せられることが多い)。このうち940001と940042は有効濃度域の広さから、十分に候補物質となり得ると予想される。940002と940008もこの研究が「アリアドネの糸」となり、有望な誘導体が合成されることを期待したい。

Table 4. Anti-HIV activities of sample No. 940001 with multinucleated giant cell formation inhibition assay

| Tube no. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | UC | FC |
|------------------------------------|-----|----|----|------|-----|-----|----|----|
| Concentration ($\mu\text{g/ml}$) | 100 | 50 | 25 | 12.5 | 6.3 | 3.1 | | |
| Cytotoxicity | G | G | | | | | G | |
| Giant cells | - | - | + | + | + | ++ | - | ++ |

UC, unfused control; FC, fused control; G, growth of cells was observed as in UC; -, giant cells were not observed at all; +, formation of giant cells was partially inhibited by the chemical added; ++, multinucleated giant cells were formed as in FC.

文 献

- 1) Bridge, T. P., Mirsky, A. F. and Goodwin, F. K.: "*Psychological, neuropsychiatric, and substance abuse aspects of AIDS*". Raven Press, New York (1988)
- 2) Dalgleish, A. G. and Weis, R. A.: "*AIDS and New Viruses*". Academic Press, London (1990)
- 3) Ehrlich, G. D. and Greenberg, S. J.: "*PCR-based Diagnostics in Infectious Disease*". Blackwell Scientific Publications, Boston (1994)
- 4) 三木隆他 34 名: エイズ医薬品候補スクリーニング研究, I. 1988 年度報告, 衛生試報, **108**, 128~131 (1990)
- 5) 野呂新一他 35 名: エイズ医薬品候補スクリーニング研究, II. 1989 年度報告, 衛生試報, **109**, 107~110 (1991)
- 6) 大竹徹他 40 名: エイズ医薬品候補スクリーニング研究, III. 1990 年度報告, 衛生試報, **110**, 88~91 (1992)
- 7) 小林伸好他 37 名: エイズ医薬品候補スクリーニング研究, IV. 1991 年度報告, 衛生試報, **111**, 100~102 (1993)
- 8) 関根大正他 36 名: エイズ医薬品候補スクリーニング研究, V. 1992 年度報告, 衛生試報, **112**, 130~133 (1994)

国立衛生試験所における情報と計算のための基盤環境 (NICI)

中田 琴子・中野 達也・神沼 二真

NIHS Information and Computing Infrastructure (NICI)

Kotoko Nakata, Tatsuya Nakano and Tsuguchika Kaminuma

We describe the information and computing infrastructure in National Institute of Health Sciences, which were constructed until May, 1996. The in house computer network and computing facilities for common usage in NIHS have been developed under the initiative of Division of Chem-Bio Informatics since 1989. The present LAN (Local Area Network) consists of coaxial cables and optic fibers which are connected by a LAN Switch. The LAN is connected to the Internet via IMnet, the inter ministry network back bone of the Science and Technology Agency. Various types of workstations and personal computers such as SUN WS, Silicon Graphics WS, IBM WS & PC, Macintosh, and NEC PC are connected to the LAN. This computing network environment which we named NICI (NIHS Information and Computing Infrastructure) not only provides network communications but also facilitates advanced computing systems for chemical safety research at NIHS as a COE.

Keywords : Internet, LAN, World Wide Web, computing systems, COE

(Received May 31, 1996)

はじめに

米国全体に NSF (National Science Foundation) の T1 (1.5 Mb/s) ネットワークが敷設された平成 1 年, 化学物質情報部は新たなミッションとして全所的な情報基盤構築を掲げた。パソコン (PC), ワークステーション (UNIX マシン), FAX, 直通電話とモデムの導入に始まり, イーサネットによるワークステーションと PC のネットワーク化 (LAN: Local Area Network), PC 用ネットワーク・オペレーティングシステム (OS) である NetWare の導入が細々と行われていた平成 4 年, 米国では NREN (National Research and Education Network) 配下のもとで NSF ネットの T3 (45 Mb/s) 化が完了していた。国内のインターネットとしては東京大学理学部を中心とする大学・国研間の TISN (専用回線 64~512 kb/s), 慶應大学環境情報学部を中心とする大学・国研・企業の研究開発部門間の WIDE (専用回線 64~192 kb/s), 東京理科大学を中心とする大学・国研・企業の研究開発部門間の BIT-NET/JOIN (専用回線 64~128 kb/s) があった。この他, 省庁内ネットワークとしては学術情報センターを中心とする文部省所管の大学・研究所間の SINET (専用回線 512 kb/s), 通産省国研間の工業技術院ネット (デジタルデータ公衆網の第一種パケット交換サービス<DDX-P>: 48 kb/s, LAN: 10 Mb/s, 100 Mb/s), 農水省国研間の農水ネット (DDX-P: 48 kb/s, 統合サービスデジタルネ

ット<ISDN>: 64 kb/s) があった。厚生省の研究機関としては, 厚生科学課傘下の 7 試験研究機関を結ぶ「厚生科学研究機関ネット」構想を打ち出したところ, 科技庁・通産省が中心となって企画した省庁間を結ぶ「省際研究情報ネットワーク」プロジェクトにも触発され, 平成 6 年度には予研, 平成 7 年度には衛試のネットワークが改善された。これにより, ハードウェアやソフトウェアも強化され, 全所的な 1 人 1 台体制に近い本格的なネットワークが整備されるにいたった。

我々は, こうした全所的なコンピュータネットワークの基幹部分と, 当部が独自に開発している各種の知識データベースや, 分子計算, 環境地理グラフィックスなどのシステムを含めて, これを COE としての「国立衛生試験所における情報と計算のための基盤環境, NICI (NIHS Information and Computing Infrastructure)」と呼ぶことにした。現在 NICI は全所的なコンピュータネットワーク, 情報リソース, 計算リソースおよびその他の情報サービス機能から構成されている。NICI は単なる全所的な業務や研究の支援システムではなく, 国内外の専門機関とのコラボレーションを可能にする高度な情報提供, 情報交換のためのシステムであり, それ自身, 化学物質と生命系の相互作用を分子レベルで解明したり, 化学物質の環境への影響を予測, 評価するための新しい研究の道具であるという性格を有している。

NICI は, まだ発展途上にあるが, すでにかかなり整備さ

れており、一部日常的にも使われている。またすでに多くの有用なシステムがその上に構築され始めている。以下では、NICIがどのような開発思想に基づいて整備されてきたか、現状ではどのようなシステムになっているか、さらに将来的にどのような方向に発展させて行こうとしているのかについて報告する。

1. システムの概念と開発思想

1.1 NICIの目的

厚生科学研究機関の研究事業は、国民の安全や健康の維持、生活環境の安全な管理、疾病の制御、医療などの分野において、「厚生行政およびそのサービスに違いをもたらす」科学的データ、評価情報、対策のための知識や技術などを生成、提供することを究極の目的としている。当然、NIHSの研究情報ネットワークは、こうしたデータ、情報、知識の生成過程を効率化し、またその迅速な外部への発信を可能ならしめることを目的としている¹⁾。

しかし、NICIは単に従来の仕事の効率向上を支援するシステムではなく、研究者の創造的な思考を助け、これまでにない新しい研究課題を構想し、また新しいスタイルの研究を生み出すための道具であることを目指している²⁾。すなわち、古典的な計算センターとしての機能だけではなく、研究者の創造的な思考支援機能も備えられることを目標としている。もうひとつ、重要なことは、NICIがインターネットへの接続と、その活用を前提としていることである。今日インターネットは世界的な研究者を結ぶ情報網に発展している³⁾。インターネットが提供する重要な機能のひとつはコラボレーションである。NICIは、衛試と国際機関、海外のCOE、国内の研究機関とのコラボレーションを支援する基盤でもある⁴⁾。こうしたコラボレーションは、衛試の研究機関としてのリーダーシップを高め、COEとして機能することに寄与すると考えられる。

1.2 開発思想

NICIの開発、整備に当たって第一に考慮したことは、ホストコンピュータを中心としたシステムではなくネットワークを中心とした分散型のシステムを指向したことである。現在、情報部は狭く、また移転が予定されている所全体でも共通のマシン室を設けるようなスペースがない。したがって、スーパーコンピュータはもとより、大型のホストコンピュータや超並列計算機のような、特別な電源や空調設備を必要とするマシンを入れる余裕は全くない。考えられるのは、パソコンや小型で高性能のワークステーションを、各研究室に分散させ、ネットワークで結ぶ分散指向のシステムである。

第二は、全所的なシステムの基幹に当たる部分やサービスに関しては、国際的な実績のある、いわゆる事実上の(de facto standard) 機器や方式を採用し、技術的には魅力はあるがまだ確立していない実験的なシステムは、情

報部あるいはその他の部で部内のシステムとして試せばよいという考えである。

第3はトップダウンで同一のマシンを、すべてのユーザーに配ることをせず、ユーザーが好きなマシンを基幹ネットワークに接続することを認めることである。これは予算が十分でなく、各部にトップダウンでマシンを配る余裕がないからでもあるが、研究機関である以上、各部門の独立性、創意工夫を尊重すべきであるという考えに基づいている。

最後は、迅速なシステムの開発体制である。全所的な情報基盤整備においては、常に開発方針や予算などを明らかにし、情報委員会など全所的な組織を通じてユーザーの声を聞き、開発の優先順位を決めるが、最終的なシステムのデザインと実際の開発や整備は情報部の判断で行えるようにしたことである。情報技術の進歩、状況の変化は猛烈に速いので、細かいことまで全体の会議で合意をとるといような従来型のやり方では、全く対応できない。そこで、情報部がイニシアティブをとり、必要なら所長・副所長の判断を仰ぎながら、迅速に開発・整備が進められる体制をとることにした。

2. NICIの基幹システム

当所の研究情報ネットワークのLAN整備は、用賀の本所と大阪支所で進んでいるが、筑波や他の薬用植物栽培試験場ではまだである。用賀では、イーサネットの同軸ケーブルと光ファイバーによる構内基幹回線に、コンピュータ、プリンター、(例外的に)計測器が多数接続されている(Fig. 1)。しかし、そのすべてが情報部で管理されているわけではない。そこでわれわれは、NICIを便宜上、情報部が管理している情報計算リソースに限定している。ここで管理しているとは、他の部のコンピュータには、IPアドレスを割りあて、ネットワークへの接続を管理しているという意味である。

NICIの出発点は、平成1年度に導入したSUN SPARC Station 1とSONY NEWS-1450、およびNEC PC-9801 VX 2台を1台のMPT(マルチポートトランシーバー)で連結した最小規模のLANである。その後、様々な研究費を獲得してワークステーションやPCを導入しつつ、外部のコンピュータネットワークと所内LANを拡充して今日に到った(詳しくはTable 1参照)。平成8年5月現在のNICIシステムの全体構成は、概念図Fig. 2であらわされる。以下では、この図に従い、主要な機器とシステムの構成を説明する。

2.1 インターネットへの接続環境

NICIのインターネットへの接続は、NTTの256 kb/sの専用回線を経由している。ちなみに、NTTの回線は128 kb/sまでは銅線であり、192 kb/s以上は光ファイバーである。後者の場合、工事を伴うことなくサービス契約

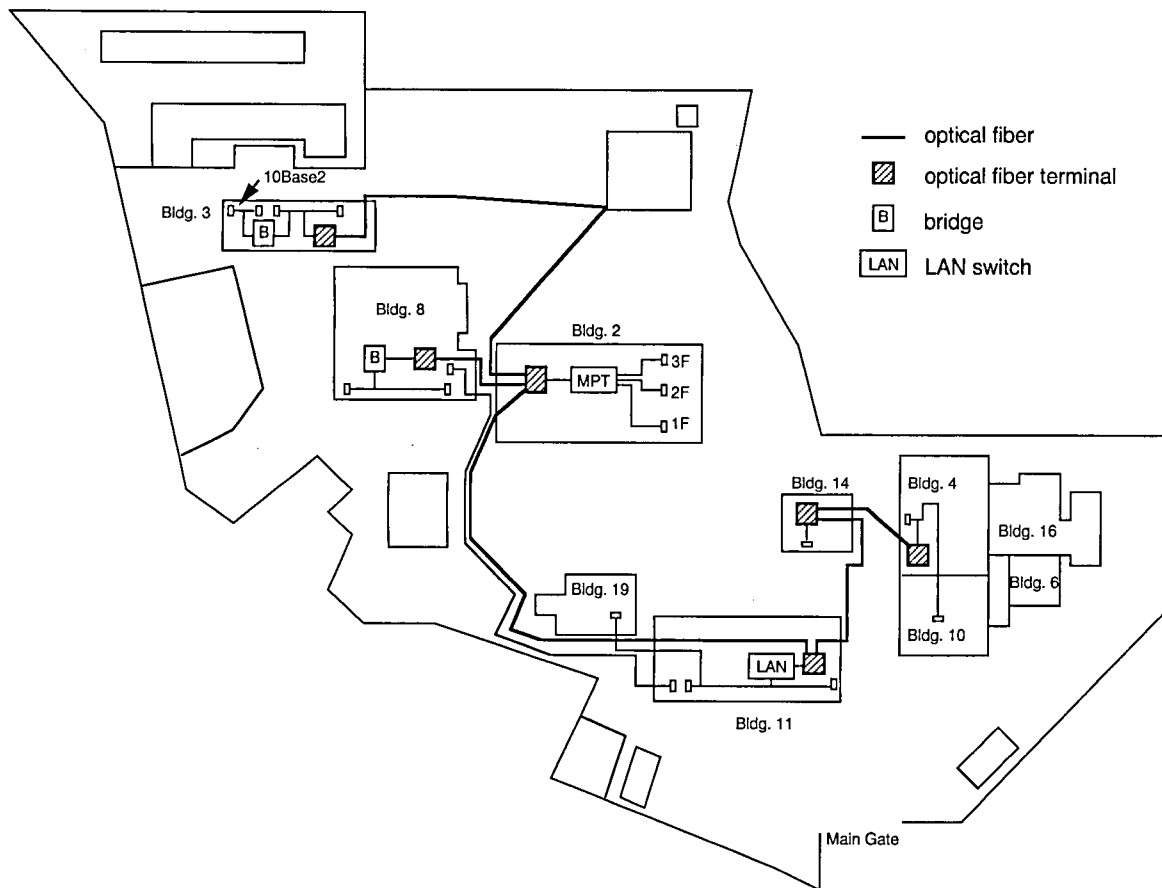


Fig. 1. In-house network back bone

の変更だけでさらに (1.5 Mb/s まで) 通信速度を上げることができる。この回線の先には科学技術庁の省際研究情報ネットワーク (IMnet) の東京センターがある。ここを経由して SINET, WIDE, さらに海外の他の基幹インターネットへ接続されている。

NICIにおいて、この外部への専用回線に接続されるのは、玄関口にあるルーターである。このルーターは外部の回線と内部のバリヤセグメントの LAN 回線の間に存在している。バリヤセグメントとは、LAN のうちファイアウォールの役割を果たすコンピュータの外側にある領域である。ファイアウォールとは悪意をもった侵入者を阻止する門番の役をするもので、実態はワークステーション (SUN SPARC Station 5) である。ファイアウォールは、外部からアクセス可能なバリヤセグメントと内部セグメントとの間に介在している。バリヤセグメントには、外部向けの通信管理、電子メールの管理、DNS (Domain Name Service) のための UNIX マシンが接続されている。一般公開を目的とした WWW (World Wide Web) サーバーもこのマシンに置かれている。

2.2 所内 LAN の構成

Fig. 1 で示されているように、所内 LAN はすでに構内の主要な建物間に敷設されている。費用の関係でこの配線

には、最初は銅線だけを使っていたが、雷の被害に遭うなどしたため、現在は、光ファイバーに交換している。これらの光ファイバーのサブ回線群は LAN スwitch に接続されている。これらの回線間の通信は 10 Mb/s である。またサーバー間の通信速度は 100 Mb/s に高速化できるようになっている。ATM (Asynchronous Transfer Mode) はまだ規格が固まっていないことと、費用の点から導入を見合わせている。

ファイアウォールの内部に位置する所内 LAN は、TCP/IP (Transmission Control Protocol/Internet Protocol) というプロトコル (通信規約) による基幹部分と、プロトコルを異にするネットワークから構成されている。現在使われている TCP/IP 以外のプロトコルは、NetWare のプロトコルである IPX, Macintosh で利用される Apple Talk および DECnet である。このうち、TCP/IP, IPX および Apple Talk は、ハードウェアレベルでは同じ環境にあるが、DECnet とは回線に関しても区別されている。ただし両者の間にファイアウォールを設け、DECnet 側のセグメント内のクライアントマシンからインターネットにアクセスできるようにする予定である。

2.3 主要サーバー

基幹 LAN には、以下のような共通性の高いサーバーが

Table 1. Developmental history of NICI

| | speed | |
|----------|----------|---|
| May '90 | | <ul style="list-style-type: none"> LAN test (SUN SPARC Station 1, SONY NEWS-1450 and client computers) |
| Aug. '91 | 19.2kb/s | <ul style="list-style-type: none"> Electric mail service by JUNET (Japan Univ. Net) Easy connection to outside computer centers |
| | 2400b/s | <ul style="list-style-type: none"> On-line database search and the file transfer on outside commercial computer through a telephone line and a modem in Library |
| Apr. '93 | | <ul style="list-style-type: none"> MEDLINE and Current Contents search service using NetWare and 4 series CD-ROM tower in Library |
| May '93 | 64kb/s | <ul style="list-style-type: none"> Internet connection via Genome Net in Inst. of MS, The university of Tokyo, and TISN (Tokyo Univ. International Science Network) by ISDN (Integrated Service of Digital Network, INSnet 64) |
| June '94 | | <ul style="list-style-type: none"> Installation of World Wide Web Network use of MEDLINE, Current Contents, CAS corrective index, using double 4 series CD-ROM tower in Library |
| Jan. '95 | 256kb/s | <ul style="list-style-type: none"> Joint in IMnet NIHS - Tokyo IMnet Center |
| Feb. '95 | 64kb/s | NIHS, Osaka - Osaka IMnet Node |
| Mar. '96 | 256kb/s | <ul style="list-style-type: none"> NIHS, Osaka - Osaka IMnet Node (upgrade) Installation of main server machines Optical fiber connection through buildings using a LAN Switch. |

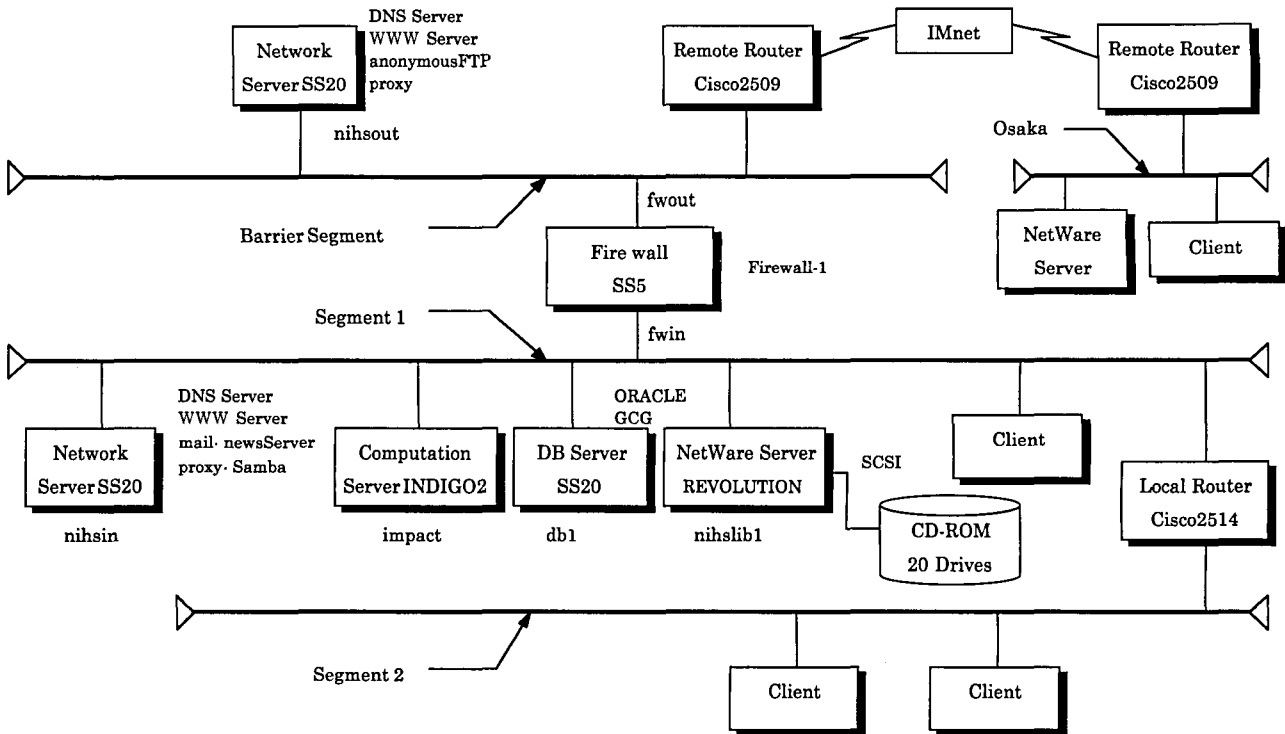


Fig. 2. Network configuration and main servers

接続されている。

- a) 外部公開用ネットワークサーバー (SUN SPARC station 20) : 外部向けのネットワークサーバー (DNS サーバー, メールサーバー, WWW サーバーおよび News サーバー) として機能する。
- b) 所内用ネットワークサーバー (SUN SPARC station 20) : 所内用のネットワークサーバー (DNS サーバー, メールサーバー, WWW サーバーおよび News サーバー) として機能する。また NICI 登録ユーザー全員の管理を行っている。
- c) データベースサーバー (SUN SPARC station 20) : 所内用と部内用に, それぞれのデータベース用サーバーマシンが各1台, 基幹 LAN に接続されている。リレーショナルデータベースである ORACLE (所内用サーバー) と SYBASE (部内用サーバー) が載っている。また所内用サーバーには, GCG (遺伝子解析ソフトウェア) および MEDLINE (医科学関係文献検索用データベース) が導入されている。
- d) 計算サーバー (IRIS INDIGO 2-Impact) : 化学物質と生体の相互作用を分子レベルで解析するための計算用サーバー。
- e) NetWare サーバー (REVOLUTION) : NetWare は PC を主体にしたネットワークオペレーティングシステムの代表格であり, ソフトウェアや情報の共有ができるが, NICI ではイントラネットを指向しているため, CD-ROM ドライブを 20 台接続し (Fig. 3), CD-ROM およびフロッピーディスクで提供されるデータベースの検索サービスに主として利用している。データベースにアクセスするためには, NetWare にアクセスでき, かつデータベースに対応したアプリケーションソフトがインストールされているクライアントマシンを使う必要がある。まだテスト中であるが電話回線を通して外部からこれらのデータベースを検索することも可能である。
- f) FAX サーバー : 各自のクライアント PC で作成した文章 (ファイル) を, ネットワークを経由してこのサーバーに送ることにより外部に FAX を送信できる。NetWare サーバーに接続して機能する。受信もできるが, 配送に運用上の問題があるため, 受信サービスはまだ行っていない。
- g) Windows NT マシン : Windows NT をインストールしたパソコンを数台実験的に基幹 LAN に接続し, サーバーとして利用している。

2.4 図書管理システム

図書館の雑誌や単行本の納入状況管理および利用状況管理のために北尾書店/三菱総研で開発された MaKLISLAN を導入した。このシステムは本来クライアント・サーバー

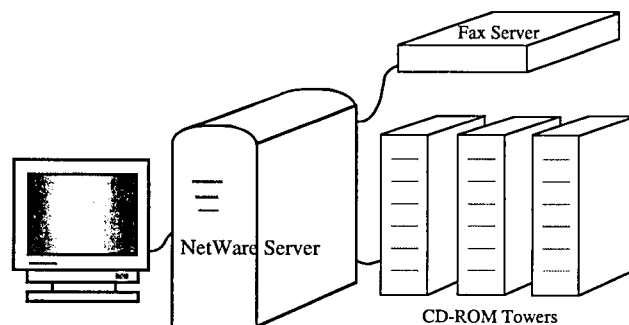


Fig. 3. Net ware server and CD-ROM tower

型であり, 所内 LAN とは独立に稼働していたものであった。しかし現在開発元と相談して, このシステムで管理している図書目録などの情報を所内の Web サーバーに送り, 所内 LAN から検索できるようにインターフェースなどを開発中である。

2.5 周辺機器

- a) ネットワークプリンター : パソコンの数が増えてくると周辺装置も含め, 設置場所が問題になってくる。そこで 5~10 台程度のワークステーションとパソコンが, 1 台のプリンターを共有する方式を運用している。クライアントパソコンからプリンターに出力するルートは, Windows NT 経由やアップルトーク経由など複数設定できる。
- b) カラープリンター : これは, 高画質のカラープリンター, カラーキャナー, スライド作成機などで構成されているネットワーク対応のパソコンシステムである。
- c) プロジェクター : UNIX ワークステーションやパソコン (Windows, Macintosh) を接続し, 画面をスクリーンに投影できる。

2.6 PPP (Point to Point Protocol) 接続ポート

これは, モデムを接続したパソコンからインターネットを利用可能にするものである。用賀本所に 4 回線, 大阪支所に 1 回線が運用されている。また公衆衛生院とルーターを用いた ISDN 接続を行っている。これは同院が省際ネットワークに専用接続するまでの期間の実験的な試みである。

3. NICI による研究支援の基幹サービス

3.1 所内情報システム

NICI はインターネットの通信プロトコルである TCP/IP をインハウスのネットワークプロトコルとして利用している。そのため所内だけの利用に限定した WWW サーバーを複数置くことができる。これを利用して, 研究情報の共有や情報交換, お知らせが可能である。こうした情報システムはイントラネットとも呼ばれる。現在はまだ十分なサービスがなされていないが, 当面目標としているサー

Table 2. Tentative service menu on the intra network

| | |
|--|---|
| • Electric bulletin board | Institute events Research manager meeting reports Activity reports of various committee In-house announcement |
| • Announcements of outside academic meetings and conferences | |
| • Information transmission with the electric mail | Meeting guide Other official announcements Information exchange |
| • Common files | Document form Staff's address book |
| • Communication between the clerical and the research staffs | Transmission of official paper form Budget control Electric note in the place of the paper circular |
| • On line paper for public relations | Bulletin of National Institute of Health Sciences (parts) Abstract of the administration reports Research results |
| • Library information | Library catalogue Journal supply reports |
| • Information on WWW | Institution guide Research information |
| • Answering service for questions | |

ビスは、Table 2のような項目（メニュー）である。

3.2 情報の提供と情報流通のハブ機能

NIHSはCOEとして安全、健康、環境分野のデータベースの開発や情報提供サービスを行っている。情報部でも、このような情報提供を行っているが、情報のコンテンツは、食品、医薬品、その他の化学物質に関する科学的なデータや知識が中心である。その一部は外部にも開放している。化学物質の安全性情報へのアクセスガイド、国際化学物質安全性カード (ICSC)、医薬品情報ガイドなどはそうした例である。WWWやデータベース機能をもつNICIは、こうした情報提供の基盤となるものである⁵⁾。

インターネットのWWWを用いれば、従来より格段に低コストで情報を提供できる。NICIの (UNIX上の) WWWサーバーには、とくにSAMBAというソフトウェアが導入しており、クライアントパソコン (Windows NT または Windows 95) からUNIXのWebページを直接操作することを可能にしている。これにより、UNIXに不慣れなユーザーでもWWWによる情報の提供、修正、追加が容易に行える。しかも、WWWはいわゆるマルチメディア対応であるから、写真など画像を蓄積しておいて、検索に供することができる。NICIでは、さらにクライア

ント・サーバー型のデータベース環境も整備されており、これとWWWを組み合わせた、WWWを介してデータベースを検索するという機能も提供されている⁵⁾。

インターネットが優れているのは、双方向性のある情報交換機能である。例えば、ニュースグループやメーリングリスト、Webの情報収集機能を組み合わせれば、専門家グループの情報収集や情報交換が効率的に行える。そこで、提供しようとする情報コンテンツごとに、作成、更新、利用者からの問い合わせ応答のためにインターネットを利用して、ブレーン (専門家集団) を組織することが可能である。この際決め手になるのは、やはりインターネット上の強力な情報交換機能である。NICIは、こうした機能を構築する環境を用意している⁵⁾。

3.3 情報の探索とビューイング機能

インターネットの普及も一因であるが、当所の業務に係るだけでも、膨大な情報がさまざまなメディアとチャンネルで提供されている。こうした情報の大海の中から必要な情報を効率的に探しだし、見やすい形にかえて取り出すのは至難の技になっている。現在多くの情報がインターネットに関連づけられるようになってきているので、まずインターネット上の情報を効率的に収集、分析する機能が重要である。そのためNICIでは、各種の情報をWWWでみられるように、いわゆるヘルププログラムを組み込んでいる。またVRML (Virtual Reality Modeling Language) など、ユーザー・フレンドリーなインターフェースも用意している⁵⁾。

3.4 NICIを基盤にした研究支援システム

NICIは、サービスの支援だけでなく、理論や計算を基盤とした研究のツールでもある。こうした研究とは、計算化学、あるいは計算生物学などと呼ばれるような研究課題である。例えば、情報部では、医薬品あるいは毒物の生体への影響を分子レベルで解明することを、重要な研究目標のひとつとしている。その基盤となるのは、低分子化合物および生体分子に関連したデータベースである。すでにCSD, PDB, PIR, Swiss Prot, GenBankおよびEMBLなど代表的な遺伝情報データベースや解析プログラム、オンラインおよびインハウスのシステムとして使用できるように整備されている。また各種の分子モデリングやグラフィックスなどのプログラムパッケージも使えるようになっている。

こうしたシステムは、理論研究だけでなく実験的な研究者にとっても必須の道であるが、さらにいわゆる構造活性相関解析や遺伝子の働きに原因する疾病とその治療に関する理論的なアプローチや、生命の素過程を明らかにする研究の基盤となるものでもある。

その他に、CCDカメラからの画像入力や、シリコングラフィックスの3次元を扱えるマシンを用いた画像解析と

グラフィックスの高度なシステムなどもすでに稼働している。さらに、環境汚染物質の分布調査や、食品汚染調査を「ハザード・モニタリング」と捉え、地図上にマッピングする3次元地理情報システムも開発している。基盤となるのは、ArcViewおよびMapInfoという地理情報システムであり、これにデータベースや3次元可視化ソフトであるAVS, VRMLを組み合わせて、多様な環境データを2次元、および3次元的に表現する強力な道具になっている。このシステムは将来、後述するGINC (Global Information Network on Chemicals) を地球規模の環境情報システムにドッキングするための基盤でもある。

4. 結 果

LAN 基幹回線が、曲がりなりにもほとんどの建物に伸び、全所的な利用が始まって約1年ほどになるが、大きな障害が発生したのは、平成7年8月の2度にわたる落雷の時だけである。それ以外は、所内の基幹回線や基幹サーバーなどネットワーク全体としては安定的に稼働している。また、この間接続希望者も急激に増加した。現在、用賀の所内LANに接続されているIPアドレスをもったマシン、すなわちワークステーション、クライアントPC、ネットワークプリンターの合計は、250台を突破し、本年中には500台に迫る勢いである。また大阪支所からは45台のPCが、省際ネットワークの幹線を經由して用賀のサーバーに接続している。筑波にはまだLANがなくダイヤルアップPPPの形で接続されているだけである。この他に、共同研究者や、仕事上の連絡などのために外部（所内LAN以外）からの利用者にアカウントを発行している。この中には本省の関係者や海外在勤者が120人ほど含まれている。

利用内容では、電子メール、WWWの検索が最も多い。(Net Newsの) ニュースは、配信しているものの、利用方法のアナウンスが行き渡っていないこともあって、十分活用されているとはいえない状況である。

WWWによる情報発信は、平成6年の6月、当部が実験的にNIHSのホームページを立ち上げたことから始まったが、現在用賀では情報部以外で立ち上げられたWWWサーバーが2つあり、またWWWによる情報発信をテーマとした学会発表もいくつか行われている。

情報部は、WWWとデータベースを組み合わせたシステムによる外部利用者を意識した化学物質の安全性情報の発信⁶⁾と医薬品情報⁷⁾の発信の実験を行っている。これらのWebページへのアクセス件数は、まだ月間数千件程度であるが、研究機関へのアクセス件数としては少なくないと思われる。

所内LANの利用に関しては、すでにホームページにリンクした所内用のお知らせのためのWebページ「NIHS掲示板」を開設しているが、全体としてまだ準備段階にある。それでも主として情報委員へのネットワーク整備上の

連絡、所内報、委員会のお知らせ、委員会の議事録の閲覧などに利用されている。現在事務部門のPC接続を優先して急いでいるので、事務連絡における利用は、間もなく急上昇すると予想される。

CD-ROMデータベースの利用も試験的に開始されたところであるが、一度に十数年分の文献を検索できたり、種類を異にする複数のCD-ROMを横断的に検索できること、24時間図書館に出向かずに自らのPCから検索できることなど、便利になったと評価されている。ただ、現行のシステムではMEDLINE以外はマックが検索マシンとして使えないなど、改良すべき点も残されている。この他の図書館システム、FAXサーバーなどはまだ準備段階であり、正式なサービスはこれからである。

インターネットへの接続環境が整ってきたことによるひとつの成果は、国際機関や海外の研究機関との新しいコラボレーションが始まったことである。そのひとつの例がGINCである。GINCは、化学物質の安全管理に関係している国際機関と各国の機関がインターネットを通して情報交換とコラボレーションを行うというわれわれが提唱した構想である。すでに、ホームページを開設するなど、当部がGINCの技術面の推進力となっているが、これはNICIが整備されて始めて可能になったことである。他部においても、NICIを利用した協同研究や協同作業が増えつつある。

考 察

NICIの開発、整備が始まるまで、当所には全所的な共同利用のための計算施設は存在していなかった。すでに米国やヨーロッパのCOEや国内大学などでは、1980年代の中頃から機関内LANが整備されていた。この意味で当所は遅れていたことになる。この計画を支援されていた内山充前所長の言葉を借りれば、これでようやく「他と同じレベルに追いついた」ことになる。正式な予算項目が建てられたとはいえ、NICIのこれまでの予算は、所内の他のプロジェクトや、予研などのネットワーク整備と較べても少ない。それゆえ、われわれが直接開発、整備したのは基幹部分だけであり、あとは各部の自主的な参加と努力に任されていた。

しかし、この手作り方式が、結果として各ユーザーの技術レベルを高め、Webページの作成に見られるような創意工夫を呼ぶことになった。インターネットの急速な普及に伴い、インターネット・リテラシー（インターネットを使いこなす技能）が社会的に問題となっているが、当所は丁度良い時期にインターネットに接続し、情報の取得と公開を開始したといえる。

インターネットの普及により、研究機関がこれまで蓄積してきた知識や情報やデータ、ソフトウェアなどを、

WWWやデータベースによって公開するようになった。これは、比較的新しい世界的な動きであるが、こうしたことも国の研究機関の重要なミッションになってきている。とくに厚生科学研究機関は、国民が日常で最も必要としている安全、健康、環境に関する科学的データベースを生成、収集しており、優れた専門家も養成している。したがって、知識と情報の公開は、大きな責務になっているといえよう。

インターネットのような地球規模のネットワークの存在は、研究事業の国際化が進んでいる現在、必須の道具になっている。当所の基幹ネットはすでに当部が窓口のひとつになっているIPCSやIRPTC以外にも、連絡、文書交換などで日常的に使われるようになってきている。当部を例とした場合、ネットワーク導入によって、仕事の効率は3倍から5倍程度に上がったというのが実感である。これをさらに進めたのがGINCプロジェクトである。GINCプロジェクトの有用性は、すでに国際化学物質安全性フォーラムなど国際的に認められており、ECのJRC (Joint Research Center) および米国EPA (Environmental Protection Agency) などとの協同研究も打診されている。これはNICIを構築した成果である。今後は、NICIを基盤として他の国研や地方衛生研究所とのコラボレーションも具体化してゆくことを考えている⁸⁾。また、これまでのNICI開発では、情報環境の整備に集中していた。これからは、計算の領域におけるCOEとしての機能の整備に焦点を合わせてゆく予定である。

最後に今後の課題をいくつか述べておきたい。まず、純粋に技術的な課題は3つある。第1はインターネットの通信回線容量の増大、所内LANの高速化である。とくに、外部への接続は、1.5 Mb/s程度に上げておくべきであろう。第2は、現在の貧弱な計算パワーを桁違いに（できれば、数十ギガフロップス程度に）増強することである。これによって大規模な分子計算や環境影響予測計算などが可能になる。第3は、テレビ会議など映像伝達技術の導入である。これにより、例えば所内の研究集会などの映像をリアルタイムに離れた場所に配信できる。

しかしこうした技術的な課題よりもっと重要なのは、発展のための体制である。われわれは現在のNICIで、全所的な情報提供のための基盤が曲がりなりにも整ったと考えている。しかし、この分野のさらなる発展には、これまでも増した全所的な協力と、厚生科学課の理解と支援が必要である。

実際、インターネットが先導する情報技術革命は、始まったばかりであり、本格化するのはいずれからである。そして、おそらく情報基盤の充実が、最早単一機関で対応できる範囲を越え、厚生科学研究戦略全体のなかで考えなければならない最重要課題のひとつになって行くのではないかと予想される。例えば、研究公務員の定員は通産省が約

5000人、農水省が4500人なのに対し、厚生省は1000人ほどであり、厚生省が国民の生活に果たす役割に較べて少な過ぎると思われる。研究情報ネットワークは、こうした厳しい状況で、研究を活性化するための重要な手段となりうる。この意味で厚生省傘下の厚生科学研究機関のネットワーク関係者の横断的な連絡機構を設け、将来はこれを地方衛生研究所や保健所などに拡大するとともに、医療（研究）機関の同様な連絡会と合流させてゆくことが考えられるのではないか。

情報部は、こうした事態を想定して、NICIを開発整備しているが、要員、スペースとも不足しており強化が望まれる。また所内におけるイントラネットの本格的な構築と適切なサービスには、現在試みているような外部からのヘルプデスクサービスが絶対に必要である。実際、ネットワークのセキュリティ対策のために踏み切ったファイアウォールの導入は、予想をはるかに越えるトラブルをユーザーにもたらし、対応には相当の人と時間をとられた。新しいシステムの導入や改訂の際には、それによって起こりうる影響をあらかじめ想定し、対応策を考慮しておくべきであり、また同じような症例は電子メールや掲示版を使って公開することにより、個々の対応も早くできる。したがってNICIの基盤ネットワークと基幹サービスは、できるだけネットワークを熟知した外部業者に依頼し、その財源の一部は所内の共通経費とするような方向を早めに検討しておくべきであろう。

謝 辞

平成1年度から始まった本開発整備事業は、歴代の谷村顕雄、内山 充、寺尾允男所長、斎藤行生副所長、福永幸雄前総務部長らの理解と支援の下に進められた。初期の所内ネットの立ち上げでは、情報部の大上徳子非常勤研究員、その後は中央大学からの卒研生であった小松賢治、石川恵司、宮坂俊範氏らの協力を得た。インターネットの利用に関しては、宮沢三造群馬大学工学部助教授、文部省科研費によるゲノムネットグループ（東大医科研および京大化研）の金久實教授ら、科学技術振興調整費による省際研究情報ネットワークプロジェクトの関係者には大変お世話になった。また日立電線(株)および日立ソフト(株)の諸氏には研究情報ネットワークシステムの構築について協力していただいた。所内基幹回線の敷設では、総合評価室と総務部とくに会計課施設係の協力が不可欠であった。各部の関係者とくに情報委員の尽力も大きな支えであった。さらに厚生科学課とくに本構想の本格的な立ち上げの時期の担当官であった北条泰輔氏らの支援にも大変助けられた。この他にも情報部のメンバーを始めとする多くの方々の御協力を得ている。ここに深く感謝する。

文 献

- 1) 神沼二眞：研究を支援する情報計算基盤状況について，公衆衛生研究，**44**(1)，110～21 (1995)
- 2) 神沼二眞：これからの創薬と情報部内の新しい役割—“ピカ新” 発展プロセスに如何に参画するか，薬学図書館，**39**(3)，179～185 (1994)
- 3) Pibe, M. A.: Using the Internet (2nd. ed.), Que Co., Indianapolis (1995)
- 4) 神沼二眞：インターネットが開く新しいコラボレーションの可能性，ふんせき，投稿中
- 5) 神沼二眞ら：インターネットによる情報提供のための基盤システムの開発，衛試報告 (本号)
- 6) 大竹千代子ら：Web による化学物質安全性情報の提供，衛試報告 (本号)
- 7) 山本美智子ら：Web による医薬品情報の提供，衛試報告 (本号)
- 8) 神沼二眞：インターネットを基盤とした厚生科学研究の広域ネットワークの構築について，食品衛生学雑誌，**37**(3)，J137～J144 (1996)

インターネットによる情報提供のための基盤システムの開発

神沼 二真・中田 琴子・中野 達也
五十嵐貴子・石川 恵司・燕山 典子

Development of a Base System for Information Dissemination of the Internet

Tsuguchika Kaminuma, Kotoko Nakata, Tatsuya Nakano,
Takako Igarashi, Keiji Ishikawa and Noriko Kabuyama

The development of information and computing infrastructure at NIHS (NICI), enabled us to provide a good environment for storing information that can be accessed by the Internet. Information can be stored either on WWW servers or on databases. All databases were developed on PC using database management systems such as 4th Dimension or Access, and were transferred to a UNIX machine with the database management system Sybase. A tool for accessing databases via the WWW (Web) was developed. This interface program used a freeware called Genera. Tools were also implemented for handling the so called VRML worlds.

Keywords : Internet, World Wide Web, database, VRML

(Received May 31, 1996)

はじめに

現在インターネットは、新しい情報技術として爆発的に成長している¹⁾。その大きな推進力となっているのが、WWW (World Wide Web の略、ダブルユ・ダブルユ・ダブルユと読む、または W3 (ダブルユスリー) ないし Web (ウェブ) ともいう) である²⁾。WWW は、双方向性のある情報提供システムであること、従来のデータベースと違って専門知識のあまりない者でも情報発信ができること、画像や音などいわゆるマルチメディアが扱えること、開発コストが少なくすむこと、などの長所がある。それだけにとどまらず WWW は、個々のコンピュータだけではなく、インターネット上に接続されている多数のコンピュータ上の情報資源を有機的に結びつけ、巨大なサイバースペース (情報空間) として統合することができる技術である。こうした特徴を備えた情報メディアは、人類の歴史において WWW が最初である。ここに WWW の、そしてインターネットの真の革命性がある。

当部では部内 LAN のインターネットへの本格的な接続が始まった平成 6 年秋頃より、WWW による情報提供実験を開始した。また平成 7 年度にはデータベースによる情報提供システムの基盤を整備するとともに、複数の DB (データベース) を WWW を介してアクセスする実験にも成功した。さらに VRML (Virtual Reality Modeling Language) によるハイパーリンク可能な 3 次元対象物モデルの作成やブラウザによる表示システムも開発中であ

る。こうした実験を通じて、COE を指向する当所として、どのような情報提供システムが構築できるかという可能性も次第に明らかになってきた。そこで平成 8 年度からは、「可能性を探る」ことを目的としたこれまでの実験を、「本格的なサービスに発展させるための準備のための」実験に格上げして取り組むことにしている。

以下ではインターネットを用いた情報提供に関するこれまでの実験の概要と結果および今後の計画について報告する。なおこの報告では、内容を情報提供の基盤となる情報システムの構築技法に限定し、具体的な提供内容 (コンテンツ) については、別の報告に譲ることとした。

情報提供システムの開発

基盤となる NICI

われわれが実験のために開発したシステムは、NICI (NIHS Information and Computing Infrastructure) を基盤にしている。NICI については別な報告³⁾があるので、詳しいことはそちらに譲り、以下では、WWW と DB による情報提供に関係した部分についてのみ説明する (Fig. 1)。NICI は基本的にクライアント・サーバー型のシステムである。クライアントとしては、マッキントッシュ、PC/AT (IBM DOS/V) 互換機、NEC PC-98 (ただし Windows マシン) を想定している。またサーバーマシンとしては、SUN, IBM, シリコングラフィックス⁴⁾のワークステーション、Windows NT あるいは UNIX を搭載したパソコンを想定している。

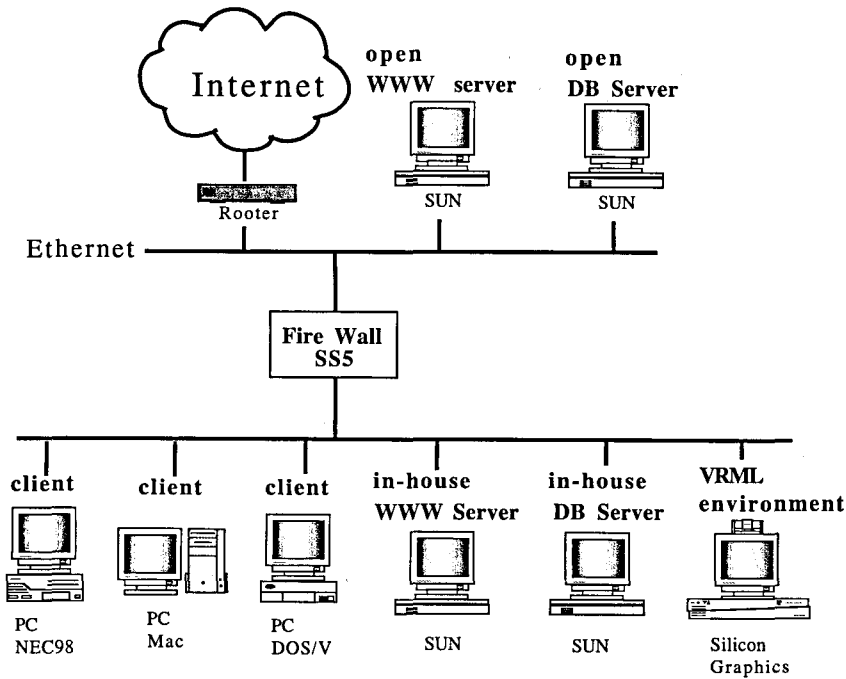


Fig. 1. The client server systems for WWW and database search on the LAN at NIHS

これらのうち、不特定の外部ユーザーが直接アクセスできるのは、ファイアウォールの外側にある Web あるいはデータベース (DB) サーバーだけである。ファイアウォールの内側におかれているサーバーにアクセスできるのは、同じくファイアウォールの内側にあるクライアントマシンである。ファイアウォールの内側はそれだけで閉じたインターネットの世界、すなわちイントラネットを構成している。イントラネットの Web や DB サーバーを使えば、所内、部内、室内、個人利用に限定した情報提供システムが構築できる。Web や DB による情報提供に関する限り、イントラネットはインターネットと同じ技術を使うことができる。したがって、以下では両者を区別しない。

WWW による情報提供システム

WWW も基本的にクライアント・サーバー型のシステムである⁹⁾。WWW サーバーは html ファイルを初めとする Web ページを構成する各種のファイルを管理する (Fig. 2)。それと同時に、クライアントの求めに応じて他の URL (Uniform Resource Locator) サイトから情報を取り寄せる仲介役も果たす。WWW のクライアントは、俗にブラウザと呼ばれるプログラムである。ブラウザは、サーバーから受け取った情報を見やすい形で表示する他、他の有用な情報サイトへの案内や、情報検索の機能などを行う。

WWW によって自らも情報を発信しようとする、まず WWW サーバーを立ち上げ、これによってハイパーリンク可能な html その他のファイルを管理させる必要がある。ここで WWW サーバーを立ち上げるとは、インター

ネットに登録された (IP アドレスをもった) サーバーマシンに WWW サーバー用のソフトウェアをインストールすることを意味する。

平成7年度までの WWW サーバーは、通信サーバーが置かれていたのと同じ SUN SPARC Station IPC 上に置かれていた。ファイアウォールを導入した現在では、SUN SPARC station 20 2 台をファイアウォールの外側と内側において、そこに所外用 WWW のサーバーおよび所内用 WWW のサーバーを置いている。NIHS のホームページが置かれているのはこの所外用のサーバーである (Fig. 1)。この他に所内用には、ペンティアムのような高性能の CPU をもったパソコンに、OS として Windows NT をインストールしたマシンが数台用意されている。これらは、部、室、個人単位での WWW による情報発信のためである。

WWW サーバー用のソフトとしては、NCSA httpd を採用した。これは Ftp サイトから入手したものである。このソフトを含めてわれわれの実験で使用した各種のソフトウェアと入手サイトの一覧表を Table 1 に掲げておく。

Web ページ作成ツールとビューア

WWW 上の情報コンテンツ、すなわち Web ページは HTML ファイルを主とし、これに画像や音のデータファイルが組み込まれたものである。Web ページをデザインしたり、ワープロで作成された文書を HTML ファイルに変換したり、内容を更新したり、文書以外の画像、動画などのファイルを扱う様々な支援ツールがすでに開発されている。今回の実験では、UNIX サーバーに SAMBA を組

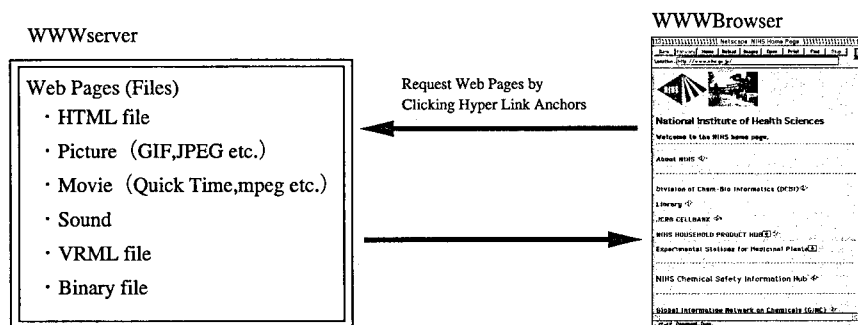


Fig. 2. The WWW server and Browsers are a client sever type system on a TCP/IP net work. A Web browser requests a Web page and the Web server returns it

Table 1. A list of software that were used in our experiment

| [Free software and share ware] | |
|----------------------------------|--|
| (1) | Netscape, http://www.netscape.com/index.html |
| (2) | WebSpace, http://webspace.sgi.com/WebSpace/index.html |
| (3) | Genera, http://gdbdoc.gdb.org/letovsky/genera/genera.html |
| (4) | RasMol, ftp://ftp.colonsay.dcs.ed.ac.uk http://www.umass.edu/microbio/rasmol/getras.htm |
| (6) | NCSA httpd, ftp://ftp.iij.ad.jp/pub/network/WWW/Web/ |
| (7) | SAMBA, http://lake.canberra.edu.au/pub/samba/samba.html |
| [Commercial software] | |
| (1) | AVS, Advanced Visual Systems Inc. |
| (2) | Sybase, Sybase Inc. |
| (3) | Oracle, Oracle Inc. |
| (4) | ODBC, Sybase Inc. |
| (5) | ACCESS, Microsoft Inc. |
| (6) | 4 th Dimension, ACI Inc. |
| (7) | Paradox, Borland Inc. |

み込んだ。SAMBAはクライアントである、Windows 95やWindows NTからUNIX上のWWWサーバーが管理しているHTMLファイルの操作を可能にするもので、システム管理知識のないユーザーでも、容易にWWWのページを修正、更新ができるようになった。また最近出されたWebページの作成支援ツールである、Internet AssistantやNetscape Navigator Goldによる、通常文書のHTMLファイルへの変換も試みた。またHTMLファイル以外の画像や音、動画などの再生には、ブラウザーにヘルププログラム (Table 2) を組み込まなければならないが、とくに分子を立体的モデルとして表現するにはRasMolを組み込んだ。RasMolを用いると、分子の3次元座標を提供しているNIHやNIEHSなどの物質データベースの検索時に、立体的イメージを同時に見ることができる (Fig. 3)。

データベースによる情報提供システム

データベース (DB) による情報提供システムも基本的

にクライアント・サーバー型である。われわれは、すべてのDBがまずパソコン上で、何らかのデータベース管理システムを用いて開発されると仮定している。そうしたデータベース管理システムとしては、マッキントッシュでは4th Dimensionであり、WindowsマシンではParadoxやACCESS、あるいはEXCELを想定している。DBのサーバーマシンは、SUN SPARC Station 20である。DBの管理システムにはOracleとSybaseを採用しているが、これまでの実験は専らSybaseによって行われた。これらのパソコンとワークステーションのデータベース管理システムは、クライアント・サーバー型のシステムを構築できる関係になっている。すなわち、パソコン上で開発されたデータベースは、容易にワークステーション側に移植でき、しかもユーザーがそれを再びパソコンで以前と同じ感覚で扱うことができる。こうした連結性を保障しているのがマイクロソフト社が提唱したODBC (Open Database Connectivity) という1種の規約である。例えばクライアント (パソコン) のACCESSで開発されたシステムをサーバーのSybaseに移植し、それをサーバーに接続されたクライアントから見ると、ACCESSに管理されていたシステムと同じ感覚で扱えるのである。一般にこうしたデータベースを外部から利用する場合は、まずTelnetでサーバーに (リモート) ログインすることになる。一度ログインしてしまえば、後はLANと同じクライアントサーバーと同じ感覚で検索が可能である。

WWWとDBを仲介するインターフェースの開発

WWWを介してデータベースにアクセスする方法はすでにいく通りか開発されているが、基本的には、いずれもCGI (Common Gateway Interface), ゲートウェイ (CGI) プログラム, データベースとのインターフェースという3種類のプログラムを仲介させる方法をとる。すでにSybaseやOracleなど著名なデータベース会社では、自社のソフトウェア専用のデータベースのインターフェースを開発中である^{5,6)}。また、Netscapeのようなブラウザ

Table 2. A list of help programs for handling different types of files

| File Type | Extension | Netscape2.0 | Helper Applications | |
|-------------------------------|--------------|------------------|---------------------|------------------|
| | | | Windows | MAC |
| Text | html | internal | | |
| Picture | gif | internal | | |
| Picture | jpeg | internal | | |
| Sound | au,snd | helper | Naplyer | SoundMachine |
| Sound | wav | helper | Mplayer | SoundApp |
| Sound | ra,ram | helper | RealAudio Player | RealAudio Player |
| Movie | mpg,mpeg,mpe | plugin | PREVU | |
| | | helper | MpegPlay | Sparkle |
| Compression, Decompression | hqx | helper | BinHex | Stuffit Expander |
| Compression, Decompression | sit | helper | | Stuffit Expander |
| Compression, Decompression | zip | helper | Winzip | MacZip |
| Molecular Graphics | pdb | helper | RasWin | RasMac |
| VRML | wrl | plugin helper | Live3D WebSpace | |

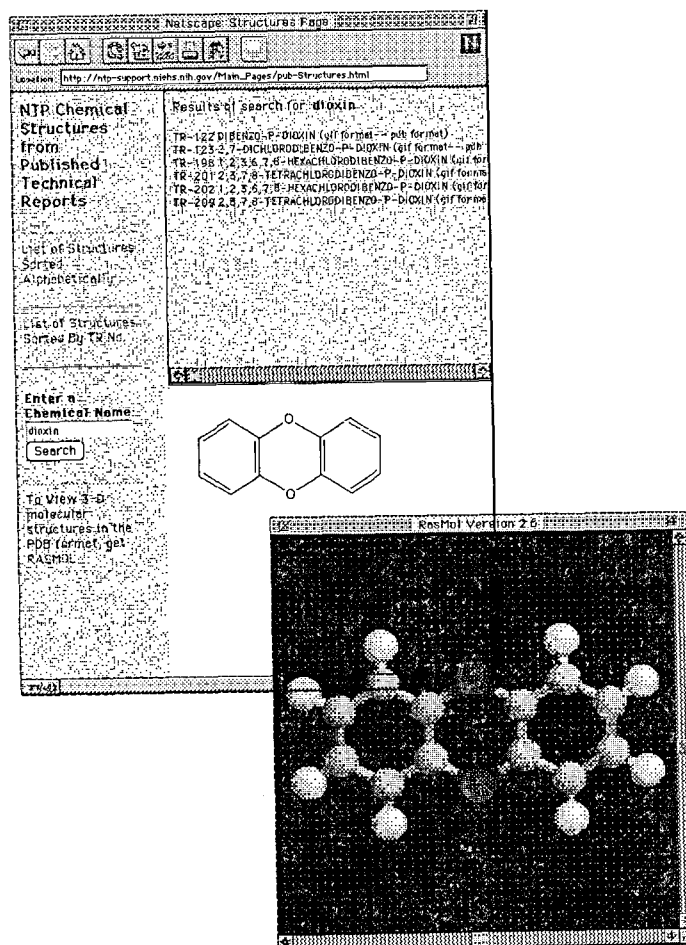


Fig. 3. The help program Ras Mol enables 3D molecular imaging for NTP database of NIEHS

一ソフトを出している会社では、CGIやゲートウェイプログラムの組み込み機能をブラウザに付加するようになってきている。すなわち、WWWとデータベースの双方が、それぞれ相手に対するインターフェースを開発して歩み寄ろうとしているところである。ただし、そのうちのどれが主流になるか、状況は流動的であり、また商品ソフトの発展も遅れている。そこでわれわれは、これらとは独立なインターフェースソフトである Genera を用いた連携システムを開発した。

Genera はアメリカの Stanley Letovsky がゲノムデータベース用に開発した WWW と Sybase の連携ツールである。フリーソフトであるので日本語はサポートされていないが C と Perl で書かれたソースコードが公開されている。そこでこのソースを入手して日本語機能をわれわれ自身で付け加えた。この際使い方なども含めて、原作者と電子メールで頻りに連絡し合った。Genera の基本機能は

- (1) WWW サーバーから発せられた HTML 文書による検索内容を解読する
- (2) 解読した検索内容を Sybase への標準的な問い合わせ言語 (SQL) に変換する
- (3) Sybase (の管理ソフト) から出された検索結果を、HTML 文書に変換して、WWW サーバーに渡すことである (Fig. 4)。

VRML 環境の整備

VRML は WWW のブラウザ上に移動、回転、縮小、拡大などの操作ができ、かつ部分領域にハイパーリンクが張れるような 3次元対象物 (バーチャルリアリティ, VR) の世界を構築する技術である⁷⁾。VRML は HTML の拡張言語であり、HTML が 2次元の文章や画像を対象とする

のに対して、3次元の空間を対象とする。3次元空間の表現は分子の立体構造の表示に不可欠である。かつ VRML は SGML (Standard Generalized Markup Language) の拡張であるので、クライアント側でビューアを用意する必要が無い (しかし現在は開発途上であるので、機種によってはクライアント側にビューアを組み込む必要がある場合もある)。したがって VRML は構造情報の提供に有用である。

我々は VRML 環境を扱うために、Indy と Indigo 上の VRML 支援ソフト、AVS、WebSpace、VRML のビューア (Live 3D) を組み込んだ Netscape 3.0 (ベータ版) を導入した。

実 験

以上のような環境整備と併行して、WWW とデータベースのそれぞれに、逐次実際に情報を置いてみた。WWW として最初に試みたのは、英文による衛試の案内であり、その内容は主として最新版の英文カタログを参考とした。ここで、日本地図の上に各事業所を配したクリッカブルマップや、本所への案内地図のような画像ファイル (GIF ファイル) の扱いも試みた (Fig. 5)。

つぎにこれまで当部で作成してきた文書類を中心に化学物質の安全性や医薬品などに関する各種の情報を html ファイルに変換し WWW による情報提供を試みた。そのうちの一部はマンチェスター大学の A. J. Emanuel らの Pharma Web であるが、これは同大学のミラーサイトになっている。すなわち、この Web ページはマンチェスター大学の内容が更新されると、自動的に更新されるようになっている⁸⁾。

もうひとつの情報群は、関連する国内外の WWW サイトへの案内である。ここでは、当所の業務と関連のある国際的な COE や、国内の学術研究機関を広く網羅している。これらのサイトにはもちろんリンクが張られているので、サイト名をクリックすることで、実際にそれらのサイトに飛ぶことができる。

データベースとして Sybase 上に移植したのは、当部がこれまで主としてパソコン上に開発してきた Fig. 6 のようなデータベースである。

WWW を介してデータベースを検索する実験ではまず、Sybase 上に 1つのデータベースを置いて、Web から検索することを試みた。つぎに複数の個別データベースを同一の Sybase に置いた、統合的な検索実験を試みた。そのために、どのデータベースにどのような項目の情報があるかを案内してくれるインデックス、あるいはデータベースディレクトリー (ないし逆引きデータベース) をあらかじめ作成した。このインデックス (ディレクトリー) データベースは、簡単に言えば化合物の識別情報と、各データ

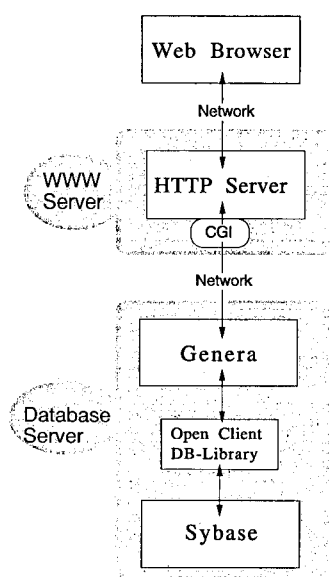


Fig. 4. An interface program Genera that enables database access via WWW

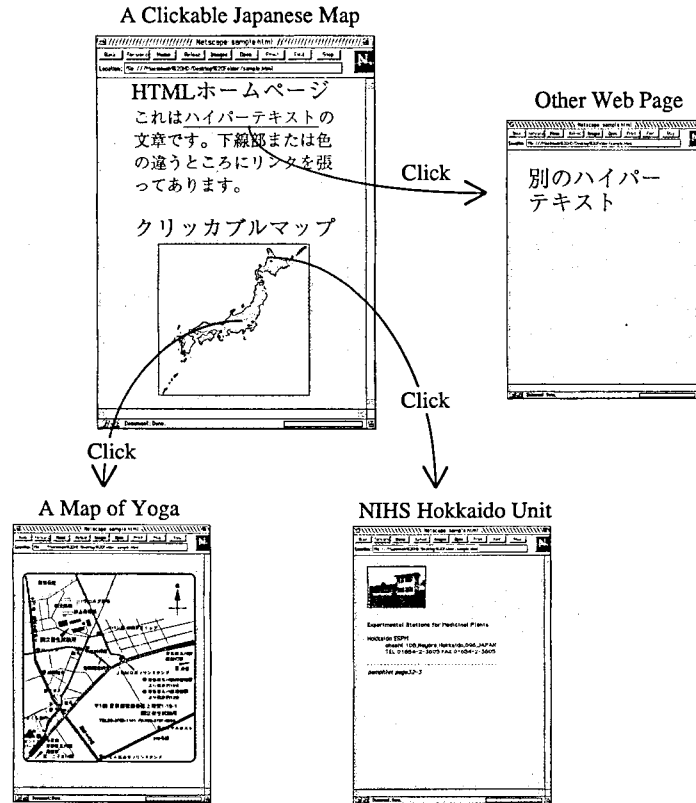


Fig. 5. The clickable map that indicates various NIHS research unit sites

DCBI Database Server

English Resources

- Index Database
- IARC Database
- Promoter Database
- CBI Database
- DRUG Database
- ECETOC
- Cell Signaling Networks Database
- KEMI-Chemical Substances Lists in the Swedish Sunset Project-
- Molecular Disease Database

Japanese Resources

- TIP database
- Law database
- CHIKEN Database

Fig. 6. List of databases already installed on our Sybase. These databases can be accessed via WWW. One can cross search these databases through the WWW

ベースに収録されているデータの項目のリストである。もちろん、この検索も Web を介して行われる。

実際の検索は、ブラウザから、調べたい化合物名（ないし部分）と項目情報を入れて、どのデータベースに情報があるかを知り、つぎに、リストに上がったデータベースに飛んで、詳しい検索を行う、という 2つのステップになる。この方式では、個々のデータベースを分散した、地理的にも離れた Sybase サーバーに置くことができる。この実験は、国立衛生試験所、東京都臨床研、お茶の水女子大情報学科のコンピュータを用いて行われた。

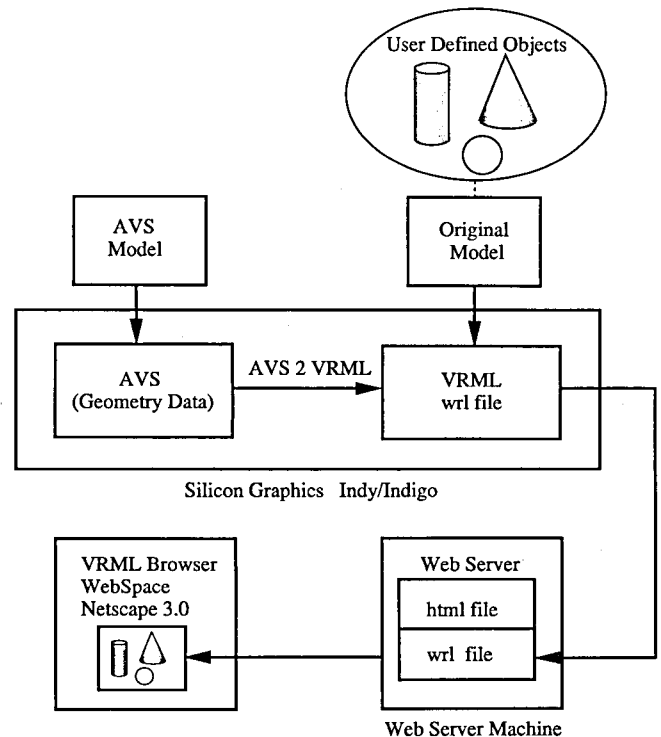


Fig. 7. Methods of making VRML worlds

この他に、各種のネームリストや住所録を統合することも試みた。この場合は、個別に作成されたネームリストや住所録をまず ACCESS に登録し、これを Sybase に移植

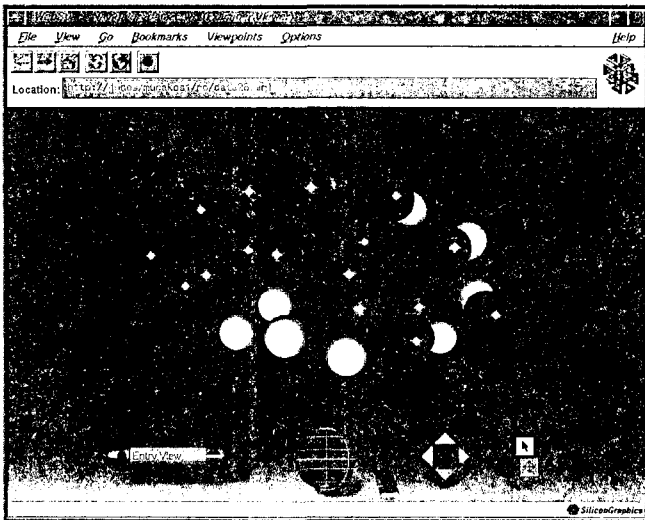


Fig. 8. A VRML cellular graphics model of embryo development of a nematode, *C. elegans*

し、WebからSybaseを検索することや、ODBCを利用して、ACCESSからSybaseの内容を更新することを試みた。なおACCESSとEXCELなどはデータ交換機能があるため、EXCELに入った住所録のSybaseへの移植は簡単に行える。

さらに、VRMLに関しては、分子グラフィックス、線虫(*C. エレガンス*)の胚発生のグラフィックス、3次元地理情報表示という3種類の課題に関するシステムを開発した。Fig.7はその方法を示している。例えば、分子グラフィックスや地理情報ではシリコングラフィックス上でAVSを経由してVRML(wrl)ファイルを作成し、これをシリコングラフィックス上のWWWサーバーに置き、シリコングラフィックスのWebSpaceあるいはWindows 95マシンのNetscape 3.0(ベータ版)をブラウザとして表示させることを試みた。また線虫の胚発生のグラフィックスでは、細胞の空間座標データから3次元モデルのVRMLファイルを生成するプログラムを自作した(Fig.8)。

結 果

平成6年秋から平成7年春に至る、およそ1年半の実験を通して以下のような結論を得た。まずWWWによる情報発信は、DB等による従来方法に較べて、

- (1) 圧倒的に簡便であり、研究のコンサルタントやアシスタントでも、多少のトレーニングを受ければ、情報コンテンツを自分で作成できる、
- (2) 日本語なら全国、英語版なら全世界から、利用される、
- (3) 開発コストが極めて低い、
- (4) それぞれの情報コンテンツが独立ではなく有機的に

連携された形で利用(検索)されうる、

- (5) 情報の修正、更新、追加が楽である、などの長所が実感された。

一方、問題点としては、当方のWebページにリンクを張るのではなく、その内容を勝手に改悪し、独自のブランドのようにして提供しようとする者が出現したことである。また情報を載せることは易しくなったが、信頼され、しかも利用されるWebページを提供し続けることは、やはり研究者の片手間仕事では無理であり、この仕事に専任する専門家が必要であることも明らかとなった。とくにWHOやCDC, FDA, EPA, その他の専門家による各種のニュースグループなどの、高度で膨大な情報を適切に選択、要約、編集、翻訳、解説するには、相当な能力を持った専門家の集団の継続的な努力が必要であることも分かった。

さらに、われわれの実験の結果、インターネット上に分散して存在している各種のデータベースを、WWWを介して統合的に検索するようなシステムの開発が可能であることが証明された(Fig.9)。ただ、われわれの現在の方式だとデータベース管理ソフトが、まだSybaseに限定されている。より広い範囲のデータベースの検索を可能ならしめ、システムの更新を容易にし、実用性を高めるためには、

- (1) WWWとパソコン用のデータベース管理ソフトを連携するソフト
 - (2) Sybase, Oracleあるいはオブジェクト指向データベース(OODB)など種類の異なるデータベース管理ソフトとWWWとを仲介するソフト
 - (3) インデックス・データベースの自動生成(半分は実現している)
 - (4) 確実かつ手間をかけずにデータベースの内容を更新する支援環境
 - (5) 不特定な外部からのWebやデータベースへのアクセスに対するセキュリティの確保
 - (6) 継続的なコンテンツの作成と提供体制
- などに関して、研究しておく必要があることが判明した。

VRMLについては、まだ誕生して間もない技術ではあるが、化学、生物学、環境科学に関連した研究分野には将来、大きなインパクトを与えるものと思われる。現時点ではとくに教育効果が大きいと思われる。とくに複雑な生体分子や、生体分子(受容体)と薬物や毒物分子の相互作用の様子、さらに有害植物の識別方法など、構造に関係したかなり専門的な知識を普及するには有効な技術であると思われる。環境地理情報についても、3次元表示がどこでも見られるようになるという効果が大きい。

なお、技術的な問題点としては、あまりにも技術の進歩が早いために、未熟のまま、製品化されているソフトが少なくないことが分かった。例えば、ODBCを用いたSybase

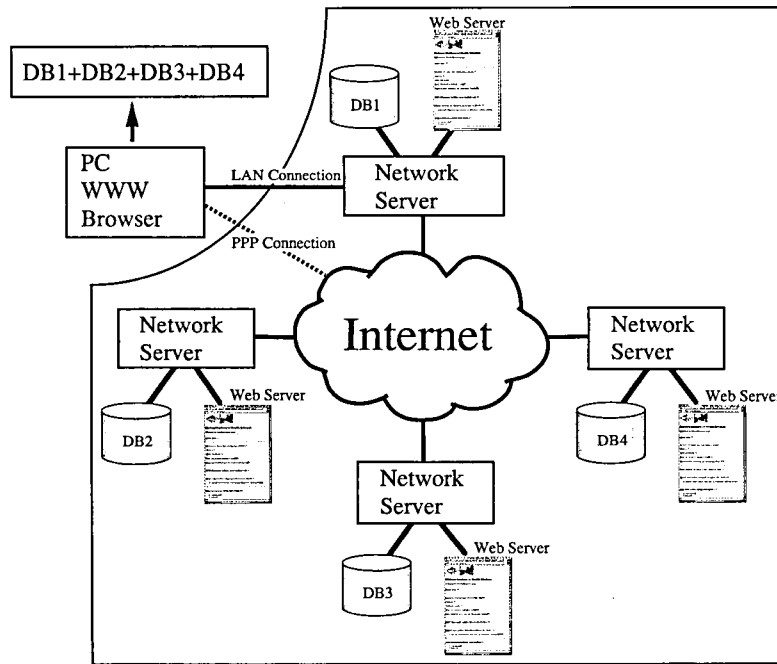


Fig. 9. Distributed Webs and databases that can be cross-searched via a WWW browser which is connected to the Internet either by LAN or by PPP

のデータの内容の更新は可能であるが、時間がかかり過ぎることが分かった。また Netscape 3.0 の VRML 機能のオブジェクト表現 (Live 3D) は WebSpace に較べて、滑らかさを欠いていることなども判明した。現在のところ原因は不明であるが、何らかのバグがあり新しいバージョンでは改良されるであろうと推測される。

考 察

本事業は、未来の国立衛生科学研究所 (仮称) の COE としての情報発信機能を取捨するものであり、情報部としては支援事業に位置づけられる。現在、大学や民間会社だけでなく、多くの研究機関や行政機関が Web ホームページを立ち上げている。しかし、それらの多くは、宣伝パンフレット程度の内容しかないものが多い。この点、すでに膨大な情報を外部にも提供してきた欧米の研究機関が発信している情報は量の点でも質の点でも、はるかに優れている。当所の場合、WHO の環境健康基準など、もともと外部の専門家が注目するような、健康と安全に関する豊富な情報が内容に蓄積されていた。われわれが Web に実験的に載せた情報はそのうちのほんの一部に過ぎない。もし、他部も加わった全所的な努力が払われるなら、COE となりうるような情報発信も当所であれば十分可能になる。

安全、健康、環境に関する情報発信事業は、純粋な研究業務と行政の仕事との間に位置するものが多く、どちらが担当すべきか区分は必ずしも明確ではない。例えば厚生省でも平成 8 年度には省内 LAN が整備され、インターネッ

ト利用が可能になる予定になっている。当然 Web など、インターネットによる情報発信が始まるであろう。こうした動きをどう考えるべきか。

一般論であるが、例えば米国などの場合、行政も研究機関も図書館や広報機能が強力な上に、情報提供のための専門機関もある。ところが、わが国の場合、そのいずれの機能も弱い。ここに、こうした情報提供事業を実験してみる意義があるであろう。また、これも一般論であるが、行政からの情報発信には、2つの制約が付きまとうと想像される。第1は、研究機関であれば、必要な情報を比較的自由に組み合わせることができるが、行政の場合、課単位の仕事の区分にどうしても縛られることである。第2は、担当者が比較的短い期間に交替すると予想されることである。すでに述べたように、Web ページの作成には、かなりの継続性、センス、専門能力が要求される。このことを考えれば、行政からの本格的な情報発信をしようとする外注せざるをえないが、研究機関、研究者との連携なくして、優れた情報コンテンツを作成することは実際問題として、極めて難しい。したがって、行政が情報発信をするから、研究機関がそういうことをする必要はないということにはならないし、少なくとも両者は、相補的に情報発信を行うべきであろう。この点 COE としての米国の NIH や NIEHS の情報発信が参考となろう。いずれにしても、研究機関として情報提供事業を手掛ける以上、コンテンツ (情報内容) もさることながら、それを発信、流通させる情報技術自身の開発も研究の対象になると考えるべきであろう。

WWWとデータベースによる情報提供実験を通じて、もうひとつ実感したことがある。それは、自分たちのためにつくった優れた情報収集と情報提供システムが、実は万人の道具にもなるということである。とくに行政、専門の近い大学の研究者、他の厚生科学研究機関や地方衛生研究所などは、われわれが開発するシステムの潜在ユーザーである。この意味では、もしつくろうとするなら、日本一、あるいは世界一の情報案内収集、分析機能を有するシステムをつくるべきであり、二番煎じは意味がない。ただし、情報(コンテンツ)は、依然としてそれぞれの専門機関で分散して作成されることになる。したがってこれらの専門情報を生成し、発信する機関との連携協力が非常に重要になってくる。もちろん、こうした連携や協力にもインターネットが利用されることになる。

例えば、衛試と地方衛生研との協力という視点で考えただけでも、

(1) 衛試報告や地方衛研の報告書を原報告単位でデジタル化して検索利用する。

(2) 酒、ビールなどの不純物の写真、有害なキノコや植物の写真、汚染微生物の動画などを整理し

(3) 上記の情報をVRMLシステムと組み合わせて、トレーニング教材を作成する。

(4) 環境地理情報の広域収集やビジュアルな表示システムが開発できる。

などの可能性がある。上記の応用において、当所上に基盤システムを開発しておけば、地研側ではインターネットに接続されたパソコンベースのブラウザだけを用意すればよい。

重要なことは、従来の大型機をホストとしたシステムと違って、インターネットによる情報提供システムは双方向性があり、気楽に質問したり情報を交換し合ったり、集めた情報を整理編集して再配布するなど、コラボレーション(共同作業)を支援する機能があることである。現在のわれわれのシステムでは、コメントの収集機能が弱く、またニュースグループやメーリングリスト機能も有効に活用されていない。こうした機能を組み込むことにより、それぞれの情報内容ごとに強力な専門家の協力体制を築いて行くことが、将来の大きな課題である。

ちょうど、優れた作品が万人に読まれるように、優れたWebサイトは世界中から利用される。作品が読まれるかどうかは、作品の量とあまり関係がないように、Webサ

イトが優れているかどうかは、そのWebサイト自身が保有している情報の絶対量と必ずしも関係していない。この意味でわれわれは、ちょっと大袈裟な表現ではあるが、「国民が最も欲している分野の、最も信頼のおける情報を、最もわかりやすい形で、最も迅速に、最先端の(情報)技術を駆使して提供すること」をめざさなければならない。

おわりに

これまでの実験はいつてみれば「可能性を探る」ことを目的をしていた。これからは、「本格的な情報提供」に移行するための実験が必要である。本年から2年間は、こうした新しい目標を掲げて、Webとデータベースを用いた情報提供実験を行う予定である。これらの実験は、他の国研や地方衛生研究所、米国のEPAやECのJRCなどとの共同研究でもある。技術的なつぎの目標のひとつは、世界中のデータベースを訪ね歩いて希望の検索をしてくれる(代理人)ソフトの開発である。

謝 辞

本開発と実験の最初の段階では富士通のエフアイピーの油井秀人氏の協力をえた。また東京臨床研の灘岡陽子研究員には、いろいろ技術的な協力をえた。さらに卒業研究生である中央大学物理学科堀江齊君、村越貴司君には協力してもらった。ここに感謝する。

文 献

- 1) Willoughby, C. D.: "USING THE INTERNET (2nd)". Que Co, Indianapolis (1995)
- 2) Eager, B.: "USING THE WORLD WIDE WEB". Que Co, Indianapolis (1994)
- 3) 中田琴子ら: 国立衛生試験所における情報と計算のための基盤環境(NICI), 衛試報告(本号)
- 4) Lejeune, U. A. and Duntemann, J.: "NETSCAPE & HTML EXPLORER". Coriolis Group Books Inc, Arizona (1995)
- 5) 日経データプロ: "WWW-データベース連携システム構築法". 日経BP社, 東京(1996)
- 6) Rowe, J.: "Internet Database Servers with CGI". New Riders Publishing, Indianapolis (1996)
- 7) Matsuba, S. and Roehi, B.: "USING VRML". Que Co, Indianapolis (1996)
- 8) 山本美智子ら: Webによる医薬品情報の提供, 衛試報告(本号)

構造情報と相互作用情報を有する医薬品データベースの開発

中野 達也・長谷川式子・山本 都・神沼 二眞
平山 令明*¹・川出 達*²

A Structure Based Pharmaceutical Database for Drug Interactions

Tatsuya Nakano, Shikiko Hasegawa, Miyako Yamamoto, Tsuguchika Kaminuma,
Noriaki Hirayama*¹ and Tohru Kawaide*²

A structure-based pharmaceutical database for drug interactions has been developed. This database is based on the ISIS/Desktop and the Microsoft Access relational database system for Windows. Data of Japanese accepted name, molecular formula, molecular weight, CAS registry number, therapeutic category index code, structural formula, Japan ethical drugs code, side effects information, drug interactions information were taken from "Japanese Accepted Names for Pharmaceuticals 1992", "Drugs in Japan Ethical Drugs 1993" and "Drug Intelligence Reinforce".

Keywords : pharmaceutical, database, structure, side effect, interaction

(Received May 31, 1996)

はじめに

抗ウイルス剤ソリブジンとフルオロウラシル系抗がん剤のように、投薬した医薬品同士が相互作用をおこし、患者に被害が生じるという事故が相次いでいる。医薬品の添付文書の相互作用や禁忌欄には相互作用をおこす可能性のある相手薬品が記入されており、医薬品 A の添付文書の禁忌欄に医薬品 B が書かれているのに B の添付文書の禁忌欄に必ずしも A が書かれていないなど不完全な部分もあることが指摘されているが、それでも添付文書の情報量は相互作用に関する部分だけをみても非常に多く、これまでの多くの経験から得られた貴重な情報といえる^{1,2)}。

相互作用を持つ医薬品には類似の部分構造を共通して持つ場合がよくみられる。既知の相互作用に関して医薬品の構造を解析することにより、これまで知られていない組み合わせの相互作用を予測したり、あるいは今後の医薬品の開発に役立てることが可能である。そこで、医薬品の相互作用に関する構造解析を行えるシステムの構築を試みた。すなわち、構造情報を入力した医薬品データベースを作成し、添付文書の相互作用や禁忌の欄に書かれているそれぞれの医薬品の組み合わせをコード化したものとリンクさせるシステムを作成した。

方法

1. データソース

データベース作成のための情報源としては、医薬品一般名称辞典 1992³⁾、医療品 日本医薬品集⁴⁾、および Drug Intelligence Reinforce (DIR) を用いた。DIR はデータインデックス(株)が開発している、添付文書をもとにした医薬品データベースで、そのなかの副作用と相互作用のデータを利用した。

2. 使用ハードウェアおよびソフトウェア

データベース作成には、ハードウェアに AT 互換機 (CPU Pentium 90 MHz, メモリー 32 MB, ハードディスクドライブ 1 GB) を利用した。またソフトウェアは、Windows 95 上で、ISIS/Base for Windows 1.2J, ISIS/Draw for Windows 1.2J および Microsoft Access 2.0 を使用した。

結果および考察

1. ISIS/Base による副作用データベース

ISIS/Base で作成した副作用データベースのデータ構造を Table 1 に示した。データベースの登録項目は、CAS 登録番号、医薬品一般名 (英名)、薬効分類、分子式、分子量、構造式、医療用医薬品コードの上 7 桁、副作用コードである。また構造式は、ISIS/Draw で作成した。現在このデータベースには 1541 化合物が登録されている。

データベースの画面の例を Fig. 1 に示した。ISIS/Base

*¹ 東海大学開発工学部

*² データインデックス(株)

Table 1. Data structure of the side effects database

| Field Name | Type | Length | Contents |
|-------------|---------------|--------|---------------------------------|
| <ROOT> id | Integer | | Identification number |
| casrn | Fixed Text | 14 | CAS registry number |
| name | Fixed Text | 80 | Japanese accepted name |
| class | Fixed Text | 10 | Therapeutic category index code |
| formula | Fixed Text | 80 | Molecular formula |
| mw | Real | | Molecular weight |
| structure1 | Structure | | Structural formula |
| structure2 | Structure | | Structural formula |
| <SUB> code1 | Integer | | Japan ethical drugs code |
| se | Variable Text | | Side effects code |

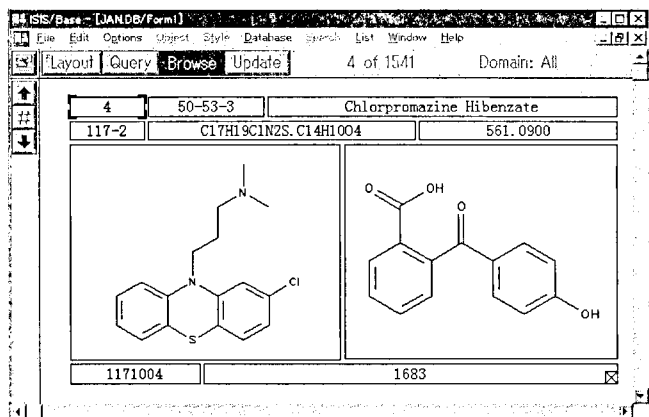


Fig. 1. A screen image example of side effects database

を利用することにより、一般的なCAS登録番号や名前による検索のほかに、部分構造式による検索が可能である。ウラシル骨格を含む化合物を検索した結果をFig. 2に示した。この場合20化合物が検索にヒットしている。しかし、ISIS/Baseはツリー型のデータ構造しか作れないため、複雑なデータ構造を作成したり、高度な検索を行うことが困難である。そこで、部分構造式による検索以外の部分を、リレーショナルデータベースの一つであるMicrosoft Accessに移植した。

2. Microsoft Accessによる副作用および相互作用データベース

Accessで作成した副作用および相互作用データベースの登録項目をTable 2に示した。Accessに移植した際に、ISIS/Baseで登録した項目に加え、副作用名や相互作用の情報の追加を行った。それぞれのデータは、主テーブル、厚生省コードテーブル、副作用テーブル、キーワードテーブル、相互作用テーブル、薬品グループテーブル、作用名テーブル、処置テーブルの8つのテーブルに別れている(Table 3)。

現在、登録されている医薬品は1541レコード、副作用は69475レコード、相互作用については336766レコードが登録されている。データベースの大きさは約40MBである。「黄疸」という副作用名で検索する場合のクエリーをFig. 3に、検索結果の例をFig. 4に示した。この場合

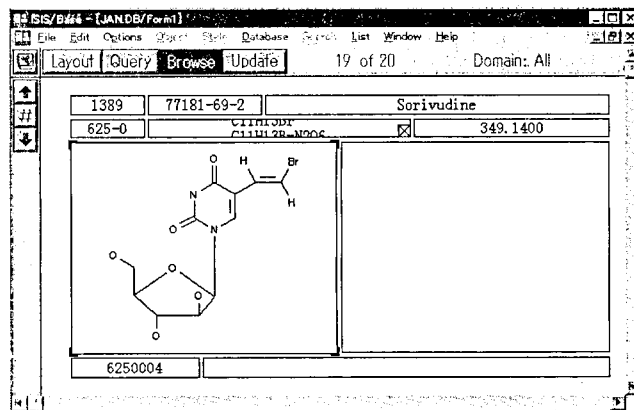


Fig. 2. An example of sub-structure query result

Table 2. Data structure of the side effects and interactions database

| Field name | Contents |
|------------|---------------------------------|
| casrn | CAS registry number |
| name | Japanese accepted name |
| class | Therapeutic category index code |
| formula | Molecular formula |
| mw | Molecular weight |
| structure1 | Structural formula |
| structure2 | Structural formula |
| 厚生省コード | 医療用医薬品コードの上7桁 |
| キーワード | 添付文書から抜き出したキーワード |
| 薬品グループ名称 | 添付文書から抜き出した薬品グループ名 |
| 作用名称 | 添付文書から抜き出した作用名 |
| 処置名 | 添付文書に出てくる処置名 |

160レコードが検索にヒットしている。

また、「Sorivudine」と相互作用をおこす化合物を検索する場合のクエリーをFig. 5に、検索結果の例をFig. 6に示した。この場合39レコードが検索にヒットしている。

これらのデータベースの作成から、医薬品の副作用および相互作用の解析を支援するためのデータベースには、リレーショナルデータベース機能および構造式による検索機能が必須であるといえる。また現在はこの二つの機能が、別々のデータベース上で実現されているため、利用しやすさという点で問題があり、これらの機能を統合したデータベースを作成する必要があると思われる。

まとめ

医薬品の相互作用の予測を構造情報に基づいて行うことを目的として、医薬品の識別、構造、副作用、相互作用等の情報を有するプロトタイプデータベースを作成した。今後の課題としては、データの更新、薬効分類の見直し、Accord for Accessによる部分構造検索機能の組み込み、およびその機能を利用した解析を行っていく予定である。また、構造式のデータから3次元構造を生成し、それを用いた解析も行っていく予定である。

終わりに、DIRのデータを提供していただきましたデータインデックス(株)に深謝いたします。

Table 3. Table structure of the side effects and interactions database

| Table name | Field name | Data type | Field size |
|------------------------|---------------|-------------|------------|
| 主テーブル 1541レコード | casrn | テキスト型 | 14 |
| | name | テキスト型 | 80 |
| | class | テキスト型 | 20 |
| | formula | テキスト型 | 80 |
| | mw | 数値型 | 倍精度浮動小数点型 |
| | structure1 | OLE オブジェクト型 | |
| | structure2 | OLE オブジェクト型 | |
| 厚生省コードテーブル 1868レコード | name | テキスト型 | 80 |
| | 厚生省コード | 数値型 | 長整数型 |
| 副作用テーブル 69475レコード | 厚生省コード | 数値型 | 長整数型 |
| | キーワードコード | 数値型 | 長整数型 |
| キーワードテーブル 8885レコード | キーワードコード | カウンタ型 | |
| | キーワード | テキスト型 | 80 |
| 相互作用テーブル 336766レコード | 主薬厚生省コード | 数値型 | 長整数型 |
| | 相手薬剤厚生省コード | 数値型 | 長整数型 |
| | 相手薬剤薬品グループコード | 数値型 | 長整数型 |
| | 作用名コード | 数値型 | 長整数型 |
| | 処置コード1 | 数値型 | 長整数型 |
| | 処置コード2 | 数値型 | 長整数型 |
| | 処置コード3 | 数値型 | 長整数型 |
| | 処置コード4 | 数値型 | 長整数型 |
| | 処置コード5 | 数値型 | 長整数型 |
| | 処置コード6 | 数値型 | 長整数型 |
| | 処置コード7 | 数値型 | 長整数型 |
| 処置コード8 | 数値型 | 長整数型 | |
| 処置コード9 | 数値型 | 長整数型 | |
| 処置コード10 | 数値型 | 長整数型 | |
| 薬品グループテーブル 1626レコード | 薬品グループコード | カウンタ型 | |
| | 薬品グループ名称 | テキスト型 | 72 |
| 作用名テーブル 1034レコード | 作用名コード | カウンタ型 | |
| | 作用名称 | テキスト型 | 72 |
| 処置テーブル 18レコード | 処置コード | カウンタ型 | |
| | 処置名 | テキスト型 | 28 |

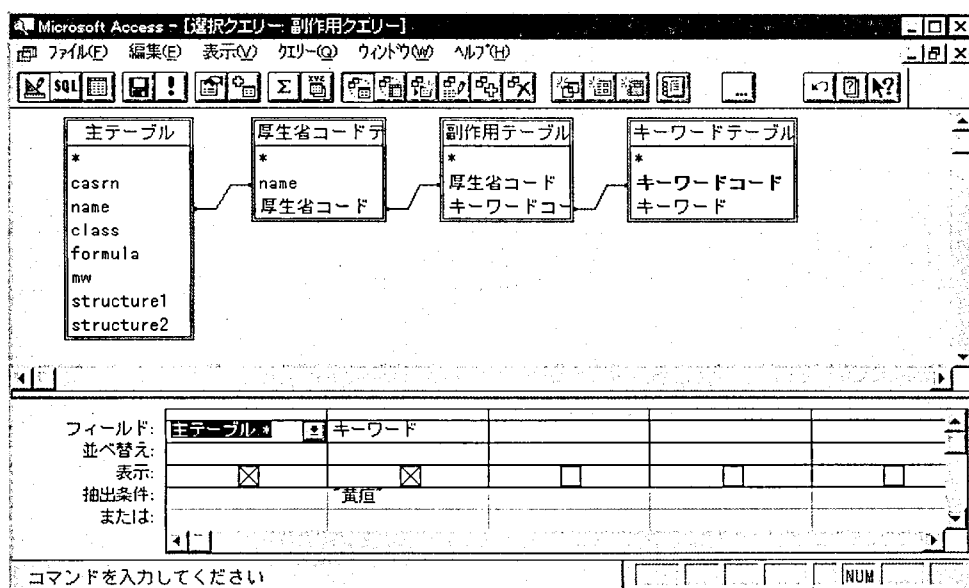


Fig. 3. An example of side effect query

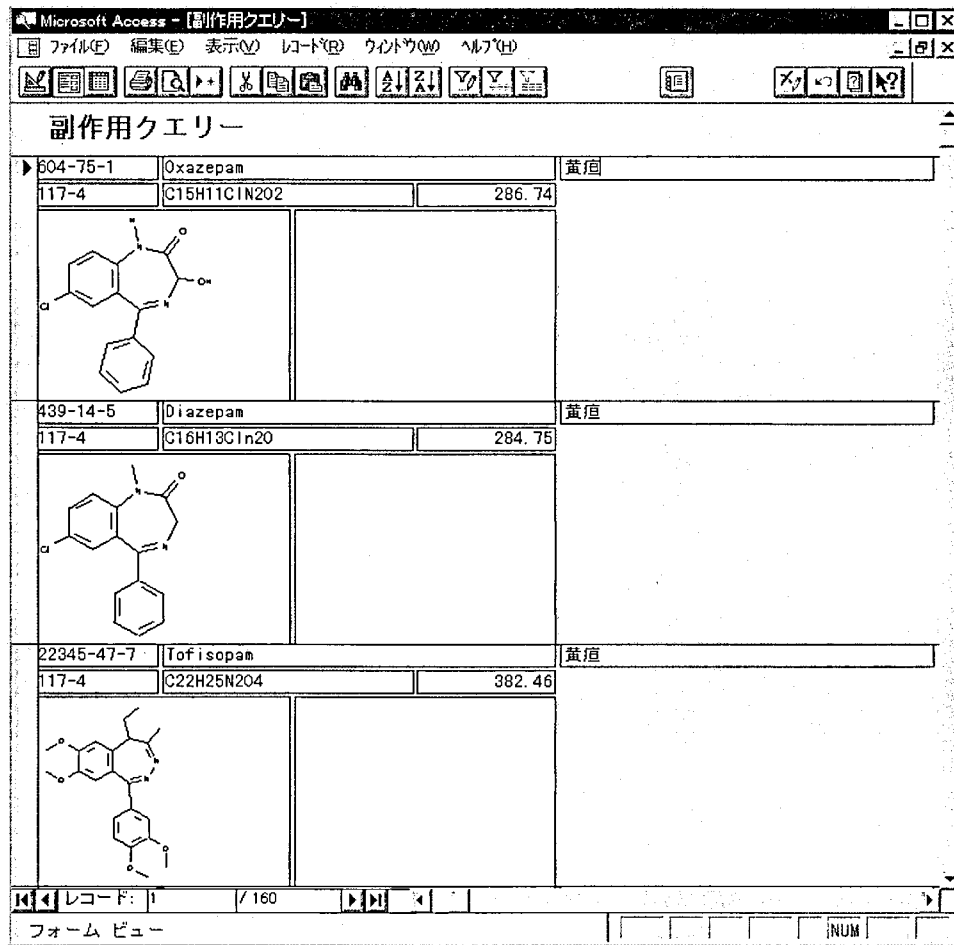


Fig. 4. An example of the side effect query result

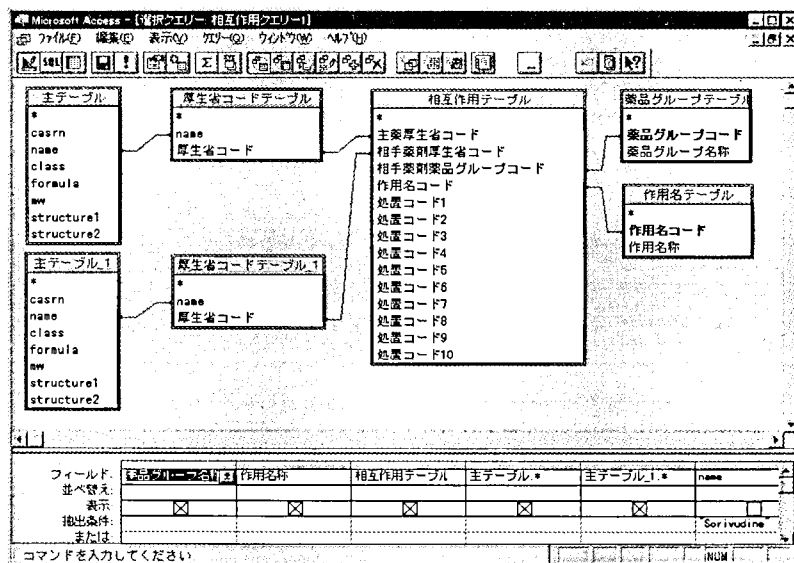


Fig. 5. An example of drug interaction query

| 77181-09-2 | Sorivudine | 51-21-8 | Fluorouracil | フルオロウラシル系薬剤 | | | |
|------------|------------|---------|--------------|-------------|--------|------|----|
| 625-0 | C11H13Br | 349.14 | 421-9 | C4H5FN2O2 | 130.08 | 血液障害 | 死亡 |
| 77181-09-2 | Sorivudine | 51-21-8 | Fluorouracil | フルオロウラシル系薬剤 | 130.08 | 死亡 | 死亡 |

Fig. 6. An example of the drug interaction query result

文 献

- 1) 別府宏園：臨床と薬物治療, **12**, 899 (1993)
- 2) 八島加八, 藤井静香, 沖川正善：医薬ジャーナル, **30**, 1864 (1994)
- 3) 日本公定書協会編：医薬品一般名称辞典 1992, 薬事日報社 (1992)
- 4) 日本医薬情報センター編：医療薬 日本医薬品集, 薬業時報社 (1993)

インターネットによる化学物質安全性情報の提供

大竹千代子・山本 都・中野 達也・中田 琴子
石川 恵司・神沼 二真An International Exchange and Dissemination of Chemical
Safety Information on the InternetChiyoko Ohtake, Miyako Yamamoto, Tatsuya Nakano, Kotoko Nakata,
Keiji Ishikawa and Tsuguchika Kaminuma

An information system for chemical safety has been developed on the National Institute of Health Sciences (NIHS) Information and Computing Infrastructure. The system is based on client server systems on the local area network (LAN) connected to the Internet. A wide range of safety information for chemicals including foods, food additives, household goods, industrial chemicals and environmental pollutants were collected and put on the World Wide Web (WWW) server and the database management system, Sybase.

In addition to original information contents, the System has links to many useful Web sites so that it functions as a global hub for chemical safety information.

Keywords : Internet, World Wide Web, hub, information system, chemical safety

(Received May 31, 1996)

はじめに

我々は、食品、家庭用品、化学工業品、医薬品などを含む幅広い化学物質の安全性と、それらの健康および環境への影響に関する情報を提供するためシステムを開発している。化学物質安全性情報の流通のハブとなっているこのシステムはインターネット上の World Wide Web (WWW) とデータベースの機能を利用し、ワークステーションとパソコンのネットワーク上に構築されている。我々のシステムは、国内の化学物質安全性情報の流通の要となり、また国際的な化学物質安全性計画 (International Programme on Chemical Safety; IPCS) の事業である Global Information Network on Chemicals (GINC) の中枢となることを目指している。提供する情報の内容の一部は独自に開発、整備したものであるが、他の有用な情報サイトへアクセスの案内も含まれている。

I. 化学物質の安全性情報源

化学物質の安全性に関わるファクトデータや個別文献の化学物質情報のうち、一部は商用のオンラインやCD-ROMから入手できる。しかし、規制値を設定するために拠り所となる数値をもとめて検索を行うような場合には、過去の膨大な文献に当たらなければならない。これは、非常に時間と労力を必要とする作業である。化学物質によってはすでにさまざまな機関によりその毒性が評価され、出版物あ

るいはCD-ROMとして提供されているものが少なくないが、一般に日本国内では利用される機会が少ない。このことは以前から実感していたが、我々が実際に1994年の第4回ケミカルセイフティフォーラムにおいて行ったアンケート調査結果でも、化学物質関連に従事している人たちの間では、Table 1¹⁾の様に、経済協力開発機構 (OECD)、米国環境保護庁 (EPA)、欧州連合 (EU) は9割の人たちには知られているが、優れた評価文書を出している組織でも知名度が低いことが分かっている。IPCSや国際がん研究機関 International Agency of Cancer (IARC) などは、組織自体も、それらからの出版物もあまり知られていない。これらは数多くの文献や、国連、国際機関、各国政府などが行った重要な化学物質の毒性試験結果がレビューされ、非常に有用で貴重な資料であり、その普及と利用が強く望まれる。また、日本の化学物質の安全な管理に関わる情報の整備は遅れており、特に海外からの確にアクセスするのは困難な状況にある。そのために、化学物質の安全性に関する機関情報を作成した²⁾。

II. 情報の収集と提供の方法

情報の収集と提供は、Fig. 1に示したように、インターネットを介して行われる。WWWサイトから直接、あるいは手持ちの情報を Hypertext Markup Language (HTML) ファイルに加工し、また、既存のデータベースをサイバースで処理しておこなわれる。ユーザーはコンピュータによ

Table 1. Result of questionnaire about international organization

| Organization | I know | | I wish more information | |
|-------------------|--------|----|-------------------------|--------|
| | Order | % | Order | Number |
| OECD | 1 | 93 | 12 | 9 |
| EPA/USA | 2 | 87 | 5 | 12 |
| EU(EC) | 3 | 86 | 15 | 8 |
| NIOSH/USA | 4 | 84 | 12 | 9 |
| OSHA/USA | 5 | 82 | 3 | 13 |
| ACGIH/USA | 6 | 78 | 6 | 11 |
| IPCS/WHO/UNEP/ILO | 7 | 68 | 1 | 16 |
| IARC/WHO | 8 | 67 | 2 | 15 |
| NTP/NIH/USA | 9 | 66 | 6 | 11 |
| CIS/ILO | 10 | 43 | 12 | 9 |
| IRPTC/UNEP | 11 | 41 | 3 | 13 |
| ECETOC | 12 | 39 | 15 | 8 |
| BIBRA/UK | 13 | 29 | 9 | 10 |
| CSST/Canada | 14 | 21 | 9 | 10 |
| ATSDR/USA | 15 | 20 | 20 | 6 |
| BG Chemie/Germany | 15 | 20 | 21 | 5 |
| JMPR/WHO/FAO | 17 | 16 | 15 | 8 |
| KEMI/Sweden | 18 | 13 | 9 | 10 |
| BUA GDCh/Germany | 19 | 11 | 18 | 7 |
| ECOSA/Europe | 20 | 3 | 6 | 11 |
| IOCU HAI | 21 | 1 | 18 | 7 |

って直接あるいはさまざまなシステムを経由して利用する。提供している情報の内容は2種類に分類される。一つは国立衛生試験所 (NIHS) の化学物質情報部が中心となって収集・加工・提供を行っているオリジナルな情報であり、これはホームページの「NIHS ハブ」から探して行ける。もう一つは化学物質の安全性に関する情報を発信している IPCS を初めとする国際機関と各国の機関への案内であり、これはホームページの「GINC ハブ」から探ることができる。

NIHS ハブ (URL <http://www.nihs.go.jp/hub.html>) は、我々が作成あるいは編集した化学物質の安全性に関するオリジナル情報である。例えば、情報を提供する目的の機関・研究所等の住所録、国際化学物質安全性カード (International Chemical Safety Card; ICSC) の日本語訳、環境保健クライテリア (Environmental Health Criteria; EHC) の日本語抄訳、回覧されている EHC のドラフト

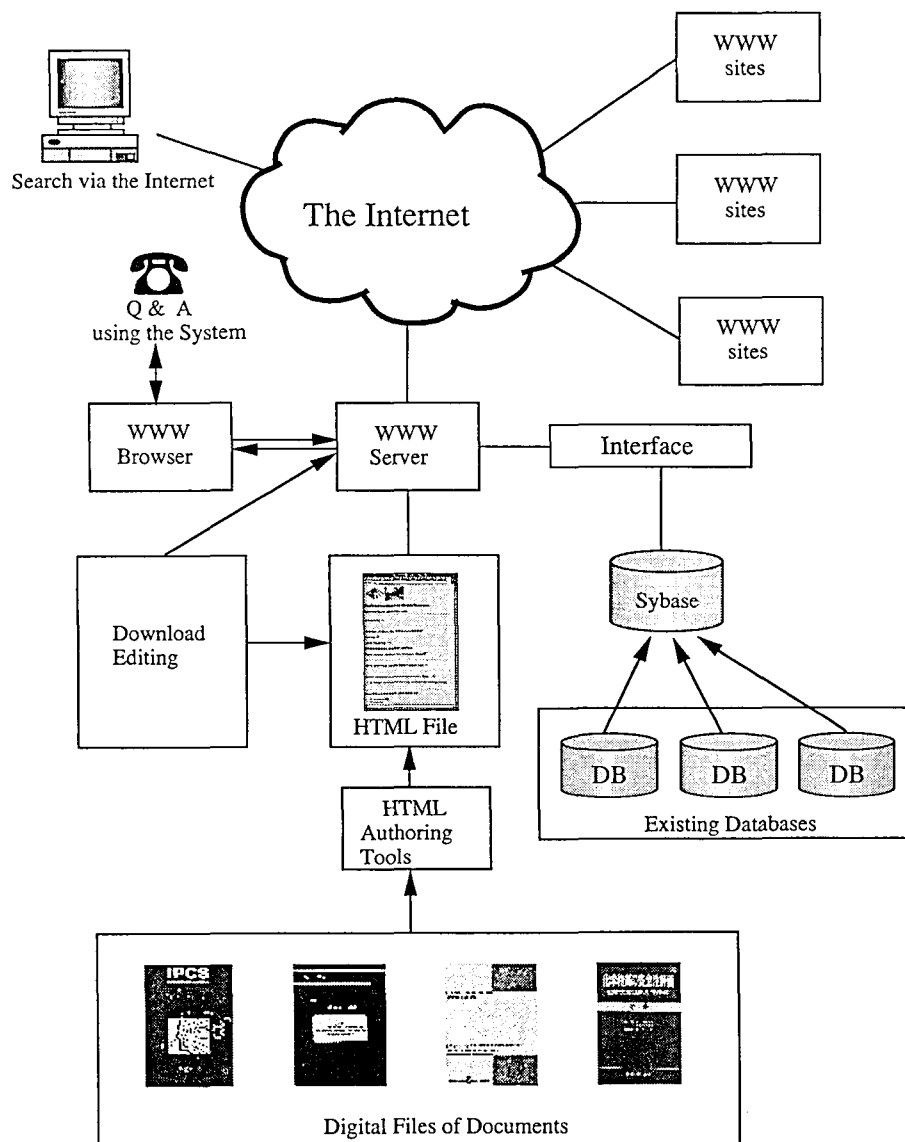


Fig. 1. Schematic view of our information system

の紹介, 化学物質情報部で収集している国連, 各国政府等出版物のデータベース, 毎年開いてきたケミカル・セイフティ・フォーラムの記録など文書情報である。

GINCハブ (URL <http://www.nihs.go.jp/GINC/index.html>) は, GINC の組織, 会議の内容あるいはメンバーサイトなどの一部にオリジナル情報が置かれているが, 大部分は化学物質安全性情報や最新のニュースなどの有用な他の情報をもつ案内情報であり, 入り口はホームページの「化学物質の安全性情報に関連した役に立つ Web Sites の一覧」である。それらを辿れば, 例えば, EPA の提供する化学物質安全性データシート (Material Safety Data Sheet; MSDS) や農薬に関する毒性情報, あるいは米国国家毒性計画 (National Toxicology Program; NTP) が提供する発がん性のレポートのサマリー, WHO の最新のニュースなどに到達する。これらの非常に信頼のおける重要な情報を, 即時に, しかも無料で入手できる。

以上の情報は, 一部従来型のデータベースに置かれているが, 大部分は WWW で提供されている。WWW 上で見られるようにするためには, 情報を HTML ファイルに変換して Web サーバで管理しなければならない。WWW は図表, 写真, 地図, 動画, 音声なども扱うことができる。

III. 提供されている化学物質安全性情報の内容

NIHS ハブを Fig. 2 に載せた。NIHS ハブについて内容を紹介する。化学物質の安全性情報に関しては化学物質情報部が中心になって, 情報を収集し, データベースを作成し, 提供している。主なものは次のものである。

1. 化学物質安全性の機関・研究所アクセスガイド (英語版および日本語版)

化学物質の安全性情報は, その量が膨大なことと内容が多様なことから, 重要かつ有用なものでも存在さえ知られていないものも少なくない。そのために, そうした情報を作成, 加工および発信している機関の情報案内を作成した。



NIHS Chemical Safety Information Hub

[[English](#) | [Japanese](#)]

Welcome! This is the homepage for the NIHS chemical safety information guide provided by Division of Chem-Bio Informatics, National Institute of Health Sciences. From this homepage you can explore various information sources provided by both international, regional and national organizations and institutions.

Please click one of the following items to start your navigation.
Good luck!

National Information Sources

- [Directory of International and National Organizations and Institutions](#)
 - [Chemical Safety Information Guide \(in English\)](#)
 - [Chemical Safety Information Guide \(in Japanese\)](#)
- [NIHS/DCBI Databases](#)
 - [International Chemical Safety Cards \(ICSC\) \(in Japanese\)](#)
- [Publication list](#)
 - [List of EHC and HSG](#)
 - [List of Other Reviews](#)
- [Forum](#)
 - [Symposium: Chemical Safety Information Forum Japan](#)
 - [CSI FORUM Home Page \(in Japanese\)](#)

International Information Sources

- [Global Information Network for Chemicals \(GINC\)](#)
 - [GINC Asian Pacific Homepage](#)
 - [Useful Web Sites for Chemical Safety Information](#)

[Return to NIHS homepage](#)

Last Update: 5 Jan. 1996
www-admin@nihs.go.jp

Fig. 2. NIHS chemical safety information hub

化学物質安全性情報に関する機関ガイドの作成は、まず、化学物質の安全性情報に関する情報源、提供機関あるいは監督省庁の所在（住所、電話、FAX、WWW上のURL）をリストアップし、化学物質の情報作成、整備と編集、あるいは提供に携わる機関などに分類して整理した。国際機関と国内機関の2つに分けた。これらを、国内、海外の両方に提供することを目的とし、日本語、英語の両バージョンを作成した。

国際機関ファイルでは、国連関連機関として世界保健機関（WHO）、国連環境計画（United Nations Environment Programme; UNEP）および国際労働機関（International Labour Organization; ILO）など26機関とその国内窓口、およびその地域オフィスなどに、日本国内の国連委託図書館などを加えた。国連以外の国際機関および各国政府機関としてはOECD、EC（EU）などの国内窓口およびEPAやBritish Industrial Biological Research Association（BI-BRA）などのような化学物質の安全性情報機関・研究機関、それに加え在日大使館や国際的な活動をしている政府関連機関を載せた。国内機関ファイルとしては、まず化学物質の安全性に関わっていたり、情報の作成と提供に携わっている公的・準公的機関としては、政府機関の関連部門の局・課、研究所、特殊法人、認可法人、学会・協会の組織を選んだ。また、化学物質関連の企業団体組織、情報関連組織、専門家集団、ボランティア団体などを含めた。

利用の仕方は目次に沿って選択して、それぞれの機関を順に選ぶ。WWWサイトを有する機関はそれぞれのホームページにリンクした（一部、作成中あり）。

目次は以下のようにになっている。

- I 国際機関の国内窓口
 - I A 国連機関の国内窓口
 - I B 国際機関の国内窓口
- II 国内機関の窓口
 - II A 国内の公的準公的機関
 - II B 国内民間企業/企業団体

2. ICSC 日本語版

これはIPCSが作成しているICSCを日本語に翻訳したものである³⁾。

WWWによる提供では500カードを搭載し、データの最後に付けた引用文献番号をクリックすれば自動的に末尾の文献リストに画面が移動するようにし、各化合物は日本語名、英語名、CAS番号等から検索できるようにした。

カードの内容は、物性/物理的危険性・化学的危険性/許容濃度/暴露経路/吸入の危険性/短期暴露影響/長期または反復暴露影響/環境への影響/火災・爆発/暴露経路別の急性症状/予防・応急処置/漏洩物処理/貯蔵法/包装・表示の方法などである。

3. 評価文書の要約とリスト

3.1 EHCの日本語要約

EHCはIPCSによって出版されている評価文書であり⁴⁾、現在180弱出版されており、評価された化学物質は500弱である。

評価内容は主に次のようなものである。物質の同定・物理化学的性質・分析法/ヒトおよび環境の暴露源/環境中の移動、分布、変質/環境濃度およびヒトの暴露/生体内動態および代謝/環境生物への影響/実験動物および*in vitro*試験系への影響/人への影響/人の健康と環境への有害性の評価/勧告/国際機関によるこれまでの評価/文献。

(1) EHC サマリーの日本語抄訳

日本国内での普及と利用の拡大のため、原著のサマリー、勧告、国際機関によるこれまでの評価などの部分を邦訳し出版したものを構造式を除き全部載せている。出版はすでに第1集（20物質、バナジウム、鉛-環境面からの検討、ホルムアルデヒド、バリウム、ニッケル、白金、カドミウム、カドミウム-環境面からの検討、1,1,1-トリクロロエタン、ニトロプロパン、ポリ塩化ビフェニルおよびターフェニル（PCB、TCB）、ベンゼン、ポリ臭化ビフェニル、カルバリル、ヘキサクロロブタン、ヒドロキノン、グリホサート、フェノール、クロロホルム、臭素化ジフェニル）を出版し、第2集、第3集を準備中である。

EHCの抄訳第1集は図書室で貸し出している。

(2) EHCのドラフトの要約

EHC作成の過程で、第一ドラフトが作成されると、協力している各国の窓口を通して専門家に回覧され、意見が求められる。当衛生試験所にもコメント依頼が送られてきており、その第一ドラフトの簡単な要約を載せた。EHCは早いものでも2年の歳月を要して作成されるため、現在進行中の作成物質がわかりにくい。そのためにも、現在進行中のドラフトを紹介している。

EHCのドラフトは図書室で貸し出している。

3.2 評価文書の物質リスト

評価文書の物質リストは、当情報部で収集している国際的によく知られている7つの代表的なシリーズに記載されている化学物質を、できるだけ簡単に検索できるようにしたファイルである。その特徴はいずれも化学物質名およびCAS登録番号から既刊の号数、タイトル、作成年を検索することができることにある。このうち、EHCに関しては、日本語による出版年順（原著・翻訳）および分類別、安全衛生ガイド（Health and Safety Guide; HSG）についても日本語の出版年順のファイルを作成した。以下簡単に、物質リストを作成した各シリーズの評価内容を紹介する。

(1) EHCシリーズの物質リスト

EHCについては前述のとおりである。およそ500化学

物質のリストを作成した。EHCは図書室で貸し出している。

(2) HSG シリーズの物質リスト

HSGもIPCSによって作成され、約100巻の簡易的な評価文書である。次の内容を含んでいる。

物質の同定/要約と評価/結論と勧告/ヒトの健康への影響・予防・保護・緊急時の対応/環境への影響および保護/最近の規制・ガイドライン・基準。

HSGシリーズは図書室で貸し出している。

(3) Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) の Toxicological Profile シリーズの物質リスト

ATSDRはDepartment of Health & Human Services U.S.の中の一部門で作成され、ドラフトも含めすでに160冊について印刷されている。以下の評価内容を含んでいる。公衆衛生情報/健康影響/物理化学的な情報/生産量、輸入量、使用量、廃棄/人の暴露程度/分析法/規制と勧告/

シリーズの大部分は化学物質情報部で閲覧できる。

(4) European Chemical Industry Ecology & Toxicology Centre (ECETOC) シリーズの物質リスト

ECETOCはMonograph, Technical ReportおよびJoint Assessment of Commodity Chemicals (JACC)を出版しており、それぞれ22巻、70巻、33巻出版されている。

Monographの内容は主に、はじめに/物質のバックグラウンド/入手できたアプローチのレビュー/いくつかの試験結果からの解釈/結論となっている。

Technical Reportは、はじめに/経口摂取/皮膚吸収/呼吸/暴露/いろいろなパラメータ、また、JACCは/要約と結論/同定・物理化学的性質・分析法/生産・貯蔵・輸送および使用/環境中の移動・分布・変質/環境中濃度およびヒトの暴露/環境生物への影響/動態および代謝/実験動物および*in vivo*試験系への影響/ヒトへの影響、などを含んでいる。シリーズの大部分は化学物質情報部で閲覧できる。

(5) National Toxicology Program (NTP) Technical Report シリーズの物質リスト

NTPはDepartment of Health and Human Services U.S.の一部門である国立環境衛生研究所(National Institute of Environment and Health Sciences; NIEHS)の他に、3つの国立研究所によって進められているプログラムであり、発がん物質を中心にTechnical Reportシリーズを出版している。すでに、約450巻出版されている。目次は、巻によって若干異なるが、要約/がん性挙動の証拠のレベルの説明/レビューのための下部委員会/コメントの要約/はじめに/物質および試験方法/結果/討論/結論/試験データ、が主な項目である。

シリーズの大部分は化学物質情報部で閲覧できる。

(6) NTP Toxicity Studies シリーズの物質リスト

NTPはTechnical Report on Toxicity Studiesをすでに50巻出版している。目次は、要約/検討委員会のコメントの要約/はじめに/物質および試験方法/結果/討論/試験データ/が主な項目である。シリーズの大部分は化学物質情報部で閲覧できる。

(7) IARC シリーズの物質リスト

WHOの一機関であるIARCはMonograph seriesを出版しており、現在までにVol. 66が既刊である。このファイルには掲載されている発がん物質を取載している。このMonographは、読者のために/共同執筆者一覧/序文(バックグラウンド、目的、暴露データなど)/一般的な知見/物質毎の情報/結論としての評価、の内容を含んでいる。シリーズの大部分は化学物質情報部で閲覧できる。

4. 情報交換のためのフォーラム

4.1 Chemical Safety Information (CSI) フォーラム (URL <http://www.nihs.go.jp/CSI2/index.html>)

このCSIフォーラムは、化学物質の安全性に関わる専門家、関係者のための情報交換および多角的な意見交換の場を提供するために設けた。CSIフォーラムの活動は様々な研究機関や法人、団体などによって支援されているが、意見の表明は原則として個人の資格でなされる。したがってそれは所属する機関を代表するものではない。

トピックス/化学物質の安全性に関する情報/規制に関する内外の動向/国際会議などの報告/本、データベースなどの紹介/講演会、研究集会、セミナーのお知らせ/コミュニケーション/意見交換/編集室/のコーナーを開設した。

4.2 講演会のお知らせと記録

1990年に第1回ケミカル・セイフティ・フォーラムを開催して昨年で5回を迎えた。その目次と、講演の内容を紹介し、次回のお知らせなどを載せている。第5回は、講演者の写真と音声の一部を載せた。7月19日に第6回が開催された。

5. データベースによる情報提供

(<http://www.nihs.go.jp/db/>)

インターネットによる情報は、大部分がWWWによって提供されているが、個々のコンピュータのデータベース上で管理されている情報をWWWを介して検索する方法も実験的に行っている。ここではWWWに搭載しているデータベースの中からECETOCの既存化学品評価文書データベースと、KEMIのプライオリティリストを紹介する。

(1) ECETOC 既存化学品評価文書データベース

ECETOCのこのデータベースは、農薬を除く既存化学品の評価文書の所在情報データベースである。ECETOC Technical Report No. 30(5) (1994)として、データベースは出版されており、そのファイルをECETOCの好意によって譲渡されたものである。化学品の数は2000を越え、

評価文書は、ECETOC と国連の 9 シリーズ、および 6 ヶ国政府等の作成している 18 シリーズである。物質名と CAS 番号から検索でき、複数の化学名で検索可能である。このデータベースは更新が難しいのと発行年のみしか検索できないのが難点である。

(2) KEMI-Chemical Substances Lists in the Swedish Sunset Project データベース

スウェーデン国立化学物質研究所が 1994 年に作成した、化学物質のプライオリティリストのデータベースで、通称「サンセットプロジェクト」と呼んでいる。国連、国際機関、各国政府および国内地方政府がリスク削減のために優先的に選択した化学物質のリスト（出版物、規制、法律、ガイドラインなどを含める）がおよそ 70 件リストアップされている。化学物質情報部で検索可能なものに加工し、データベース化した。化学物質、CAS 番号、RTECS 番号などから検索でき、複数のリストがヒットするようになっている。

上記の 70 リストは、環境への有害性として、一般的なアセスメント/地球温暖化/オゾン層破壊/リスクの削減、健康への有害性として、発がん性/アレルギー/神経毒性/生殖毒性/限界値/リスクの削減、環境と健康の両方への有害性として/有害廃棄物、暴露として、高生産量物質/環境・人・生物内で検出された化学物質、環境へ放出された

化学物質、および環境毒性学的データの分野におよんでいる。日本のリストでは通産省の化審法に挙げられている既存および新規化学物質等のリストが検索できる。

IV. GINC ハブ

GINC は、1992 年の United Nations Conference on Environment and Development (UNCED) の Agenda 21 の 19 章における「有害化学物質の安全性情報の交換の推進」の決議に基づき、1994 年 4 月ストックホルムにおいて発足した IPCS のプロジェクトである。

GINC の枠組みに沿って、国連、国際機関、各国政府機関、非政府機関と連携し、特にアジア地域の情報交換ネットワークの拡大と向上を目的としたシステムの構築を予定している (Fig. 3)。

このホームページから、海外および国内の各機関・研究所が提供している数々の有用な情報にアクセスすることができる。

1. GINC について

GINC については、GINC とは/IPCIS における GINC の役割/GINC Meeting/協力機関・研究所/関連プロジェクト情報/GINC 研修部門/GINC 関連組織、研究所、人の一覧/GINC の情報源一覧、を英語で載せている。

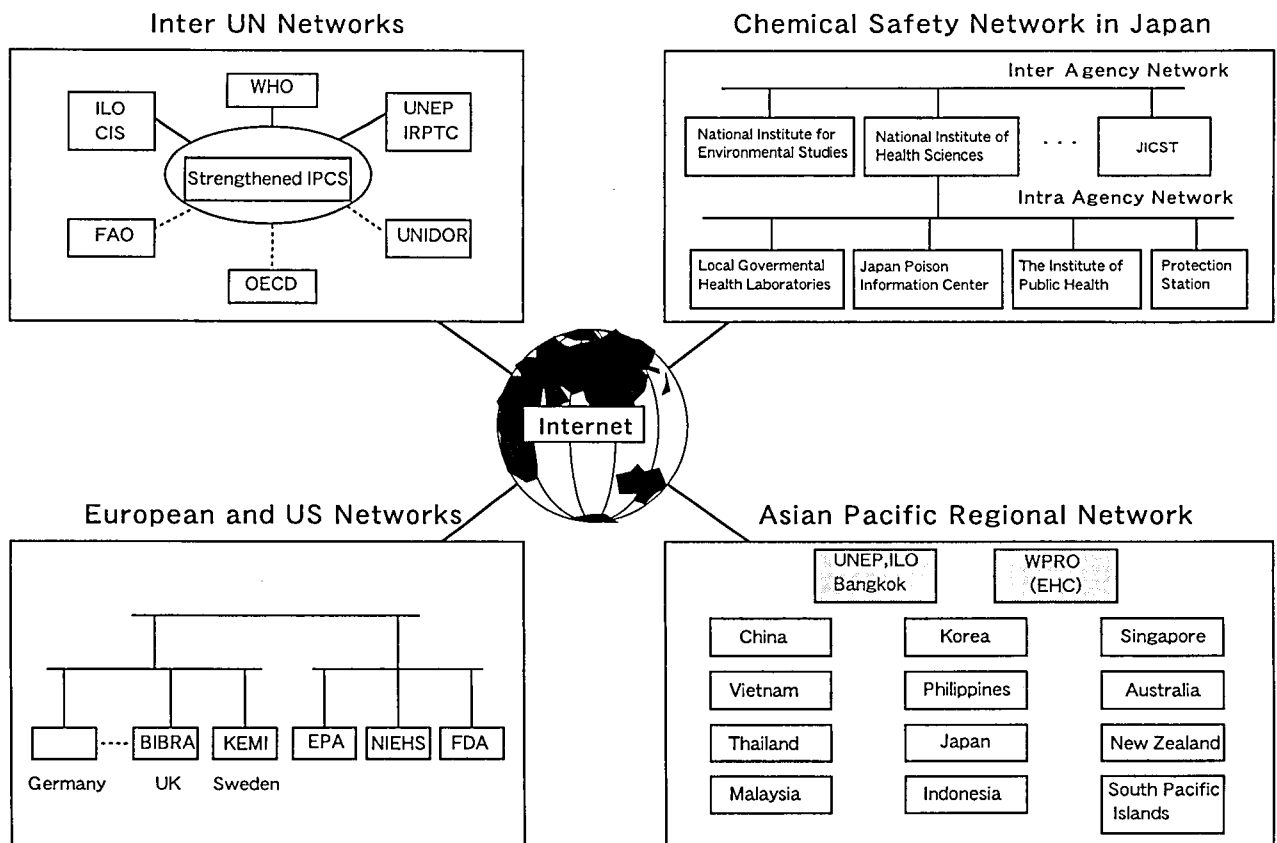


Fig. 3. GINC (Global Information Network on Chemicals)

2. 化学物質の安全性情報に関連した役に立つ

Web Site とのリンク

無数にある WWW 上のサイトの中で、化学物質安全性に関わる有用な Web サイトをリンクし、必要なときにすぐに、また無料で利用できる利点をフルに活用するため、分散している情報を集め、ハブの機能を充実させた。

まず、これらのサイトは、Infoseek, Lycos, Yahoo, Alta Vista および ネットスケープが持っている Net Search などのサーチエンジンを使い、キーワードで検索する。それから関連のサイトに接続しリンクされているサイトに実際にアクセスしてみて役立ちそうなものをリンクした。また、イエローページに当たる Internet Compendium⁵⁾ や IRPTC の WWW 情報ガイド⁶⁾ を参考にした。

機関として、国際機関 (国連機関, 国際的組織), 各国機関として海外の政府機関, 公的な重要な機関, 企業・業界, 非政府機関 (NGO) あるいは非営利組織などに分類して一覧した。情報の形態として、メディア別では出版物,

CD-ROM およびオンライン検索システムを含め、アウトプット別では、データベース・CD-ROM 等/総説・抄録等/ファクトシート・MSDS 等を中心に選択しリンクした。情報の内容では、アセスメント/環境/中毒/緊急時情報/農薬/規制・ガイドライン・基準/会議・条約等に絞って選択した。また、キーワードでサイトの検索が可能のように、サーチエンジンもリンクした。

この種の情報の中で、リスト、データ、要約などが搭載されていて非常に役に立つものを Table 2 にリストした。

V. GINC アジア太平洋ハブ (URL <http://www.nihs.go.jp/GINC/asia/index.html>)

アジア太平洋地域の国々に対し、日本およびその他の国、機関の持っている情報を提供するためのハブである。現在、構築中である。

考察および結論

以上のように、インターネット WWW 上のこの案内シ

Table 2. Selected useful web sites

データベース, CD-ROM

- * CCINFOdies (カナダ労働衛生安全センター (CCOHS) のデータベースの一覧など)
- * CIS/ILO Dstsbases on Chemical Safety (国際労働機関の化学物質安全性情報部門の案内と、データベース一覧など)
- * IAEA Database and Information Resources (国際原子力委員会が作成しているデータベースなど)
- * NIOSH Database Information (アメリカ労働安全衛生研究所のデータベース紹介など)

総説, 抄録

- * Environmental Health Criteria (EHC) : IPCS が編纂している化学物質の安全性評価文書 (およそ 180 巻) の EHC のサマリー (No. 150 以降 29 巻) を読むことができる。
- * NTP Study Information : NIEHS が行っているいくつかの化学物質安全性情報が見られる。Chemical Health and Safety Information に出版されているデータを化学物質, CAS ナンバーから探せる。Long term, Short term, Immunotoxicity, Reproduction, Teratology などからも検索できる。サマリーと化学構造が載っている。
- * ATSDR ToxFAQs : Toxicological Profile Query ; Internet Hazdat の検索できる。

ファクトシート, MSDS 等

- * ECDIN : EC によって開発されたヨーロッパ最大の化学物質データベースである。
- * U.S. EPA Chemical Substance Factsheets (University of Virginia) : 300 の MSDSs を提供している。
- * ATSDR Public Health Statement Text Research : 200 の Toxicological Profiles のサマリーが読める。78 の最新の Health Statement が入手できる。
- * Enviro-net MSDS Index (Utha Univ. の mirror site) 1500 物質の MSDS を有する。
- * University System of Georgia : MSDS の多くの Univ. sites とリンクしている。
- * USG (University System of Georgia) : MSDS Databases およそ 150 の物質データがある。
- * Online MSDS Projects (MSDS List) : 13 の MSDS, Factsheet の Site とリンクしている。
- * Oregon State Univ. : Gopher Menu で独自の MSDS を提供している。

中毒, 緊急時および農薬

- * Poisons Information Database (Singapore) : 自然毒および中毒情報, 世界の中毒情報センターのリスト。
- * US EPA's Pesticide Poisoning Handbook : 農薬の毒性情報満載, 中毒の症状からも検索可能。
- * Federal Emergency Management Agency (FEMA) (米国連邦非常事態管理局)。
- * Pesticide Action Network North America (PANNA) : 農薬汚染と監視ネットワーク-北アメリカ, 豊富なデータが含まれる。
- * US EPA Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substance (EPA の農薬関連情報)。

システムによる化学物質安全性情報の発信は、まだ緒についたばかりであるが、すでに頻繁に利用され、成果をあげてきている。

(1) ICSCについて

印刷物やインターネットによる情報の提供および利用は、提供形態や利用目的などに応じてユーザーがそれぞれ利用しやすい形を選択すればよい。したがって両者は競合するものではなく、相補的なものといえる。

(2) 新規データの入手、加工と提供および新規サイトの開拓

入手した出版物等は即、WWWのデータベースに加えている。ICSCやEHCの抄訳等はルーチンワークで蓄積を増やしており、まとまった段階でWWWに載せている。HTMLファイルへの変換もよい支援ソフト (Internet Assistant Word, HTML エディター, Netscape 3.0 Gold など) が利用できるようになり、時間の短縮や労力の軽減ができるようになった。役立つサイトはインターネット上のサーチエンジンを利用し自分たちで検索したり、WHOや関連機関に情報を提供してもらい検討しながらリンクを増やしている。しかし、時間と人の制限があり必ずしも十分ではない。

(3) データの更新

Windows 95あるいはNTに移行してから、手元のコンピュータからワークステーションやNTコンピュータに直接アクセスし、元のファイルを取り出し手直しすることが可能になり、更新作業が簡単になった。できる限り更新しているが、化学物質の安全性機関・研究所アクセスガイドは住所の更新、FAX、E-mailの追加等は変化が急激で対応が不十分である。また、WWWサイトも変更があるが、十分な対応はできていない。

(4) 利用度について

ファイル別にアクセスされた回数、アクセスしたクライアント別の回数、時間帯別などで自動集計されている。1996年5月の利用状況は、NIHSサイトに搭載されているファイルへのアクセス件数はのべ123613件であった。化学物質安全性機関・研究所ガイドへは159件、出版物リストでは合計約400件、ICSCへは317件、NIHSハブは英語310件、日本語588件 (情報部のページを含める)、GINCハブには270件 (GINCのvrmlによる地球の回転には490件)、役に立つ有用な他のサイトへのリンクへは英語346件、日本語269件、CSIフォーラムは92件、講演会は66件であった。「役に立つWebサイト」のみ英語ページの方がアクセスが多かった。NIHSホームページはイエローページなどにはまだ載せていないので、ロコミ、学会発表、国際会議などでのデモなどで少しずつ知名度が上がり、利用が広がっていると考えられる (2, 3, 4月と増加してきている)。状況から判断すると、必ずしも

NIHSホームページから入るのではなく、有用なファイルであると判断されたものは記憶機能に登録しておき、直接データベースにリンクしているように思われる。

(5) 利用の成果例

1996年3月Canberraで行ったGINCのデモンストレーションの後、米国EPAの研究者から、ATSDRの出版物を検索するのにGINCハブが非常に役立ち、数分で目的を達することができたという報告があった。また、日本消費者連盟が問題にしたアリルイソチオシアネートのヒトへの発がん性に関する情報の検索の一部に、当部のWWWが利用された。実際にはIARCの物質リストファイルでこの物質が1985年に出版のNo.3に評価されていることが検索によりわかり、直接モノグラフで調べることができた。また、NTP TRの物質リストファイルでは1983年にNo.234が出版されていることがわかり、既にリンクされているNTPのWebサイトでサマリーを読むことができた。

企業からも化学物質の安全性について問い合わせがあり、住宅メーカーがホルマリンのWHO基準を調査に来たこともあった。インターネットで簡単に検索できる問い合わせであれば、できるだけ調査協力しており、先に述べたMSDSなどにリンクし情報を提供している。

国連機関の出版物を注文する際も、そのリストを見ることができ、オーダーフォームで注文し実際にCD-ROMを5日で入手できた。

結論として、ハブ機能が非常に有効で、重要なことが分かり、今後、さらに機能を高めていきたいと考えている。GINCプロジェクトに参画している国際的な専門家の協力は不可欠である。また、有用なサイトや情報を発見する作業はどうしても人手に頼らなければならない面もあるが、化学物質安全性情報のインターネットのサーチエンジンやエージェントを開発することも考えている。

文 献

- 1) 大竹千代子, 中野達也, 神沼二真: インターネットによる化学物質安全性情報の案内システムの開発, 情報の科学と技術, **45**(10), 506~508 (1995)
- 2) 大竹, 由井, 中野, 神沼: WWWサーバーによる化学物質安全性情報の提供, 第17回 情報科学討論会 (1994)
- 3) 山本 都, 中野達也, 横手規子, 神沼二真: 国際化学物質安全性カード (ICSC) の作成および日本語への翻訳 衛生試験所報告, **112** (1994)
- 4) 関沢 純: EHCおよびHSGの作成の方法論, 化学物質の安全性についての国際協力10年のまとめ, 国立衛生試験所化学物質情報部 (1991)
- 5) The Internet Compendium Subject Guide to Health and Science Resources, MANSELL (1995)
- 6) IRPTC Draft, Internet Guide Finding Chemical Information, UNEP/IRPTC (1996)

インターネットによる医薬品情報提供

山本美智子・中野 達也・石川 恵司・五十嵐貴子・神沼 二真

Dissemination of Drug Information on the Internet

Michiko Yamamoto, Tatsuya Nakano, Keiji Ishikawa
Takako Igarashi and Tuguchika Kaminuma

We developed the system of the guide for the drug and the relevant information by using the database on the Internet. We set up a site of drug information (Drug Info Guide). This system enabled pharmaceutical and medical staff to easily access the latest drug information. Further, we attempted to promote the exchange of the information regarding the safety and the efficacy of drugs among them.

Keywords : World Wide Web, mirror site

(Received May 31, 1996)

はじめに

近年、ソリブジンと抗癌剤との併用による死亡事故、インターフェロン投与後のうつ状態からの自殺、さらには非加熱血液製剤による HIV 感染など、医薬品による事例が数多く報告されている。いずれのケースも、十分な情報提供がなされていなければ不幸な事態を最小限に食い止められたと考えられる。必要な情報を迅速に広く関係者に伝えるために、われわれはインターネット上で WWW (World Wide Web) とデータベースを利用し、医薬品および関連情報の案内システムの開発を試みた。これはインターネットの特性である双方向性を活かし、医薬品の安全で有効な使用など関係者間の情報交換の促進が期待できるシステムの開発を目的とした¹⁾。

方 法

化学物質情報部で開発整備している NICI (NIHS Information and Computing Infrastructure)²⁾ をベースとして、その Web サーバー上とデータベース管理システムである Sybase 上に置く情報を整備した³⁾。技術的には次の方法 (Fig. 1) を用いた。

1. ミラーリング

イギリス、マンチェスター大学にある PharmWeb のファイルを FTP (File Transfer Protocol) により、国立衛生試験所の Web サーバーにコピーする方法を用いた。このファイルは 24 時間毎に自動的に更新される。更新部分だけ取り込むので UNIX サーバーにも負荷が少なくすむという特徴がある。

2. Web からのデータベース検索

DB 管理システムである Sybase (Relational Database Management System) を使用し、Genera という Sybase と Web サーバーとの連携を取るプログラムを用いて、薬の説明書のデータベースである TIP (医薬品・治療研究会) の「薬のガイドデータベース」をインターネットの Web 上で検索できるシステムの開発を試みた。

結 果

Web とデータベース上に、医薬品への情報案内 (Drug Info Guide) を置いた。提供が可能になった情報の内容は化学物質情報部で開発整備している情報とジャンル別案内情報に大別できる。

1. 化学物質情報部で開発整備している情報

当部ではインターネットによる医薬品情報公開活動に賛同しているメンバーを中心に、以下のような形で情報の共同提供を行っている。

1) PharmWeb のミラーサイト設置

PharmWeb はイギリス、マンチェスター大学薬学部運営の国際的な薬学系ネットワーク Web であり、薬学、医学、医療に関連する情報を幅広く取載している。

PharmWeb の特徴として、世界 6 カ国 10 箇所にミラーサイトを設置しており、サイト間では PharmWeb の方針内容等について話し合いが行われる。アジア地区では国立衛生試験所にのみ設置している。ミラーサイトがあれば、アクセスが一個所に集中することもなく、アクセス時間も短く利用しやすいという利点がある。

また、PharmWeb 内には、現在 13 ヶ国の National Dis-

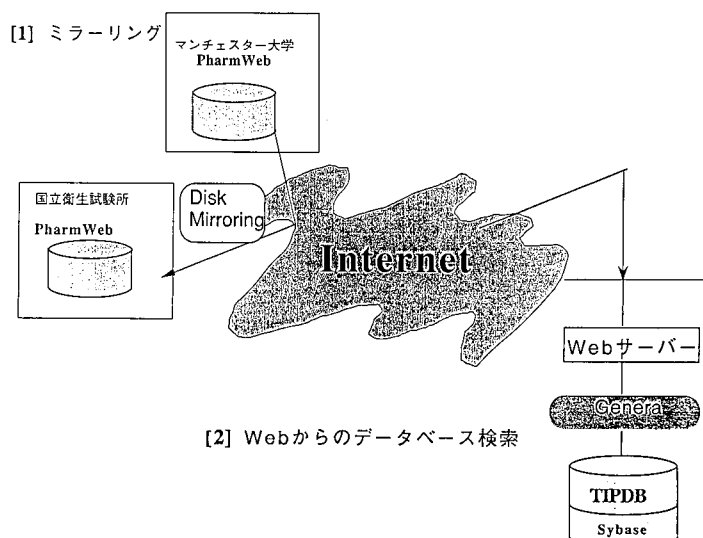


Fig. 1. The method for mirroring and the database query

cussion Groupが設定されている。日本の Discussion Groupについても設定を要請した結果、承諾され利用可能となった。

2) 薬の説明書データベース

これは、TIP作成の「薬のガイドデータベース」で、医療用医薬品についての一般向けの説明書 (Patient Medication Instruction)⁴⁾であり、176グループについて作成した。内容は、1. 何の薬? (効果・効能), 2. この薬を使用される前に、3. この薬の正しい使い方, 4. 使用中に注意すべきこと, 5. 副作用 (段階別に表示) からなる。検索方法として一般名、商品名、グループ名または薬効分類番号を入力する。例えば、グループ名のところにACE阻害剤 (またはアンジオテンシン転換酵素阻害剤) の部分名を入力すると、その一般名 (成分名) 一覧がでる。そこをクリックすると、その成分名を含む商品名を知ることができる。説明文書へは、それぞれのページから参照できるように作成した。薬についての理解を深めるため、「薬の正しい使い方」、「臨床試験とは?」についても解説を掲載した (Fig. 2)。

「薬のガイドデータベース」に関する問い合わせ、およびコメント等に応じるため、またグループ内のメールでの意見交換にも使用するために、メーリングリスト (tipdb@nihs.go.jp) を作成した。

3) 厚生省副作用情報英文版⁵⁾

現在、冊子体で海外に送付されている厚生省副作用情報を、No. 131からインターネットのweb上で見られるように再編集した。冊子体からのファイル作成にあたり、スキャナーで読み込み、OCRソフトでテキストファイルに変換した後、HTMLファイルに作成した (Fig. 3)。

4) 医薬品情報の資料370選

名城大学薬学部医薬情報センター編集の「医薬品情報の

資料370選」は、医薬情報活動の調査を行うために特に有用な資料をピックアップしたもので、主に1990年代に出版されたものを取載している。エクセルで書かれたファイルの提供を受け、Web上で検索できるように作成した。

5) 治験薬データベース

これは、国立国際医療センター薬剤部医薬品情報管理室において集積した日本の治験薬情報である。治験番号、会社名、一般名・成分名、商品名、特徴、組成、適応症、用法・用量、副作用、治験段階、文献からの検索を可能とした。

2. ジャナル別案内情報

薬に関する情報、病気と治療の情報、ニュースとトピック、出版物とジャーナル、関連機関、サーチのために、主要サイトの解説、医薬関連ニュースグループとメーリングリストの計8項目へ分類し、リンクをつけた (Fig. 4)。

医薬関連ニュースグループとメーリングリストの項目では、日本と海外のニュースグループをリストアップし、そこをクリックするだけで直接ニュースグループに入り記事を投稿または閲覧できるように作成した。メーリングリストは登録制になっており、会員の中だけでメールを介して意見情報交換を行うシステムであるが、主なメーリングリストを選びそれぞれについて登録案内を作成した。

考 察

これらの医薬品情報提供システムの構築後の Drug Info Guide (の日本語インデックスページ) への外部からのアクセス数は月毎の集計で見ると、1996年1月: 540, 2月: 745, 3月: 938, 4月: 1274, 5月: 1902とかなりのペースで増加した。またメールでの問い合わせ、特にリンクを張りたいという希望が多く寄せられた。薬学系大学の中で、医療薬学系、医薬品情報分野の方々からのニーズも

【薬のガイドデータベース検索例】

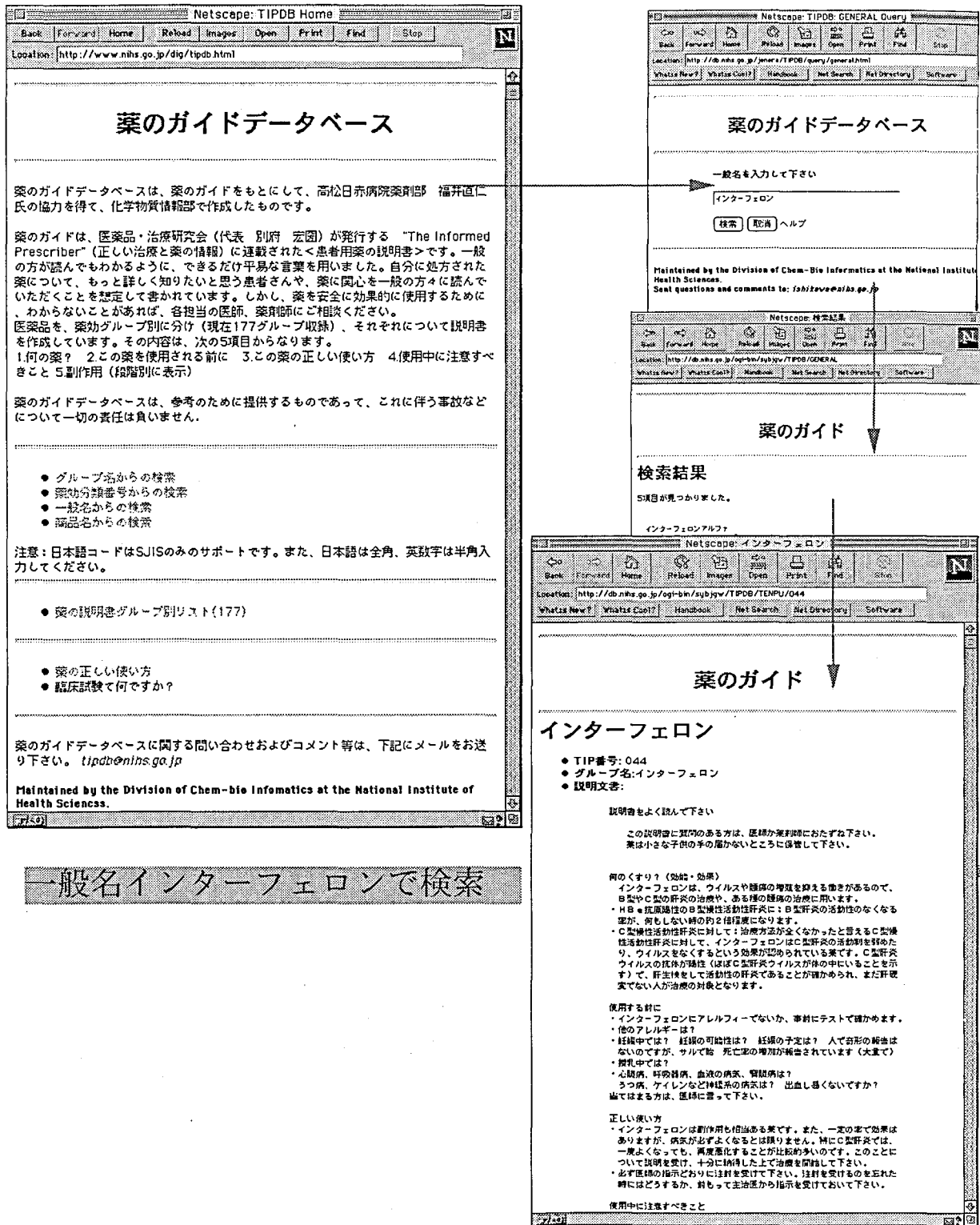


Fig. 2. The database query for the patient medication instruction (an example)

高く、医薬品情報検索に活用しているとのことである。

「薬のガイドデータベース」の構築にあたっては、現在テキスト形式でデータの提供を受けており、データを Sybase 上にのせるために加工処理が必要となっている。

Microsoft Access で作成したデータベース形式でデータの提供を受けると、そのまま掲載が可能なので、将来的に双方の環境が整えばそのような形式を取りたいと思っている。

医薬品副作用情報英文版

Information on Adverse Reactions to Drugs

厚生省薬務局安全課 医薬品適正使用推進室

厚生省において収集された副作用情報で、隔月に提供されている印刷物を Web 上で見られるように再編集した。

The image shows two overlapping browser windows from Netscape. The background window, titled 'Netscape: 131CON.html', displays the main page 'INFORMATION ON ADVERSE REACTIONS TO DRUGS'. It includes the date 'No. 131 April 1995' and a 'Contents' section with the following items:

- [1] Miconazole and Arrhythmia
- [2] Commentary on Proper Use of Drug
- Serious Adverse Reactions to Fluorouracil
- [3] Commentary on Proper Use of Drug
- Methotrexate and Serious Adverse Reaction Disorders and Interstitial Pneumonia

The foreground window, titled 'Netscape: 131MIC.html', shows a detailed page for Miconazole. It includes a 'Summary of Information' section with the following details:

- Drug(s): Miconazole
- Disposition: (A)(R)
- Summary: Arrhythmias, such as ventricular tachycardia, extrasystole or tachycardia were reported in eight cases following treatment with the antifungal agent miconazole. Six of these patients were elderly subjects over 65 years of age and most of them had serious underlying diseases such as heart failure, and received various concomitant medications. The adverse events, nevertheless, occurred immediately after or during administration of miconazole, and their relationship with the drug cannot be ruled out. Since arrhythmias such as ventricular tachycardia, extrasystoles or tachycardia may appear, patients receiving miconazole should be carefully observed and if any abnormality is noted, the drug should be discontinued and appropriate measures taken.
- (A): Amendment to Precautions for Use
- (R): Review of reported cases

Below the summary is a table for '[1] Miconazole and Arrhythmia':

| | |
|--|---|
| Active ingredient | Miconazole |
| Trade name | Floric-F inj (Mochida Pharmaceutical) and others |
| Classification by therapeutic category | Antifungal agent |
| Indications | The following infections caused by Cryptococcus, Candida, Aspergillus or Coccidioides susceptible to miconazole: Fungemia, pulmonary mycosis, gastric intestinal mycosis, urinary tract mycosis, mycotic meningitis |

At the bottom of the foreground window, there is a section titled '(1) Report of Cases' which begins with: 'Miconazole is an antifungal azole approved in November 1985 in Japan. There have been eight cases in which arrhythmias appeared following treatment with miconazole. Most of the patients involved were elderly and frequently had serious cardiovascular disorders such as heart failure. Furthermore, several of them were receiving concomitant medication. In all of these cases, however, arrhythmias occurred immediately after or during infusion of miconazole, and the relation of the adverse reactions with the...' (text is partially cut off).

Fig. 3. The information on adverse reaction to drugs on the web (an example)

情報案内(関連Webへのリンク)

分類項目 (リンクしたサイト数)

1. 薬に関する情報(51)

- 医薬品情報ネット(6)
- WHOの薬に関するプログラム(2)
- 服薬説明と質問コーナー(7)
- 医薬品データベース(16)
- 中毒情報(6)
- その他の情報(8)

2. 病気と治療の情報(60)

- 病気全般(9)
- 疾患別
 - エイズ(11) 癌(7) その他の感染症(7)
 - 糖尿病(3)
- 海外旅行と健康(6)
- 一般情報(17)

3. ニュースとトピック(11)

- 4. 出版物とジャーナル(18)
 - 出版物(15)
 - ジャーナル(19)
 - ライブラリー(3)

5. 関連機関(12)

- 6. サーチのために(8)
 - サーチ(4)
 - カタログ(4)

7. NewsgroupとMailing lists(11)

情報に関して自由に意見交換できるようなシステムづくりが望まれる。

共同作成情報を含む独自掲載情報についても、現在の協力スタッフを中心にネットワークがより広がることを期待したい。現在、日仏薬学会と提携しフランスの薬剤師による健康情報ジャーナル“info santé”の日本語版の本システムへの掲載を予定している。また PharmWeb の中に Japanese Discussion Group が設置されたが、他の国のものに比べて意見交換が活発に行われているとはいえない状況である。PharmWeb の主なファイルについて、利用しやすいように日本語での提供を進めている。

また、次の段階として、Drug Info Guide の中に Drug Information Forum をつくることで医薬情報の意見情報交換の場とし、Drug Info Guide 自体の充実を図りたい。またそのフォーラムのメンバーに、Drug Info Guide ニュースを定期的に配送できるシステムづくりを目指している。

謝 辞

この報告作成にあたり以下の方々のご協力を賜りました(敬称略)。ここに深く感謝いたします。

マンチェスター大学薬学部 A. J. D'Emanuele, 医薬品・治療研究会 別府 宏圀, 福井 直仁, 名城大学薬学部 大津史子, 国立国際医療センター薬剤部 古泉秀夫, 厚生省薬務局安全課 網岡 克雄

文 献

- 1) 山本美智子, 中野達也, 神沼二真, 別府宏圀, 福井直仁: 日本薬学会第116年会(1996.3)
- 2) 中田琴子, 中野達也, 神沼二真: 衛生試験所報告(本号)
- 3) 神沼二真, 中田琴子, 中野達也, 五十嵐貴子, 石川恵司, 蕪山典子: 衛生試験所報告(本号)
- 4) 医薬品・治療研究会: The Informed Prescriber(正しい治療と薬の情報)(1985~1995)に掲載された薬の説明書シリーズ
- 5) 厚生省薬務局安全課 医薬品適正使用推進室: 医薬品副作用情報, No. 131, 132 (1995)

Fig. 4. The list of the drugs served by the drug info guide

医薬品情報案内をはじめたころは、サーチエンジンなど情報検索システムも十分に整備されておらず手探り状態の船出であったが、今やインターネットによる医薬情報は飛躍的に増えている。医薬品情報の disclosure という点においても歓迎されるべきことである。しかし、それらをサーチし実際に役立つ情報かどうか判断するには、多くの時間、労力さらに専門知識が必要である。そのためには、複数の人々に協力または支援して頂き、インターネット上の

各国の安全性評価を国際化する IPCS の新しい評価情報シリーズ：
国際簡潔評価文書

関 沢 純

Concise International Chemical Assessment Document (CICAD):
A New Chemical Safety Series in IPCS, Internationalizing National Reviews

Jun Sekizawa

The Concise International Chemical Assessment Document or CICAD is a new chemical safety document series. It was launched by the IPCS in 1995, based on the decision of the International Forum on Chemical Safety in 1994, to internationally assess safety of 500 additional chemicals by the year 2000. The strategy to achieve this ambitious goal is to internationalize existing national assessment documents by rearranging contents of them into a standardized format, succinctly describing critical data, and adding international assessment process so as to be prepared efficiently, concisely and reliably. Critical review of document drafts by competent experts and input from countries including developing ones is required in the preparation. The author wishes to establish a framework to develop national reviews of chemical risk assessment domestically, while cooperating with this international programme.

Keywords : IPCS, Concise International Chemical Assessment Document, Chemical safety, Risk assessment, National review

(Received May 31, 1996)

経緯と趣旨

健全な地球環境を維持継承できるか否かは、人類を含むあらゆる生命の生存基盤を左右する問題となりつつある。1992年6月リオの国連環境開発会議では、人間活動と環境保護を調和発展させるための21世紀に向けた行動計画「アジェンダ21」が採択された。

「アジェンダ21」は全部で40以上の分野にわたっているが、第19章が化学物質対策となっている。化学物質対策のため6つの計画分野（プログラムエリア）が取り決められ、プログラムエリアAは「国際的な化学物質の安全性評価の推進」となった。

1994年3月の化学品安全政府間会議（IFCS: International Forum on Chemical Safety）は、この具体的な目標として「西暦2000年までに国際協力により、追加的に500物質の安全性評価を行う」を決議した。Environmental Health Criteria (EHC) 作成の実績を持つIPCSが国際的に安全性評価を進めるにあたり、重要な役割を果たすことになった。

これまでも国際的に化学物質の安全性評価の活動が、発癌リスクについて国際癌研究機関（IARC）、残留農薬についてFAO/WHO合同残留農薬専門家会議（JMPPR）、食品添加物、食品汚染物、動物用医薬品についてFAO/

WHO合同食品添加物専門家委員会（JECFA）、飲料水の安全について世界保健機関（WHO）、化学物質の健康と環境への影響全般については国際化学物質安全性計画（IPCS）や経済協力開発機構（OECD）などにより、進められてきた（Table 1）。これらはそれぞれ目的が異なるが、安全性評価の面で重複するところがあった。限られた資源を有効に使い、かつ国際的な化学物質安全対策の推進に役に立つ評価が要求された。

1. IPCSの戦略と、ステアリンググループによる
具体化

1.1 IPCSの戦略

IPCSは以下の戦略により、IFCSの要請に応えることにした。

- (1) リスクアセスメントのハーモニゼーションを進める。
- (2) 国際機関は従来の評価作業を推進するとともに、評価における重複を排除する。
- (3) 既存の各国の安全性評価資料（ナショナルレビュー）を活用し、国際的に利用することで、情報収集と評価作業の負担を減らし効率をあげる。
- (4) 安全対策に重要な情報を簡潔に要約した新たな評価文書を作る。

1.2 リスクアセスメントのハーモニゼーションについて

Table 1. International activities on chemical safety assessment

| Organization | Aim | Product | Target chemicals |
|---|--|---|---|
| International Programme on Chemical Safety (IPCS) | Evaluation of effects on health and the environment | Environmental Health Criteria (EHC) | Pesticides, environmental pollutants, industrial chemicals, food contaminants |
| International Agency for Research on Cancer (IARC) | Evaluation of carcinogenic risk to humans | IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans | Drugs, pesticides, industrial chemicals and industrial processes |
| FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Residues (JMPR) | Evaluation of acceptable daily intakes and maximum residue limits | Pesticide residues in food: Evaluations report | Pesticides |
| FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) | Evaluation of acceptable daily intakes and specifications | WHO Food Additives Series FAO Food and Nutrition Paper | Food additives food contaminants and veterinary drugs |
| World Health Organization (WHO) | Ensure safety of drinking water supplies | Guidelines for Drinking Water Quality | Chemical, physical, and biological agents |
| Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) | Initial assessment of hazards and testing requirement based on Screening Information Data Set (SIDS) | SIDS Initial Assessment Reports (SIAR) | High-production-volume (HPV) chemicals |

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations

IPCSは化学物質の安全性評価における国際協調と、評価成果の国際利用を進めるためにリスクアセスメントのハーモニゼーション諮問会議(1993年9月)を開いた。評価のハーモニゼーションを優先すべき分野として発癌性、遺伝毒性、生殖毒性を決め、1994年2月と、6月の二度にわたってワーキンググループ会議で検討した。

1.3 各国の安全性評価作業の調査と優先物質の検討

IPCSは、ハーモニゼーション諮問会議と並行してクライテリアドキュメント作成者諮問会議を開いた。会議開催に先立ち、各国における安全性評価作業の手続きを明文化した文書と、その成果である安全性評価資料について調査した。わが国にも問い合わせがあり、関係省庁に照会し回答を送った。調査とその後の分析を通じて、各国と国際機関の作成する安全性評価資料で取り上げられた化学物質は、3000物質以上に上ることがわかった。

IPCS/OECD優先物質検討会議(1995年2月)では、国際機関における既存の評価作業との重複を省きつつ、これらをベースとして国際的に利用可能な簡潔な安全性評価資料を作成する方策について議論された。会議には化学物質の安全性管理に関わる国際機関、政府、化学工業会の代表が出席し、IFCS決議の実現のために協議したが、出席者が多かったこともあって十分内容をつめることができなかった。具体的に計画を推進するためのスティアリンググループの設置が了承された。

1.4 スティアリンググループによる計画の具体化

1.4.1 第一回スティアリンググループ(1995年6月)

先進9ヶ国および、OECD、EUを含む4国際機関の代表が参加して開かれた。新しい簡潔評価文書では、これま

でIPCSが作成してきたEHCの科学的な信頼性を保ちつつ、各国や国際機関における化学物質の安全性管理のためのより直接的な参考資料を目指すことにした。新しい評価文書の名称、内容、作成手順、体裁、執筆指針、物質の選択基準、パイロット計画のスケジュールについて討議した。文書の名称は「国際簡潔評価文書(Concise International Chemical Assessment Document: CICAD)」と決まった。カナダがモデルを作り、これについて各国のコメントを募ることになった。モデルを参考にナショナルレビューに基づいて、各国でCICADを作成するパイロット計画を開始することにした。

1.4.2 第2回スティアリンググループ(1996年2月)

パイロット計画に参加した7ヶ国と、IPCS、OECDの代表が出席した。モデルCICADに対する各国からのコメント、パイロット計画で作成されたCICADドラフトを参考に、CICADの内容とフォーマット、レビュープロセス、データの質の評価について具体的に検討した。

2. CICADの作成対象物質

(a) 対象物質は工業化学物質、農薬、食品添加物、環境汚染物質であり、医薬品を除く。農薬を対象とするが、その最終評価はFAO/WHO農薬専門家会議(JMP)のコアアセスメントグループで行うことになった¹⁾。

(b) プライオリティの基準

(i)有害性の証明されていること、(ii)各国から関心が寄せられていること、(iii)広範な曝露が予測されること、(iv)国際的なリスク削減計画の対象になっているか、越境汚染が問題となっていること、(v)信頼できるナショナルレビューが存在することが、CICAD作成優先の基準となる。

Table 2. Criteria document database for CICAD priority setting (the table is an example, not a complete version)

| Name | Chemical | | Japan | | International Organization | | | | Canada | | Germany | | UK | | Netherlands | | | | USA | | | | |
|---|------------|------------|-------|------|----------------------------|------|------|--------|--------|------|---------|---------|------|---------|-------------|------|------|-------|-------|-----------|---------|-------|------|
| | CAS_No. | PEL Others | CICAD | EHC | IARC | IMPR | OECD | ECETOC | PSAR | BUA | MAK | BIBRA | HSE | RIVM | WGD | GR | CTR | ATSDR | ACGIH | EPA CHIPS | EPA HAD | NIOSH | NTP |
| Acetaldehyde | 75-07-0 | 1990 C | | 1995 | 1985 | | | | | | 1986 | 1989 | 1990 | 1990B*1 | 1991* | | | | 1986 | 1983 | | | |
| Acetic anhydride | 108-24-7 | 1990 | | | | | TEST | | | | 1988 | 1990 | | 1986L* | | | | | 1986 | | | | |
| Antimony | 7440-36-0 | 1991 | | | | | | | | | 1988 | List | | | | | List | | 1986 | Yes | | | |
| Arsine | 7784-42-1 | 1992 A | | | 1989 | | | | | | 1988 | List | | | | | | | 1986 | | | | |
| Butylamine | 109-73-9 | 1994 | | | | 1984 | | | | | 1988 | | | | | | | | 1986 | | | | |
| Carbon tetrachloride | 56-23-5 | 1991 A,C | | | 1976 | | | | | 1990 | 1988 | | | 1991CI | 1978 | | 1990 | 1986 | | | 1984 | | |
| Chlorobenzene | 108-90-7 | 1993 A | | | | | | 1992 | | | | | | | | | 1990 | | | | | | 1985 |
| Chloromethyl methyl ether | 107-30-2 | 1992 | | | 1979 | | | 1993 | | | 1973 | 1989 | | | | | | 1986 | | | | | |
| Diaminoethane | 107-15-3 | 1991 | | | | | | | | | 1988 | 1990 | | 1986L* | | | List | 1986 | 1978 | Yes | | | |
| Dichloro-4,4'-diaminodiphenyl methane, 3,3'-(MDI) | 101-14-4 | 1993 | | | 1978 | | | | | | 1985 | | 1983 | | | | | 1986 | 1986 | Yes | | | 1978 |
| Dichloromethane | 75-09-2 | 1991 A | | 1984 | 1987 | | | | 1989TR | 1986 | 1986 | | | 1987BI | In prep | 1987 | 1988 | 1986 | Yes | | 1985 | 1976 | |
| Diethyl phthalate | 84-66-2 | 1995 | | | | | | | 1984TA | | | | | | | | | | 1986 | | | | |
| Diethylamine | 109-89-7 | 1989 | | | | | | | 1985TR | List | | Yes | | 1983L* | | | | 1986 | | | | | |
| Dinitrobenzene | 25154-54-5 | 1994, A | | | | | | | | | 1984 | Yes | | | | | | 1986 | 1978 | | | | |
| Diphenylmethane-4,4'-disocyanate | 101-68-8 | 1993 | | | 1979 | | | | | | 1984 | In prep | | | 1991 | | | 1986 | | | 1984 | | |
| Ethyleneimine | 151-56-4 | 1990 C | | | 1987 | | | | | | 1985 | | | | | | | 1986 | | | | | |
| Ethylene oxide | 75-21-8 | 1990 A,C | | 1985 | 1985 | 1968 | | | 1984TR | Yes | 1984 | | | 1991CI | 1989 | 1986 | | 1986 | Yes | | 1985 | | |
| Hexane-1,6-dithiocyanate | 822-06-0 | 1995 | | | | | | | | List | 1984 | | | | 1991 | | | 1986 | | | | | |
| Hydrogen cyanide | 74-90-8 | 1990 C | | | | | | | | | 1971 | | | 1983L* | | | | 1986 | Yes | | | 1976 | |
| Pentachlorophenol(PCP) | 87-86-5 | 1989 A | | 1989 | 1991 | | | | | 1985 | 1988 | | | 1991B | | | 1990 | 1986 | Yes | | | | |
| Toluene | 108-88-3 | 1994 A,C | | 1985 | 1989 | | INFO | 1988 | | | 1985B | | | 1988B | 1991 | 1988 | 1987 | 1986B | Yes | | 1983 | 1973 | |

PEL: Permissible Exposure Limits Evaluations by the Japan Society for Occupational Health

A : Review by the Air Pollution Control Bureau of the Environment Agency, Japan

C : Chemical Hazard Prevention Guidelines of the Environment Agency, Japan

IMPR: Joint Meeting on Pesticide Residues

EHC: Environmental Health Criteria of IPCS

IGSC: International Chemical safety Card of IPCS

OECD: OECD SIDS

ECETOC: ECETOC Technical Report or Joint Assessment

ECC, CL: EC Classification

BG: BG Toxicological Chemie Evaluations

BUA Stoffberichte

PSAR : Priority substances List Assessment Report

HSE: Toxicity Review of Health & Safety Executive, UK

MAK: MAK Commission Report

RIVM: Integrated Criteria Documents of RIVM

GR: Dutch Health Council Committee Report

WGD: Dutch Occupational Standards

ACGIH: ACGIH Documentation of Threshold Limit Values

ATSDR: ATSDR Toxicological Profile

CIR: Safety Evaluations of Cosmetic Ingredients

EPA CHIP: Chemical hazard Information Profile

EPA HAD: Health Assessment Document

NIOSH: NIOSH Criteria Document

**Japan proposed to prepare CICAD draft based on PEL document

(c) 安全性評価資料のデータベースを用いて国際的な労力の重複を排除することにした。国際有害化学物質登録制度 (IRPTC) が作成することになっているデータベースがいつまでも利用できる状況にならないことから、筆者らがこれまで作ってきたデータベース²⁾を提供することになった (Table 2)。

(d) パイロット計画で作成中のCICADの対象物質はTable 3に示した。筆者らは化審法の第二種特定化学物質指定の際の資料もひとつの参考として、トリフェニル錫についてCICADドラフトを作成している。

3. フォーマットと内容

CICADの章構成、要約記述のポイントをTable 4に記した。

(a) データの詳細はCICAD作成の基礎となったナショナルレビューに委ね、簡潔かつ的確に健康と環境への影響評価にとりキーとなる研究データを要約し記述する。

(b) ナショナルレビュー作成時以降のデータを補完する。

(c) 要約とその背景データを基に、影響の内容と影響の見られたレベル、健康影響についてはNOAEL (無毒性量)、環境影響についてはEC50 (50%影響濃度) などの評価を行う。読者の参考として、曝露評価と組み合わせたりスクの総合判定 (Risk characterization) を行い、その結果導かれる指針値 (Guidance value; たとえばADIやMargin of Safety など) を記す。同時に評価における不確実性要因を明記する。

(d) 途上国から要望のあった事故対策や治療法の情報に

Table 3. CICAD Pilot chemicals

| Chemical | Sponsor |
|------------------------------------|--------------------------|
| Pesticides | |
| Linuron | UK/MAFF |
| Monolinuron | UK/MAFF |
| Amitraz | US EPA/OPP |
| Atrazine | Australia/US EPA/OPP |
| Simazine | Australia/US EPA/OPP |
| Other Chemicals | |
| 1,1,1,2-Tetrafluoroethane(HFC134a) | UK/HSE |
| o-Toluidine | UK/HSE |
| Manganese | US/ATSDR |
| 2-Butoxyethanol | US NIOSH and UK/HSE |
| Particulate matter 10 (PM10) | US EPA/ORD |
| Formaldehyde | US EPA/OPPTS |
| N-Phenyl-1-naphthylamine | Germany/BUA |
| Chloranil | Germany/BUA |
| Biphenyl | Germany/BUA |
| d-Limonene | Sweden/KEMI |
| Triglycidylisocyanurate | Australia/HSH and UK/HSE |
| 1,1,2,2-Tetrachloroethane | Canada/Health Canada/EHD |
| 3,3-Dichlorobenzidene | Canada/Health Canada/EHD |
| Methyl methacrylate | Canada/Health Canada/EHD |
| Triphenyltin | Japan/NIHS |

MAFF: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food
 OPP: Office of Pesticide Program
 HSE: Health and Safety Executive
 ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry
 NIOSH: National Institute for Occupational Safety and Health
 ORD: Office of Research and Development
 OPPTS: Office of Pollution Prevention and Toxics
 BUA: Federal Ministry of Environment
 KEMI: Swedish National Chemical Inspectorate
 HSH: Department of Human Services and Health
 EHD: Environmental Health Directorate
 NIHS: National Institute of Health Sciences

Table 4. Table of contents of a CICAD

| | |
|--|--|
| Section 1- Preface and Executive Summary | Preface should clearly indicate purpose, the primary producer of the document and its source document. Executive summary, not to exceed one page, should summarize key findings for policy makers or non-scientific users. |
| Section 2- Identity and Physical/Chemical Properties | |
| Section 3- Analytical Methods | |
| Section 4- Sources of Human & Environmental Exposure | Global production and use data with trend, as well as natural source of exposure be included. |
| Section 5- Environmental Transport, Distribution and Transformation | |
| Section 6- Environmental Levels | Monitoring data be provided in tabular form in ranges, clearly specifying background levels and polluted region levels |
| Section 7- Human Exposure Levels | Of general population as well as occupational settings |
| Section 8- Comparative Kinetics and Metabolism in Laboratory Animals and Humans | |
| Section 9- Effects on Laboratory Mammals and In Vitro Test Systems | Subsections for each endpoint with key values (NOAEL etc) |
| Section 10- Effects on Humans | |
| Section 11- Effects on Other Organisms in the Laboratory and Field | Separate field studies from lab ones, consider ecosystem effects wherever possible, in addition to effects on specific organisms |
| Section 12- Previous Evaluations by International Bodies | |
| Section 13- Effects Evaluation | Separate subsections for Evaluation of Health Effects, and Evaluation of Environmental Effects, each subsection describing uncertainties, sample risk characterization and guidance values |

については、当該物質について IPCS は国際化学物質安全性カード (ICSC) を並行して作成し、ICSCにこれらの情報を盛ることとする。現在の ICSC には、治療法についての情報が欠けているので収載を検討してもらう。同様に要望のあった各国の規制情報については、IRPTC が作成している化学物質法規制データベースを参照してもらう。

4. CICAD 作成手順のフローチャート (Fig. 1)

(a) ナショナルレビュー (英語で書かれたもの) の中から各国が CICAD の作成を担当する物質を提案する。EHC や、OECD や IARC などの国際機関による他の安全性評価と対象物質の重複を避けるように調整する (Table 2 参照)。

(b) ナショナルレビューおよびその他の資料を参考にし、CICAD ドラフトを作成する。

(c) 各国や関係団体に CICAD 物質リストを提示し、情報とコメントの提供の協力を求める。

(d) コメントや情報提供を参考に、内容の改訂と問題点の整理をする。

(e) Final Review Board では、いくつかの CICAD ドラフトをまとめて、予め整理した問題点を中心に討議し、効率をあげつつ信頼性ある評価資料を作る。

5. レビュープロセス

レビュープロセスは、評価の透明性と信頼性確保の上から、ドラフト作成に次いで重要である。従来、IPCS の EHC ドラフトへのコメントを集めるために、全世界 150 カ所以上のすべてのコンタクトポイントにドラフトを送付し、そのうちのいくつかからかなりの量のコメントが送られてくるのに最低 3 カ月ほど要していた。手間とコストを省き効率を図りつつ、CICAD の信頼性を高めるために、ステアリンググループは次の手続きを考案した (Fig. 1)³⁾。

(a) 広範なレビューに付す前に、CICAD ドラフトの要件を満たしているか否かをドラフト作成者間でチェックし、合格したドラフトのみについてコメントを求める。

(b) CICAD ドラフトのリストを公表 (電子メールや FAX を利用) し、一定期間内にコメントや情報を提供しようとする機関、専門家を募る。コメント提供の意思表示をした相手と、当該ドラフトの関連分野に詳しい専門家のみ、CICAD ドラフトと背景として利用されたナショナルレビューを送付する (可能な相手にはインターネットを利用)。この際に途上国の状況や意見も反映するように、送付先には地理的な配慮も加える。

(c) レビューアの指針を作成し、的確なレビューによるコメントを期待する。

(d) Final Review Board (FRB) では 10 前後の CICAD ドラフトを検討するが、送られたコメントを基に予め問題点を整理しておき、問題点についてのみ討論する。問題のないことが判明したドラフトはその旨を FRB に報告し、了承を得るものとする。

(e) 文章上の最終編集は IPCS とドラフト作成者の協力により行われる。

6. 基礎となるデータおよびドキュメントの質の確保について

CICAD を作成する上で基礎となるナショナルレビューやオリジナル文献の記述内容と、信頼性がキーとなる。IPCS は安全性評価のサイドから、オリジナル文献の作成者、およびナショナルレビューの作成者に宛て、データとレビューの信頼性保証のために記述および情報のまとめ方についての要望をつくることにした。

7. インターネットの利用

IPCS、CICAD 作成者、レビューア、CICAD のユーザーの間でのコミュニケーションを活発化、効率化するためにインターネットの利用を推進することにした。なお、CICAD の概略についての解説を、国立衛生試験所化学物質情報部が提供する Chemical Safety Forum のホームペ

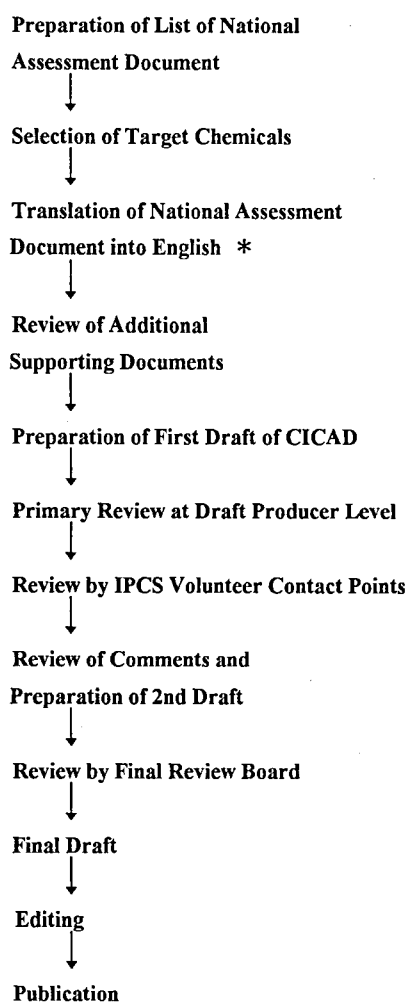


Fig. 1. Flow chart of CICAD Development

* Applies to Japan only

ージ (<http://www.nihs.go.jp/CSI2/index.html>) に掲載した。また今後作成される CICAD のリストは、本ホームページおよび世界保健機関 (World Health Organization) の Headquarter's Major Programmes のホームページ (http://www.who.ch/programmes/WHO_Programmes.html) の IPCS の項に掲載されるであろう。

結 論

(1) 化学物質の安全性情報の重要性はいうまでもない。情報の基となるデータの作成と評価は目に見えないがたいへん手間とコストのかかる作業であり、冒頭に記した地球環境の保護と人間活動の調和を的確に実現していく上でかせない基礎を提供するものである。この基礎の上に立つてある意思決定をし、新たな行動を起こし改善を加えようとする時、社会の構成員の理解と了承を求める必要がある。したがって化学物質の安全性評価において、そのプロセスのクリティカルネス (科学的な正当性) とトランスペアランス (透明性) の両方が要求される。このためには、リスクアセスメントのハーモニゼーションとコミュニケーション (知識の共有と共働) が重要な鍵となる。

(2) CICAD 計画を国内で効果的に推進するために、化学物質安全性評価の専門家と関係省庁が参加した委員会を

持ってご協力を願っている。わが国ではこれまでのところ試験報告やデータ集でなく、科学的な批判検討を経て公表されるナショナルレビューとしては、環境庁大気保全局が大気環境学会誌に発表している健康影響評価検討会報告がある。わが国で行っている安全性評価の成果が、ナショナルレビューとして国内外でより多く公表されていくことを切望する。筆者らは、さらに広範な方面による協力と成果の利用を求めて CICAD の内容とプロセスを明示していくとともに、国内におけるリスクアセスメント手法の確立に IPCS の EHC を生かそうと、リスク評価関連の EHC の翻訳出版を進めている。

文 献

- 1) 関沢 純：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、衛生試験報, **113**, 84~90 (1995)
- 2) Sekizawa, J., Yang, X. and Ohtake, C.: Development and use of a criteria document database for risk assessment of chemicals, eds., Andrews *et al.*, Hazardous Waste and Public Health, Princeton Scientific Publishing Co., Princeton, 872~878 (1994)
- 3) IPCS: Report of the IPCS second steering group meeting on concise international chemical assessment documents (CICADs), IPCS/CICAD/96. 17 (1996)

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 (1995 年度)

大竹 千代子

First Drafts of the Environmental Health Criteria (EHC) Circulated
for Comments by IPCS in 1995~1996.

Chiyoko Ohtake

Summaries of first draft of Environmental Health Criteria (EHC), which were circulated for comments by IPCS in the period of 1995~1996, are presented. EHC drafts on 9 compounds were received in this period.

Keywords : EHC, IPCS

(Received May 31, 1996)

はじめに

1995年4月から1996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9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)**No.1 Methanol (メタノール)** (1995/6/7)(化学式: CH_3OH , 分子量: 32.04)

メタノールは透明、無色、蒸発し易い引火性の液体である。メタノールは水および多数の有機溶媒に溶ける。ヒト、動物、植物体内の代謝により自然生成する。工業的には世界で年間約1900万トンと極めて大量に生産されている。メタノールの職業上の主な暴露は吸入と接触により生じ、多数の国の規制では一日8時間、週40時間労働での職場環境では 261 mg/m^3 (200 ppm) を越えないよう決められている。一般人の大気中暴露濃度は、職業暴露限界より一万倍ほど低い。

急性毒性は弱く、 LD_{50} と MLDs (最小致死量) は、マウス、ウサギ、イヌでは7000から10000 mg/kg 体重、サルでは2000から7000 mg/kg 体重である。

生殖毒性に関して、10000 ppm のメタノールに6週間吸入暴露されたラットでは黄体化ホルモンの異常が見られた。CD-1 マウスに対してメタノールを一日7時間、6~15日暴露した結果、7500 ppm 以上の濃度で胎児の死亡数が増加した。

ヒトの致死量は、一般的に30 ml と考えられている。通

常ヒトの血液中のメタノール濃度は 0.02 m mol/l 以下である。一般に血液中濃度 62 m mol/l で影響が現れ、 31 m mol/l で色覚異常、 $47\sim 62 \text{ m mol/l}$ で患者に死者が出るといわれている。実際には、1200 ppm あるいはそれ以上の気中濃度に暴露された労働者の場合、目のかすみ、視野の狭窄、色覚異常などの視覚障害が幾例か報告されている (原著104ページ)。

No.2 Boron (ホウ素) (1995/8/29)

(原子番号: 5, 原子量: 10.81)

(評価されている物質: B, NaB_4O_7 , H_3BO_3 , B_2O_3 , BCl_3 , BF_3 , $\text{NaBO}_3\text{H}_2\text{O}$)

ホウ素は、化学的性質は複雑で金属元素に似ている。天然には元素の形では発見されていない。最も一般的でよく知られているホウ素化合物は上記のものである。1987年のホウ素鉱物とホウ素化合物の世界の総生産量は、酸化ホウ素に換算して約130万トンである。主な用途はガラスおよびガラス製品、消毒薬、清浄剤、殺虫剤および木材防腐剤などである。揮発性が低く大気中には存在しない。

ヒトはホウ素を含んだ飲料水 (0.4~4.9 ppm) や、ホウ素に富んだ土壌・水で栽培された農作物などを通して暴露される。一日平均摂取量は1~3 mg ホウ素と推定される。

職業暴露は鉱業や工場でのホウ素ダストやガス状ホウ素化合物によるものが顕著であり、皮膚の傷口に接触すると吸収される。また、繊維ガラスや他のガラス製品、クリーニング、肥料、殺虫剤および化粧品製造に携わる労働者が暴露される。

ホウ酸および酸化ホウ素の毒性データは豊富にあり、これらの物質のホウ素の投与量を基礎にした試験によれば、同様の毒性影響が見られる。三塩化ホウ素および三フッ化

ホウ素に対するラットの吸入暴露による LC₅₀ は、それぞれ 12.2~21.1 g/m³ あるいは 0.89~1.2 g/m³ である。犬における生殖毒性に関する NOAEL は 8.8 mg ホウ素/kg 体重/日である。ラット、マウスおよびウサギの試験では発生毒性および催奇形性が認められた。ラット胎児の体重の減少と肋骨形成障害に関する NOAEL は 9.6 mg ホウ素/kg 体重/日である。

ヒトへの影響として、最小致死量は、ホウ酸による経口暴露、経皮暴露および静脈注射の場合、それぞれ 640, 8600 および 29 mg/kg 体重であった。推定致死量は幼児で 3~6 g, 大人で 15~20 g である。

環境への影響では、ミジンコのホウ酸暴露に対する 48 時間 LC₅₀ は、133~226 mg ホウ素/l であった (原著 131 ページ)。

No. 3 Teflubenzuron (1995/8/29)

(化学式: C₁₄H₆Cl₂F₄N₂O₂, 分子量: 381.1)

teflubenzuron の有効成分は固体、黄白色、無臭であり、いくつかの極性液体に泡立ちながら溶けるが、水や非極性液体には溶けにくい。わずかに揮発性があり、引火性および爆発性はなく、通常は 2 年間安定である。

teflubenzuron の有効成分および製剤は弱い毒性物質であり、経口試験によって急性毒性が認められ (グループ III, WHO の危険性分類, 1990), また経皮および吸入による急性毒性も認められている。ラットおよびマウスの経口試験による LD₅₀ は、5000 mg/kg 体重を越える。急性毒作用の徴候は、呼吸困難、運動性の減少および毛の逆立ちなどである。

ラット、マウスおよびイヌによる短期および長期試験では、肝臓が標的臓器である。ビーグル犬に対して、13 週間経口投与した結果、肝臓と胃の損傷に関わる NOEL は、オス、メスそれぞれ、3.5 および 4.0 mg/kg 体重/日であった。

benzoylphenylurea 化合物の発見は新しい害虫防除の方法をもたらした。teflubenzuron はこのグループ IGRs (昆虫成長制御剤) に属す第三世代の殺虫剤であり、キチン合成と脱皮過程をもつ害虫や病原菌に対し効果的な物質として知られている。蚊の駆除にあたって、水環境に対し利用される。施された水環境で、蚊の著しい死亡率 (特に幼生の) を示さないが、この化合物の最も特徴的なことは、蚊の幼生が無脊椎動物や脊椎動物などの捕食者の食物となる資源を提供することである。

teflubenzuron の効果は脱皮過程の阻害にあり、新しく合成される表皮にキチンの取り込みを抑制することにある。teflubenzuron はまた、表皮細胞から先端の微繊毛への前駆物質の移動も阻害する。表皮キチンの主成分の取り込みが阻害されると、脱皮過程は混乱する (原著 115 ページ)。

No. 4 Carbon monoxide (一酸化炭素) (1995/12/22)

(化学式: CO, 分子量: 28.01)

一酸化炭素は無色、無臭でヒトに有害な気体である。融点は -199°C, 沸点は -191.5°C であり、炭素を含む燃料の不完全燃焼の際や人体を含む天然の過程でも少量生成する。増加した CO の外的な暴露によりわずかな影響が現れ、高濃度に曝されると死に至る。

健康上の重要性は、一酸化炭素が血液中の酸素担い手であるヘモグロビン (Hb) と強く結合して COHb (一酸化炭素血色素分子) を形成するためである。一酸化炭素に対する Hb の親和力は酸素に対するより 240 倍大きく、血液中の COHb と O₂Hb の割合は一酸化炭素と酸素の分圧に依存する。

大気圏中に微量組成で存在する一酸化炭素は、自然と人間活動の双方に由来する。植物は代謝と生産の双方が可能なので、自然環境中では正常な組成と考えられる。濃度は地球環境レベルでは 50~120 ppb, 南半球より北半球が高く、また冬より夏に高い。

職業暴露や不完全燃焼機器による家庭での暴露により、一酸化炭素濃度は 100 ppm を越え、COHb 濃度は 10% となる場合もある。

無力症の影響は、健康な若年成人では 5% COHb 濃度から労働能力の低下が始まり、数例では 2.3~4.3% でも起きるといわれている。

発生毒性に関しては、150~200 ppm の一酸化炭素濃度 (およそ 15~25% COHb を導く) での母獣に対する試験では、仔獣の出生体重の減少、心臓肥大、発育遅滞や認識機能の遅れが観察された。

また、標高、薬物、他の汚染物質および環境因子と一酸化炭素との複合暴露についても触れている (原著 341 ページ)。

No. 5 Polybrominated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans (1995/12/22)

(化学式: C₁₂H_(8-n)O₂Br 分子量: 263.1~815.4 および

化学式: C₁₂H_(8-n)O₁Br 分子量: 247.1~799.4)

臭素化ジベンゾパラダイオキシンおよび臭素化ジベンゾフラン (PBDDs および PBDFs) は平面上に 3 環をもつ芳香族化合物である。理論的には 75 種の PBDDs と 135 種の PBDFs が考えられる。さらに、混合ハロゲン化合物は 1550 種類の臭素/塩素ジベンゾパラダイオキシン (PXDDs) と 3050 種の臭素/塩素ジベンゾフラン (PXDFs) が考えられる。最も毒性の強い化合物は 2, 3, 7, 8 の位置の置換体である。PBDDs と PBDFs は高分子量、高融点、低蒸気圧および低い水溶性の性質をもつ。これらは一般に、脂肪、油脂および有機溶媒に溶ける。物理化学的データは非常に少ない。

PBDDs と PBDFs の光分解は、PCDDs (塩素化一) と

PCDFs（塩素化一）よりも容易である。PBDDsとPBDFsは熱に安定であり、生成と分解の温度は酸素、高分子および三酸化アンチモンのような難燃剤の存在に依存する。焼却炉中では過剰な塩素の存在下で、塩素が臭素に置き代わり、臭素と塩素の混合したハロゲン化ジベンゾパラダイオキシンやベンゾフランが生成する。

PBDDsおよびPBDFsは環境中では自然には生成されない。それらは様々な過程の副産物として形成される。化学的にも、光化学的にも、また熱反応によっても前駆物質から、あるいは新たな合成により生成される。プラスチックなどの熱分解、火事の場合、廃棄物処理場・埋め立て地からも生成される。

環境濃度は、自動車道のトンネルや地下駐車場でMoB-DDs（モノ臭素化物）が 0.85 pg/m^3 を含む低臭素化（1~4）PBDDsが検出され、高臭素化（5~8）物は検出されていない。PBDFsはPBDDsより多く見つかり、低臭素化（1~4）物は自動車排ガスサンプル中に存在する。同様に、ダストサンプルからは最大 22280 pg DBDFs/g ダストが検出されている。

室内ではPBDFs（Brが4~7）が $0.25\sim 1.27 \text{ pg/m}^3$ 大気、室内のダストサンプルからは $2.43\sim 5.48 \text{ ng/g}$ ダストが検出されている。

研究の多くは2,3,7,8置換体のTBDD, 2,3,7,8-TBDF, および両物質混合化合物である。最も特徴的な毒性は、体重の減少、胸腺萎縮、免疫毒性であり、脾臓および肝臓障害、ホルモンの変化、催奇形性、角化症およびビタミンA欠乏症などもあげられる。これらは動物の種、血統、年齢および性に依存した多種多様な影響がみられる。

ウィスターラットに対するTBDDの経口投与試験による LD_{50} は、メスでは $100 \text{ } \mu\text{g/kg}$ 体重、オスでは $300 \text{ } \mu\text{g/kg}$ 体重であった。

ヒトへの影響としては、TBDD/TCDD暴露で塩素座瘡と、難燃剤の使用に伴うPBDDs/PBDFsによる暴露で、免疫学的パラメータの変化を引き起こした例がある（原著215ページ）。

No. 6 Tris(2-chloroethyl)phosphate and tris (2-chloroethyl)phosphate polymer (1995/12/22)

(Tris(2-chloroethyl)phosphate (TCEP),

化学式： $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{Cl}_3\text{O}_4\text{P}$, 分子量：285.49 および Tris(2-chloroethyl)phosphate polymer,

化学式： $(\text{C}_6\text{H}_{12}\text{Cl}_3\text{O}_4)_x$)

TCEPは、透明で無色から青白く黄み帯びた液体である。わずかに臭いがあり、10.8重量%のリンと36.7重量%の塩素が含まれている。

環境濃度は、北九州の大気中で $2\sim 5 \text{ ng/m}^3$ が検出されている。日本の調査（1977~1978）では海水から 90 ng/l のレベルが、また河川水では $0.017\sim 0.347 \text{ } \mu\text{g/l}$ が検出さ

れている。排水処理場近くの井戸水からは $0.57 \text{ } \mu\text{g/l}$ が測定されている。

コーンオイルに溶かしたTCEPの混合餌をラットに30日間経口投与した試験では、 LD_{50} がオスでは 1.23 g/kg 体重であり、メスでは 0.5 g/kg 体重であった。ウィスターラットへの 200 mg/kg 体重の経口投与では母獣の食欲は落ち、30匹中7匹の母獣が死亡した。また子宮と腰骨の異常が増加した。TCEPによって、精子の移動性や濃度、頭や尾を含めた精子の形態などに影響があらわれた。

350 mg/kg 体重の強制経口投与による5日間の試験では、80%のマウスの腎臓に細胞核拡大が観察された。ラットでは 88 mg/kg 体重の強制経口投与による5日間の試験では、オスに腎尿細管の腺腫が、またメスに脳の退行性疾患が観察された。神経毒性の影響は、コーンオイル中の 14.2 g TCEP/kg 体重を白色レグホンに3週間経口投与した場合にみられた。

ミジンコ類および金魚に対する96時間 LC_{50} はそれぞれ 1000 mg/l , 90 mg/l であった。

TCEPはヒトの発がん物質には分類されていない（グループ3, IARC, 1990）（原著41ページ）。

No. 7 Tetrakis(hydroxymethyl)phosphonium salts (THP salts) (1995/12/22)

(Tetrakis(hydroxymethyl)phosphonium hydroxide (THPOH), 化学式： $\text{C}_4\text{H}_{13}\text{O}_5\text{P}$, Tetrakis(hydroxymethyl)phosphonium chloride (THPC), 化学式： $\text{C}_4\text{H}_{12}\text{O}_4\text{P}\text{Cl}$, Tetrakis(hydroxymethyl)phosphonium sulfate (THPS), 化学式： $\text{C}_8\text{H}_{24}\text{O}_{12}\text{P}_2\text{S}$, Tetrakis(hydroxymethyl)phosphonium acetate/phosphate (THPA/P), 化学式： $\text{C}_{18}\text{H}_{51}\text{O}_{22}\text{P}_5$)

THPCおよびTHPSは結晶性の物質で水に容易に溶ける。どちらも引火性はなく、80および75重量%の水溶液で市販されている。市販のTHPCは、ホルムアルデヒドを3.7% (pH 4.0), 14.1% (pH 5.0以上)を含んでいる。

これらの物質は天然には存在しない。THPC-塩は1950年代から綿やレーヨン繊維に難燃剤として使用されてきた。環境中では熱および化学的過程によってホルムアルデヒドと塩化水素に分解される。Bis(chloromethyl) ether (BCME: ヒトの発がん物質に分類されている)が合成の副産物あるいは化学平衡によって生成されると思われる。また、THPCおよびTHPS処理繊維製品の使用や工業的な利用には有害であると考えられる。

1 mg THPOH/l 水に暴露された6匹の金魚うち、20日間で5匹が死亡し、1匹のみが30日間生存した。

Tetrakis(hydroxymethyl)phosphonium saltsは、ヒトの発がん物質には分類されていない（グループ3, IARC, 1990）（原著40ページ）。

No. 8 Acetone (1996/1/23)(化学式: C_3H_6O , 分子量: 58.08)

アセトンは無色で弱い刺激性のある芳香性をもった、流動性のある引火性の液体である。水に溶ける。アセトンの11の製造業者によるアメリカでの生産量は23億ポンド(約100万トン)と報告されている。アメリカでの1987年のアセトンの使用形態は、メチルメタアクリレート・メタアクリル酸の製造(34%)、塗装用溶媒(15%)、ビスフェノールAの製造(12%)、メチルイソブチルケトンの製造(10%)、アセテート繊維(5%)、薬物および薬品加工(5%)などとなっている。

アセトンの環境運命は、大気中に放出されると光分解およびヒドロキシラジカル反応の組み合わせによって分解される。大気中での分解の半減期は25日以下である。

アセトンには自然および人為的起源があり、血液、尿およびヒトの呼吸中の成分として発生し、また、下水、固体廃棄物およびアルコールの微生物分解産物やフミン物質の酸化物として現れる。

急性毒性は淡水・海水の動植物の48時間および96時間の LC_{50} および EC_{50} は概ね5540 mg/l以上であった。最も強い LC_{50} は100 mg/l以上とされている。

ラットの90日強制経口投与試験では、腎臓への影響(腎臓の重量の増加、尿管の退化およびヒアリン滴濃縮)が500 mg/kg 体重/日以上で観察され、NOELは100 mg/kg 体重/日と評価されている(EPA)。

メスのラットに行われた13週間におよぶ飲料水中混餌投与試験では、20000 ppm以上(1700 mg/kg 体重/日)で、器官の重量と血液学的パラメータの変化、および弱い腎症が現れた(NTP)。50000 ppm(3400 mg/kg 体重/日)の飲料水に暴露されたラットは、わずかに精子運動に変化がみられ、精子の形態に異常がみられた。

急性毒性は他の工業用溶剤に比較して低いと考えられるが、高濃度のアセトン蒸気は中枢神経系うつ病、心因性呼吸困難症および死亡の原因になることがある。ヒトの呼吸による急性暴露は、大気濃度が2000 ppm程度では特に毒性はなく、目の刺激のみであった(原著138ページ)。

No. 9 Demeton-S-methyl (1996/1/23)(化学式: $C_6H_{15}O_3PS_2$, 分子量: 230.3)

demeton-S-methylは刺すような臭いをもった、青白く黄色味おびた油状の液体である。果実、穀物、観葉植物および野菜中につくAcarina(ダニ類)やHomoptera(同翅類)の駆除のために、殺虫剤や殺ダニ剤として利用され

ている有機リン系殺虫剤である。低い蒸気圧をもち、ほとんどの有機溶媒に速やかに溶ける。demeton-S-methylは光分解はしない。加水分解はpHに依存し、pH6では半減期が63日、pH8および9では8日である(22°C)。

一般人への暴露は食品中のdemeton-S-methyl残留による影響が第一と考えられる。残留量は0.01~1.0 mg/kgが挙げられている。勧告されたADIは0.0003 mg/kg 体重である。

皮膚からの過剰な摂取は高濃度製剤梱包時の職業暴露として起こり、労働者に副交換神経毒性を及ぼす。demeton-S-methylはラットの消化管から急速にほとんど完全に吸収され、体内の細胞に均一に(赤血球中に高濃度に分布するのを例外として)分布し、速やかに尿から排泄される。血液中の濃度は2時間で初期濃度の半分になる。

1年間のイヌの経口試験では、脳コリンエステラーゼの影響に関わるNOELは1 mg/kg 食餌であり、これは0.036 mg/kg 体重/日に当たる。ウサギでは1 mg/kg 食餌(0.024 mg/kg 体重/日)、ラットでは1 mg/kg 食餌(0.05 mg/kg 体重/日)であった。ウサギ・ラットに腫瘍は見られなかった。

2世代のラットの経口試験では、5 mg/kg 食餌を投与した場合に、生存数と体重の減少が仔に見られた。NOELは1 mg/kg 食餌であり、これは0.07 mg/kg 体重/日に相当する。

demeton-S-methylは毒性の強い(クラス1b, WHOの危険性分類, 1994)有機リンエステルであるとされている(原著65ページ)。

この1年間に出版されたEHCおよびHSG**EHC**

- No. 166 Methyl Bromide
- No. 167 Acetaldehyde
- No. 168 Cresols
- No. 170 Assessing Human Health Risks of Chemicals: Derivation of Guidance Values for Human Health-based Exposure Limits

HSG

- No. 92 Morpholine
- No. 93 Brodifacoum
- No. 94 Bromadiolone
- No. 95 Difenacoum
- No. 96 Warfarin
- No. 97 Methomyl

自動分析装置を用いた血清生化学検査での酵素活性計算法の変更について
—Kファクターとヒト標準血清を用いた測定(計算法)の比較—

斉藤 実・長谷川隆一・井上 達

Change of Calibration Method for Enzyme Assay in Clinical Biochemistry
Using Automatic Analyzer

—Comparison of calibration methods using K factor and human standard serum—

Minoru Saitoh, Ryuichi Hasegawa and Tohru Inoue

Enzyme activities in serum from experimental animals had been assayed by HITACHI 7150 Automatic Analyzer using K factors for calibration. Because K factor is derived from a molar extinction coefficient and, reagent and sample volumes for each assay system, it is a constant value in usual assay. As an alternative calibration method, a human standard serum, which is commercially available and well-controlled, is presently used in the same assay system because of some difficulties in supply. Four serum enzymes of human, rat, dog and monkey sera were determined by the above two methods. All values calibrated by human standard serum were approx. 10% higher than that using K factors. These small differences are allowable because data calibrated by human standard serum can be compared with previous data given by K factors.

Keywords : enzyme activities in serum, automatic analyzer, K factor, human standard serum

(Received May 31, 1996)

はじめに

日立 7150 形自動分析装置を用いた酵素活性の測定は、Kファクター法(以下に説明)を用いて行われていた。しかし、最近、血清の尿酸測定試薬の変更にもない、尿酸標準液がヒト標準血清(キャリブレータ:ベーリンガーマンハイム社製)に変更となった。ヒト標準血清は各種の酵素および血清成分が正確に測定された凍結乾燥品で、その保存法および測定時の調整法等が厳格に規定されたものである。

そこで、今後は血清酵素活性の測定についてもこのヒト

標準血清を用いて測定することになるために、ヒトならびに各種実験動物の血清酵素活性をKファクターおよびヒト標準血清を用いた方法で測定し、比較検討を行った。最初に上記の2法の測定(計算法)原理について解説する。

1. Kファクターによる計算法(Kファクター法)

Kファクター法はTable 1に示した式によって求められる値である¹⁾。個々のパラメーターのうち、試薬容量および試料容量は通常の測定では一定である。εは反応生成物のモル吸光係数であるが、基質緩衝液が決まれば実測することにより求めることが出来る。したがって、Kファクターは定値となり、試薬メーカーによって決定された値

Table 1. Calculation formula for enzyme activity

$$mU/ml, t^{\circ}C = \frac{\Delta A}{min} \times \frac{\text{K Factor}}{\frac{1}{\epsilon} \times \frac{1}{L} \times \frac{S_v + R_v}{S_v}} \times 10^6$$

U (Unit): Enzyme activity which transforms 1 μmol substrate per min

t°C: Temperature of measurement (usually 37°C)

ΔA/min: Change of optical density per min

ε: Molar extinction coefficient, Optical density of 1 M substance solution in 10 mm light path (l·mol⁻¹·cm⁻¹)

L: Light path (mm)

S_v: Sample volume (μl)

R_v: Reagent volume (μl)

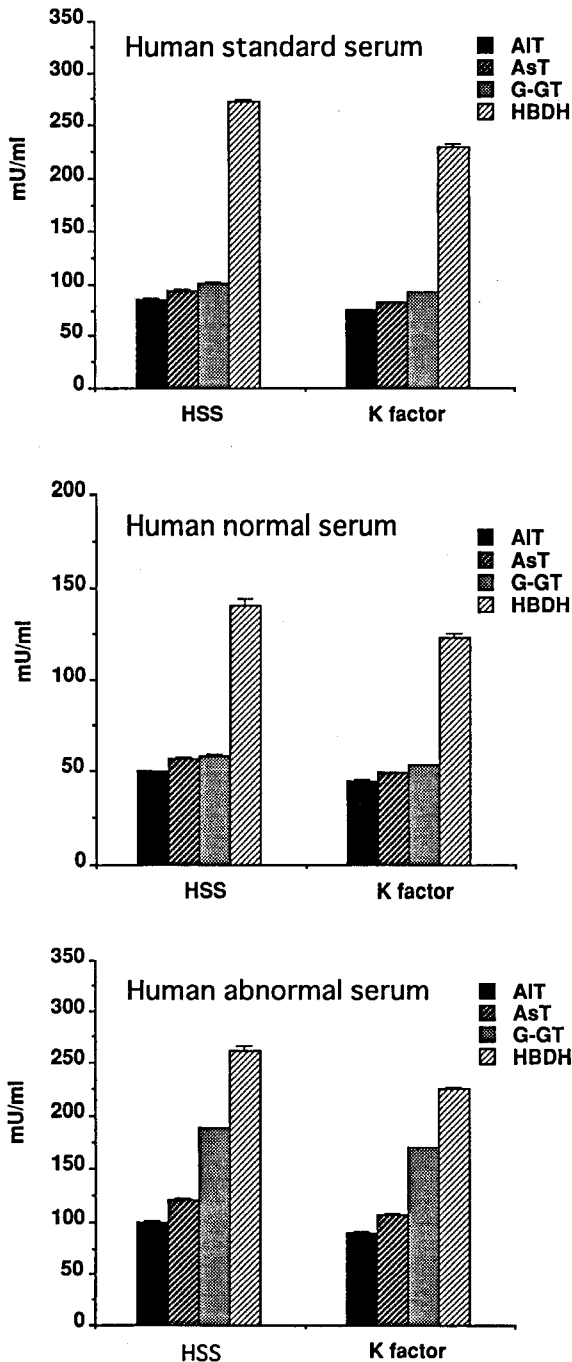


Fig. 1. Enzyme activities in three different human sera calibrated by human standard serum (HSS) and K-factors

を入力して使用することになる。

理論的には反応セルや光源の劣化など装置側の問題でKファクター法は変化しうるものであるが、通常は定期点検により恒常性は保たれるものと考えられる。なお、得られたサンプルの酵素活性は反応生成物の吸光度すなわち濃度と比例することになるので、測定時の酵素反応が正常に進行していることを直接示していることになる。

さらに、測定の度に管理血清を用いた精度管理が行われ

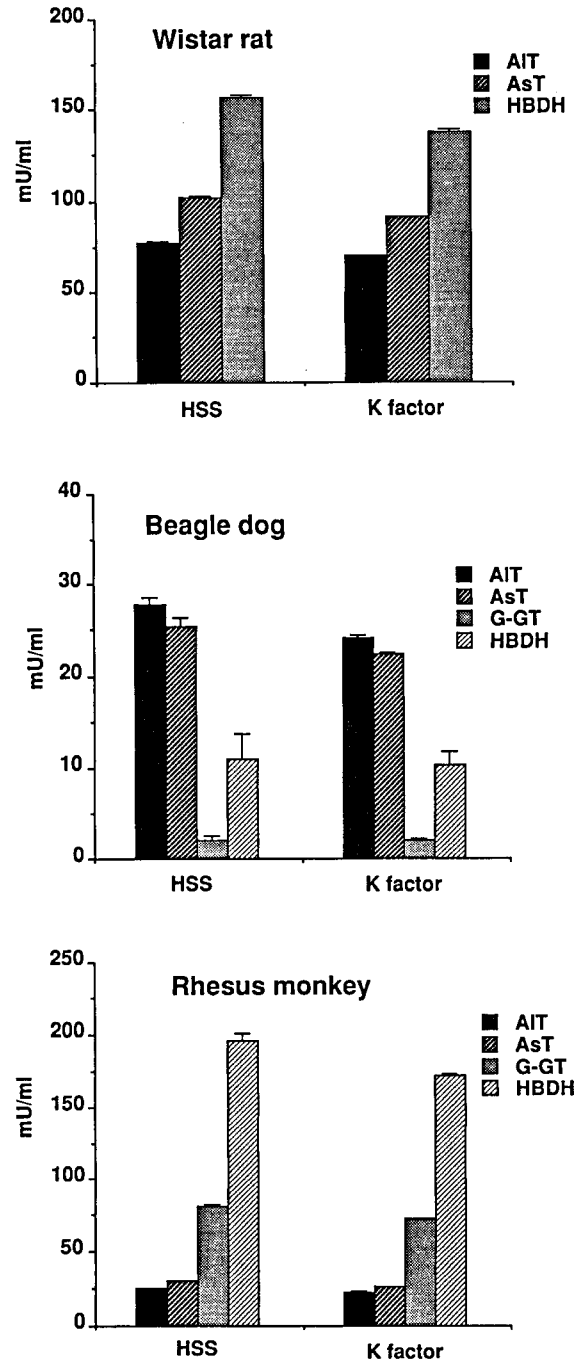


Fig. 2. Enzyme activities in rat, dog and monkey sera calibrated by human standard serum (HSS) and K-factors

る。管理血清としてヒト正常値血清およびヒト異常値血清が市販されており、それぞれの血清酵素活性および血清成分の値が変動幅を含めて記載されている。これらを測定しそれぞれの測定値がその範囲内に入れば試薬および装置が正常に機能しているものと確認される。

2. ヒト標準血清を用いた計算法 (キャリブレーション法)

試薬メーカーで調製、検定されたヒト標準血清を標準液として用い、それぞれの標準液に添付された酵素活性値を測定の度に入力して測定する。実際に酵素活性を有する標

準液を用いることから、測定装置あるいは試薬等が多少変化した場合でもサンプルの測定結果は信頼できるものである。

一方、得られたサンプルの酵素活性は標準液の酵素活性に基づいて計算されたものであるが、標準液の吸光度は常に表示されるため、酵素反応そのものが正常に進行していることを確認することは出来る。

さらに、上記と同様に測定の度に管理血清を用いて精度管理を行う。

3. Kファクターおよびキャリブレーション法による測定値の比較

両計算法を用いて、自動分析用キャリブレーション法：(ヒト標準血清)、管理血清：Precinorm U (ヒト正常値血清) および Precipath U (ヒト異常値血清) (ベーリンガーマンハイム)、ラット (Wistar 雄 18 週齢)、イヌ (Beagle 雄) およびサル (Rhesus 雄) の血清について alanine transaminase (ALT), asparaginic acid transaminase (AsT), γ -glutamyl transaminase (G-GT) および 2-hydroxybutyrate dehydrogenase (HBDH) を用いて活性をリキテック (ベーリンガーマンハイム) で K ファクターおよびキャリブレーション法により日立 7150 形自動分析装置を用いてそれぞれのサンプルを 4 回測定した。なお、ラットのサンプルに限り G-GT の項目は測定しませんでした。

実験結果

その結果を Fig. 1 および Fig. 2 に平均値および S.D. で示した。その結果、キャリブレーション法を用いた場合の方が K ファクター法を用いた場合に比べてヒト血清では、それぞれ ALT 10~12%, AsT 12~14%, G-GT 9~10% および HBDH 13~15%、実験動物では、ALT 11~16%, AsT 13~20%, G-GT 5~14% および HBDH 7~14% 高い値であった。しかし、酵素活性の測定 (計算) 原理の異なる方法での結果としては容認できる程度の違いであると

考えられた。

結 論

従来は K ファクター法を用いて測定しており、現在まで特に問題は生じていない。しかし、尿酸標準液がその測定試薬の変更に伴って使用不能となった。新しい測定法ではヒト標準血清を標準液としているため、尿酸の測定のためにヒト標準血清を新たに購入する必要性が生じた。ヒト標準血清は尿酸のみならず、通常の測定項目の値が正確に検定され、記載されている。したがって、他の酵素活性等の測定の際にもヒト標準血清を用いて測定すれば、K ファクター法を用いた測定法よりも測定装置の状態や試薬の影響を回避できることになる。ここで取り上げたヒト、ラット、イヌ、およびサルの血清を用いた 4 種の酵素活性の比較では約 10% 程度異なった結果が得られたが、従来の測定結果と比較する上で特に問題となるほどの違いではないと考えられる。特徴としては、多少の反応セル、光源ランプおよび試薬キットの劣化した場合でも常に安定した測定値が得られる。そこで、今後は新規の毒性試験から得られた血清の測定からヒト標準血清法で測定することとする。

文 献

- 1) 大貫経一：反応指示物質を用いる方法。臨床検査, 37, 494~497 (1993)

平成7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・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 1995.

Susumu Ishimitsu, Ikuko Mishima, Sumiko Tsuji and Tadashi Shibata

The number of official inspection of coal-tar dyes and their lakes from April in 1995 till March in 1996 were 580 in total.

The quantity which passed inspection amounted to 166.4 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 43.9% in this period.

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

(Received May 31, 1996)

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品目と、そのアルミニウムレーキ8種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および製造量は、ともに減少傾向を示している。一方、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6年度に合わせて比較すると、原色素が約3957トン、レーキ色素が約1184トンと、わが国の27.6倍近くのものである。また、平成5年度と比較すると製造量は増加している。

製品検査申請書には申請数量(300kgまでを1件とする)が記載される。これら製品検査に申請された色素のうち一部は医薬品、化粧品、食品の包装材、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7年4月1日から平成8年3月31日までに申請された580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。なお、検体の内訳は、赤色2号;6, 赤色3号;33, 赤色40号;3, 赤色102号;131, 赤色104号;11, 赤色105号;3, 赤色106号;17, 黄色4号;245, 黄色5号;74, 青色1号;23, 青色2号;3, 赤色3号レーキ;6, 赤色40号レーキ;1, 黄色4号レーキ;11,

黄色5号レーキ;7, 青色1号レーキ;6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6年度(前年度)¹⁾と比較すると総量では186.0トンから166.4トンと19.6トン(約10.5%)減少した。主な要因は食用黄色5号が11.9トン、食用青色1号が3.2トン、食用黄色4号が2.7トン、食用赤色106号が1.5トン減少したためである。

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

色素別製造量では、第1位の食用黄色4号が75.7トン(色素別比率40.7%)から73.0トン(43.9%)と減少したのに対して、第2位の食用赤色102号は37.2トン(20.0%)から38.3トン(23.0%)に増加した。しかし、第3位の食用黄色5号は32.8トン(17.6%)から20.9トン(12.6%)と著しく減少した。

製造社別では製造量の多い順にA, B, E, C, F, D社であり、D社の製造量が平成6年度から1.9トン減少したためF社と順位が入れかわった。また、製造社は9社であったが、2社は新たに加わった。

また、製造量ではA社が67.1トン(製造社別比率40.3%)と最も多く、ついでB社52.6トン(31.6%)、E社

表 1. 平成7年度 食用色素月別許可量

(単位：Kg)

| 食用色素名 | 平成8年 | | | | | | | | | | | | 平成7年度 | | 平成6年度 | | | |
|---------|-------|-------|-----------|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|-----------|----------|--------|--------|
| | 申請月 | | | | | | | | | | | | 合計 | 色素別比率(%) | 合計 | 色素別比率(%) | | |
| | 4月 | 5月 | 6月 | 7月 | 8月 | 9月 | 10月 | 11月 | 12月 | 1月 | 2月 | 3月 | | | | | | |
| 赤色2号 | --- | --- | 600 | 300 | --- | --- | --- | --- | 260 | 300 | --- | --- | --- | --- | 1660 | 1.00 | 2100 | 1.13 |
| 赤色3号 | 900 | --- | 700 | 1204.95 | 600 | 600 | 257 | 2000 | 2000 | 870 | 600 | 840 | --- | --- | 9171.95 | 5.51 | 9410 | 5.06 |
| 赤色4号 | 90 | --- | --- | 175 | 300 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 565 | 0.34 | 320 | 0.17 |
| 赤色102号 | 4500 | 1200 | 4204.925 | 1500 | 3900 | 1500 | 4500 | 3300 | 3300 | 3360 | 4200 | 2500 | 2500 | --- | 38264.925 | 23.00 | 37150 | 19.97 |
| 赤色104号 | 300 | 1500 | --- | 100 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 1050 | --- | --- | 2950 | 1.77 | 4380 | 2.35 |
| 赤色105号 | --- | --- | 4.925 | --- | --- | --- | 100 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 304.925 | 0.18 | 250 | 0.13 |
| 赤色106号 | 760 | --- | 300 | 320 | 500 | 200 | 160 | --- | --- | 460 | 160 | 620 | 300 | --- | 3780 | 2.27 | 5255 | 2.82 |
| 黄色4号 | 8100 | 4800 | 5280 | 4988 | 6900 | 2988 | 6600 | 9000 | 9000 | 7550 | 8088 | 5400 | 3300 | --- | 72994 | 43.87 | 75730 | 40.70 |
| 黄色5号 | 2700 | 1700 | 3600 | 854.925 | 2100 | 600 | 300 | 2225 | 2460 | 1800 | 1800 | 790 | 1800 | --- | 20929.925 | 12.58 | 32801 | 17.63 |
| 緑色3号 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 青色1号 | 600 | 300 | 1300 | 300 | 841 | 300 | --- | 800 | 300 | 300 | 600 | 600 | 300 | --- | 6241 | 3.75 | 9400 | 5.05 |
| 青色2号 | --- | --- | --- | 110 | 300 | 300 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 710 | 0.43 | 1100 | 0.59 |
| 赤色2号レーキ | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 赤色3号レーキ | --- | --- | 4.825 | 300 | --- | --- | 300 | --- | --- | --- | 900 | --- | --- | --- | 1504.825 | 0.90 | 1074 | 0.58 |
| 赤色4号レーキ | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 10 | --- | --- | 10 | 0.01 | 0 | 0 |
| 黄色4号レーキ | --- | 600 | 600 | 280 | --- | --- | 600 | 140 | --- | --- | 900 | --- | --- | --- | 3120 | 1.87 | 2700 | 1.45 |
| 黄色5号レーキ | 600 | --- | --- | 300 | 600 | --- | --- | 300 | 300 | 300 | 300 | --- | --- | --- | 2400 | 1.44 | 2100 | 1.13 |
| 緑色3号レーキ | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 青色1号レーキ | 300 | --- | 600 | --- | 300 | --- | --- | 300 | --- | --- | 300 | --- | --- | --- | 1800 | 1.08 | 2000 | 1.07 |
| 青色2号レーキ | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 0 | 0 | 300 | 0.16 |
| 合計 | 18850 | 10100 | 17194.675 | 10732.875 | 16341 | 6688 | 12817 | 18325 | 15600 | 17848 | 11820 | 10090 | --- | --- | 166406.55 | --- | --- | --- |
| 月別比率(%) | 11.33 | 6.07 | 10.33 | 6.45 | 9.82 | 4.02 | 7.70 | 11.01 | 9.37 | 10.73 | 7.10 | 6.06 | --- | --- | 100.00 | --- | --- | --- |
| 前年度合計 | 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 |

表 2. 平成7年度 食用色素製造社別許可量

(単位: Kg)

| 食用色素名 | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K |
|-----------|-------|-------|-------|------|-------|------|------|------|------|-------|------|
| 赤色2号 | 760 | 300 | --- | --- | 600 | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 赤色3号 | 4110 | 1200 | 600 | 1200 | --- | 1800 | 257 | --- | --- | 4.925 | --- |
| 赤色40号 | 565 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 赤色102号 | 10900 | 13800 | 3000 | 600 | 7800 | 2100 | --- | --- | --- | 4.925 | 60 |
| 赤色104号 | 100 | 2100 | --- | 150 | --- | 600 | --- | --- | --- | --- | --- |
| 赤色105号 | --- | 100 | --- | --- | --- | 200 | --- | --- | --- | 4.925 | --- |
| 赤色106号 | 1280 | 600 | 300 | 600 | 600 | 400 | --- | --- | --- | --- | --- |
| 黄色4号 | 30694 | 25200 | 5700 | 300 | 9300 | 1800 | --- | --- | --- | --- | --- |
| 黄色5号 | 7665 | 5400 | 3600 | 2700 | 1500 | --- | --- | --- | --- | 4.925 | 60 |
| 緑色3号 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 青色1号 | 3000 | 2700 | 300 | 41 | --- | 200 | --- | --- | --- | --- | --- |
| 青色2号 | 110 | 300 | --- | --- | 300 | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 赤色2号レーキ | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 赤色3号レーキ | 1200 | 300 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 4.825 | --- |
| 赤色40号レーキ | 10 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 黄色4号レーキ | 2820 | 300 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 黄色5号レーキ | 2100 | 300 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 緑色3号レーキ | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 青色1号レーキ | 1800 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 青色2号レーキ | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 合計 | 67114 | 52600 | 13500 | 5591 | 20100 | 7100 | 257 | 0 | 0 | 24.55 | 120 |
| 製造社別比率(%) | 40.33 | 31.61 | 8.11 | 3.36 | 12.08 | 4.27 | 0.15 | 0 | 0 | 0.02 | 0.07 |
| 前年度合計 | 83310 | 56400 | 14300 | 7500 | 16180 | 7050 | 480 | 550 | 300 | 0 | 0 |
| 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 | 0 |

20.1トン (12.1%), C社 13.5トン (8.1%) であった。

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. 衛生試報, 113, 97~100 (1995)

文 献

- 1) 石光 進, 梅本美佳, 三島郁子, 辻 澄子, 柴田 正:平成

国立衛生試験所センノシド標準品 (Control 951)

岡田 敏史・北島 文・谷本 剛・鈴木 英世・佐竹 元吉

Sennosides Reference Standard (Control 951) of the
National Institute of Health SciencesSatoshi Okada, Aya Kitajima, Tsuyoshi Tanimoto,
Hideyo Suzuki and Motoyoshi Satake

The "Sennosides Reference Standard (Control 951)" was prepared, which is intended to be used for the fluorophotometric assay of sennosides content in the preparation of "Sennosides". In this assay hydroxylated mono- and dianthraquinone glucosides are chelated with boric acid, and the fluorescence intensity of the chelate is determined against that of the Reference Standard (RS). In the establishment of this RS, sennosides content in the candidate material must be determined accurately by fluorophotometry. The Sennoside AB for assay, prepared as an equimolar mixture of the purified sennoside A and Sennoside B, was used as the RS for the fluorophotometry. Based on the above concept, sennosides content in the candidate was determined as calcium salts to be $60.1 \pm 1.6\%$ by the fluorophotometry. Thus the sennosides content of this Sennosides RS was certified to be 60%.

Separately, contents of Sennoside A (SA) and Sennoside B (SB) in this candidate were determined by using HPLC. As a result, the sum of SA and SB was estimated to be 38% as free acids. Thus it was suggested that about 20% of dianthraquinone glucosides other than SA and SB and anthraquinone glucosides may be included in this Sennoside RS as free acids. Analytical results on the USP Sennosides RS were also shown and discussed, compared with the present Sennosides RS.

Keywords : sennosides, sennoside A and B, fluorophotometry, HPLC, NIHS reference standard

(Received May 31, 1996)

原料生薬または医薬品製剤としてのセンノシド (Sennosides) は、通例、センナの葉または果実 (*Cassia angustifolia* Vohl または *Cassia acutifolia* Delile) より抽出・精製されたアントラキノン配糖体類 (anthraquinone glucosides) のカルシウム塩であり、緩下剤として常用されている。本品は、13局収載予定品目に指定され、すでにその規格および試験法原案が提出されていたが、審議未了のため13局への収載は見合わされた。したがって、13局追補での日局収載になるものと予想される。

センノシドの有効成分含量は、一般にアントラキノン配糖体類のうち主成分であるセンノシド A およびセンノシド B 含量の和として表され、吸光光度法により定量されてきた。今回、より高感度で簡便なセンノシドの有効成分定量法として、センノシド類をホウ酸錯体とし、標準品を対照に蛍光光度法により定量する方法が提案されている¹⁾。センノシド類をアントラキノン配糖体として一括定量する点においては、蛍光光度法と吸光光度測定法は基本的に変わらない。蛍光光度法は、センナおよびダイオウ中のアントラキノン配糖体の総量を簡便に測定する方法としてす

に確立された方法となっており²⁾、USP においてもこの方法が採用されている³⁾。

センノシド A およびセンノシド B、それぞれについて標準品が用意できれば、液体クロマトグラフ法により、それぞれの含量を求めることができるが、国内で流通している医薬品としての“センノシド”は、古い時代に承認を受けたものが多く、クロマト的な分離定量法でなく、主として溶媒抽出後、吸光度測定法により定量する方法が用いられている。したがって、センノシドの日局収載にあたり、その有効成分定量法として蛍光光度法が採用され、アントラキノン配糖体類を総量として定める方法は、現状に即した方法と考えられる。しかしながら、現在の液体クロマトグラフ法の技術を用いれば、センノシド A (SA) およびセンノシド B (SB) の分離定量も容易であるので、センノシド類の総量を規定すると同時に、主成分である SA および SB 量を個々に規定するか、または SA/SB 比を規定し、センノシドの品質の一定性を確保する必要があるように思われる。

センノシド中のアントラキノン配糖体類の含量を蛍光光

度法により定量するために用いられるセンノシド標準品は、センノシド A またはセンノシド B の純品である必要はなく、むしろ、緩下剤として流通しているセンノシドの組成に近似したものが必要とされる。したがって、本標準品原料の品質評価のポイントは、蛍光光度法により評価される原料中のアントラキノン配糖体類の総量を定めることにある。別に、本標準品の品質の一定性を確保するために、センノシド A (SA) およびセンノシド B (SB) のそれぞれの含量とそれらの比 (SB/SA) についての知見を得ることとした。

本標準品原料の品質評価にあたり、富山県薬事研究所、アルプス薬品工業㈱、サンド薬品㈱、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 本標準品原料は、サンド薬品㈱より供与された。SA 精製品 (HPLC 法による面積純度：100.00%) および SB 精製品 (HPLC 法による面積純度：99.91%) は、アルプス薬品工業㈱より購入した。また、SA 精製品および SB 精製品の等量混合物を調製し、定量用センノシド AB とした。別に、USP センノシド標準品を USPC より購入した。その他の試薬および溶媒は、各機関において特級品または特級相当品が用いられた。

装置 蛍光光度計は、F-2000 型および F-4500 型日立蛍光分光光度計が用いられた。液体クロマトグラフ装置の送液ポンプは、島津製作所 LC-6A, LC-9A, LC-10AD および日本分光㈱ 880-PU, TRI ROTAR-VI などが用いられた。

実験方法

1. 薄層クロマトグラフ法による確認試験

本候補品 0.02 g を量り、水 25 ml を加えて振り混ぜた後、2 分間遠心分離し、上澄液を試料溶液とする。別に、SA および SB 精製品約 2 mg を量り、水 2 ml に溶かし、標準溶液 S_A および S_B とする。試料溶液および標準溶液 5 μ l ずつを薄層クロマトグラフ用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。n-プロパノール/酢酸エチル/水/ギ酸混液 (7:7:4:2) を展開溶媒として約 10 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに薄めた硝酸 (2→5) を均等に噴霧し、風乾した後、120℃で 15 分間加熱する。更に噴霧用水酸化ナトリウム・メタノール試液* を均等に噴霧し、120℃で 10 分間加熱するとき、試料溶液から得た 2 個の赤褐色の主スポットの R_f 値は、標準溶液 S_A 又は S_B から得た赤褐色のスポットの R_f 値のいずれかに一致する。

* 噴霧用水酸化ナトリウム・メタノール試液：水酸化ナトリウム 5 g を水 50 ml に溶かし、冷後、メタノール 50 ml を加える。

2. 蛍光光度法による定量試験

本候補品約 0.025 g および定量用センノシド AB 約 0.015 g ずつを精密に量り、それぞれに pH 7.0 の 1/15 mol/l リン酸塩緩衝液 (PBS) を加え、超音波処理して溶かした後、PBS を加えて正確に 25 ml とする。さらにこれらの液 1 ml ずつを正確に量り、ホウ酸ナトリウム溶液 (1→25) (NaBS) を加えて正確に 100 ml とし、試料溶液および標準溶液とする。試料溶液、標準溶液および NaBS 5 ml ずつを正確に量り、それぞれを共栓付褐色フラスコに入れ、NaBS 5 ml およびハイドロサルファイトナトリウム試液* 15 ml を加える。それらの液に窒素ガスを 1 分間通気した後、密栓し、沸騰水浴中で 30 分間加熱する。次に、20℃の水浴中に 15 分間放置した後、この液を褐色メスフラスコに移し、NaBS を加えて正確に 50 ml とする。これらの液につき、蛍光光度法により試験を行い、励起波長 392 nm、蛍光波長 505 nm における蛍光の強さ FT, FS FB を測定し、次式を用いてセンノシドの量を求める。

* ハイドロサルファイトナトリウム試液：ハイドロサルファイトナトリウム 3 g をとり、水を加えて溶かし、200 ml とする。用時製する。

センノシドの量 (mg)

= 乾燥物に換算したセンノシド標準品の量 (mg)

$$\times \frac{F_T - F_B}{F_S - F_B} \times 1.045$$

ただし、式中の係数 1.045 は、カルシウム塩に換算するための換算係数である。

3. HPLC 法による SA および SB の含量評価

(1) アイソクラテック (IC) 法

本候補品約 0.04 g を精密に量り、炭酸水素ナトリウム溶液 (1→500) 15 ml を加えて溶かした後、薄めたメタノール (7→10) を加えて正確に 50 ml とし、試料溶液とする。別に精製 SA および精製 SB をデシケーター (減圧・0.67 kPa 以下、五酸化リン) 中で 12 時間以上乾燥し、その約 5 mg をそれぞれ精密に量り、炭酸水素ナトリウム溶液 (1→100) 12 ml を加えて溶かした後、薄めたメタノール (7→10) を加えて正確に 20 ml とし、SA および SB 標準溶液とする。試料溶液および標準溶液 20 μ l につき、次の条件で HPLC 法により試験を行い、SA および SB のピーク面積 A_{TA} , A_{SA} , A_{TB} , A_{SB} を求める。別に、溶媒ピークを除く全ピーク面積を求め、面積百分率法により SA および SB の相対含量 (%) を求める。

センノシド A の含量 (%)

$$= \frac{\text{精製センノシド A の量 (mg)}}{\text{候補品の採取量 (mg)}} \times \frac{A_{TA}}{A_{SA}} \times 250$$

センノシド B の含量 (%)

$$= \frac{\text{精製センノシド B の量 (mg)}}{\text{候補品の採取量 (mg)}} \times \frac{A_{TB}}{A_{SB}} \times 250$$

操作条件

検出器：紫外吸光度計（波長：340 nm）
 カラム：内径約 5 mm，長さ約 15~25 cm のステンレス管に約 5 μ 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：50℃付近の一定温度
 移動相：薄めた pH 5.0 の 1 mol/l 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液（1→10）/アセトニトリル混液（17：8）1000 ml に臭化テトラヘプチルアンモニウム 2.45 g を加えて溶かす。
 流量：SA の保持時間が約 25 分になるように調整する。
 カラムの選定：標準溶液 10 μ l につき，上記の条件で操作するとき，SB，SA の順に溶出し，それぞれのピークが完全に分離し，分離度 7 以上のものを用いる。
 別に，SA のピークの理論段数は 8,000 以上である。
 試験の再現性：標準溶液 10 μ l につき，試験を 6 回繰り返し，SA および SB のピーク面積の再現性を観察するとき，それらの相対標準偏差は 1.5% 以下である。
 面積測定範囲：SA の溶出後，30 分間，測定を継続する。

(2) グラジエント (GD) 法

本候補品約 0.025 g を精密に量り，PBS を加えて溶かし，正確に 25 ml とし，試料溶液とする。別に SA および SB の精製品約 2 mg をそれぞれ精密に量り，PBS を加えて溶かし，正確に 25 ml とし，標準溶液とする。試料溶液および標準溶液 50 μ l につき，下記の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行い，SA および SB のピーク面積 A_{TA} ， A_{TB} ， A_{SA} および A_{SB} を求める。

センノシド A の量 (mg)

$$= \text{精製センノシド A の量 (mg)} \times \frac{A_{TA}}{A_{SA}}$$

センノシド B の量 (mg)

$$= \text{精製センノシド B の量 (mg)} \times \frac{A_{TB}}{A_{SB}}$$

操作条件

検出器：紫外吸光度計（測定波長：254 nm）
 カラム：内径約 5 mm，長さ約 15 cm のステンレス管に 5 μ 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：25℃付近の一定温度
 移動相：カルバミン酸アンモニウム溶液（23→2000）にギ酸を加えて pH 7.0 に調製したものを移動相 A とし，移送相 A/アセトニトリル混液（1：1）を移動相 B とする。移動相 A/移動相 B 混液を下記のタイムプログラムにしたがって，直線濃度勾配制御方式により送液する。

タイムプログラム

試料注入後からの時間
(分)

移動相 B の混合割合
(v/v%)

| | |
|----|----|
| 0 | 11 |
| 13 | 11 |
| 23 | 26 |
| 35 | 50 |
| 40 | 50 |
| 41 | 11 |
| 55 | 11 |

流量：SB の保持時間が約 15 分になるように調整する。

カラムの選定：SA，SB の順に溶出し，その分離度が 5 以上のものを用いる。

結果および考察

薄層クロマトグラフ (TLC) 法による確認

候補品および USP センノシド標準品につき，TLC 法による確認試験を行った。典型的な薄層クロマトグラムを Fig. 1 に示した。5 機関での試験成績を総合すると SA は $R_f=0.57 (\pm 0.06)$ に，SB は $R_f=0.48 (\pm 0.07)$ の位置に分離され，候補品および USP 標準品とも同一位置に赤褐色のスポットが観察され，SA および SB を含むことが確認された。また，両者とも $R_f=0.70$ 付近に微量の不純物スポットが観察された。

蛍光光度法による定量

(1) SA および SB の蛍光スペクトル

SA 精製品，SB 精製品およびそれらの等量混合物（定量用センノシド AB）につき，実験方法の項に記した方法で試料を調製し，それらの励起スペクトルおよび蛍光スペ

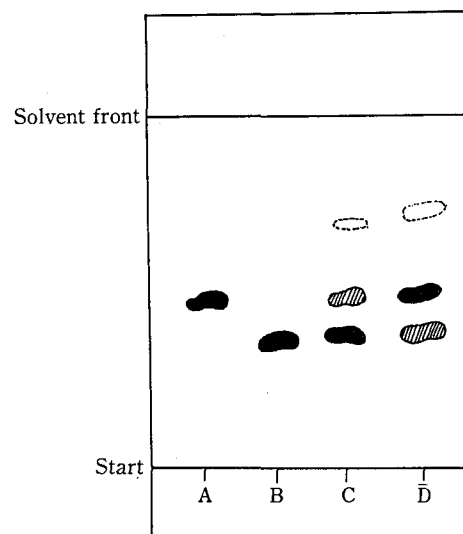


Fig. 1. Thin-layer chromatogram for the candidate and the USP Sennoside RS

A. Purified Sennoside A, B. Purified Sennoside B, C. The candidate material, D. The USP Sennosides RS

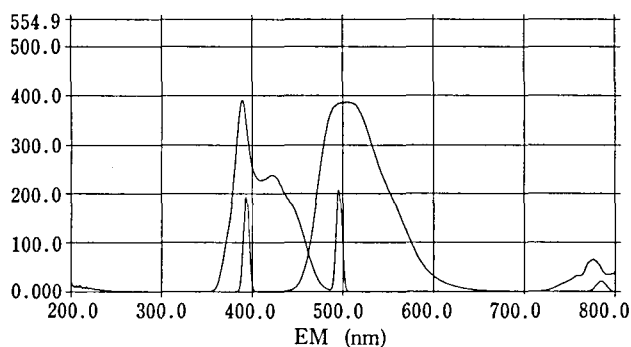


Fig. 2. Excitation and emission spectra for the equimolar mixture of Sennoside A and Sennoside B

Excitation and emission maxima are 392 nm and 505 nm, respectively.

クトルを測定するとき、最大励起波長、最大蛍光波長および全体のスペクトルの形状にほとんど差異は認められなかった。Fig. 2に定量用センノシド AB の励起および蛍光スペクトルを示した。最大励起波長 392 nm、最大蛍光波長 505 nm であり、センノシド定量用分析波長としてこれらの波長を用いることとした。

SA および SB 精製品につき、励起波長 392 nm および蛍光波長 505 nm として分析を行い、両者の蛍光感度を観察した結果を Table 1 に示した。センノシド 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 当たりの蛍光強度を蛍光感度 F とするとき、SA の蛍光感度が SB に比べ 2% ほど高いことが明らかとなったが、本候補品のような混合物中のセンノシド総量を測定するための試験法においては、この程度の差異は問題とならない。なお、SA と SB は、 $10\sim 10'$ 位の立体配置が threo 型 (SA)

か etythro 型 (SB) かの差異があるだけで、分子量は等しい。

定量用センノシド AB を対照に本候補品中のセンノシド含量を求めた結果、 $60.1\pm 1.6\%$ ($n=9$) の値が得られた。この値は、後述する HPLC 法 (アイソクラティック法またはグラジエント法) による (SA+SB) 含量に比較して約 22% ほど高い値となっている (Table 2 参照)。ただし、蛍光光度法による値はカルシウム塩としてみているのに対し、HPLC 法ではフリー体でみているので、フリー体と比較すると相互の差は約 20% となる。これは、本試験法が SA および SB のみを特異的に定量しているだけでなく、本候補品中においてホウ酸錯体を形成する他のジアントラキノン類およびアントラキノン類配糖体を同時に測定しているからに他ならない。なお、本候補品の乾燥減量 (100 $^{\circ}\text{C}$, 減圧, 8 時間) は、 $4.80\pm 0.35\%$ ($n=5$) であった。

(2) HPLC 法による SA および SB の含量評価

センノシド中には SA および SB のほか、類似成分が多数存在するため、HPLC 法による分離分析を行うとき、多数のピークが検出される。Fig. 3 に典型的な HPLC クロマトグラムを示したが、量的に無視できないピークが、(a)アイソクラティック IC 法では約 10 成分、(b)グラジエント GD 法では約 15 成分ほどが観察される。両法において、SA および SB とも明確に他成分から分離されるので、それぞれの標準品を対照に含量評価をすることも可能である。別に、検出されたピークの全面積に対する各成分の面積比から、個別成分の含有量を相対的に評価する面積百分

Table 1. Fluorescence sensitivity for boric acid complex with sennoside A and sennoside B

| Species | Concentration $\mu\text{g}/\text{ml}$ | Fluor. intensity F' | Fluor. sensitivity $F (F'/(\mu\text{g}/\text{ml}))$ |
|-------------|---------------------------------------|-----------------------|---|
| Sennoside A | 5.97 | 62.76 | 10.50 |
| Sennoside B | 6.04 | 62.18 | 10.28 |
| Blank | 0 | 0.07 | — |

Excitation WL: 392 nm, Emission WL: 505 nm

Table 2. Estimation of sennoside A and sennoside B contents in the candidate Sennoside Reference Substance by HPLC

| | | SA (%) | SB (%) | SB/SA | (SA+SB), % |
|-----------|--------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Isocratic | Assay | 14.6 ± 0.13 | 21.9 ± 0.83 | 1.51 ± 0.05 | 36.6 ± 0.95 |
| HPLC | Area % | 23.9 ± 2.30 | 32.5 ± 2.19 | 1.36 ± 0.04 | 56.3 ± 4.47 |
| Gradient | Assay | 15.1 ± 0.21 | 23.7 ± 0.16 | 1.57 ± 0.02 | 38.8 ± 0.37 |
| HPLC | Area % | 19.3 ± 0.96 | 27.7 ± 1.49 | 1.43 ± 0.01 | 47.1 ± 2.45 |

The HPLC conditions for isocratic and gradient analysis are described in the text. SA and SB mean Sennoside A and Sennoside B, respectively. SB/SA is the content ratio of Sennoside B to Sennoside A, and (SA+SB) is the total amount of Sennoside A and Sennoside B in the candidate Sennosides RS. Each value designates the mean \pm SD.

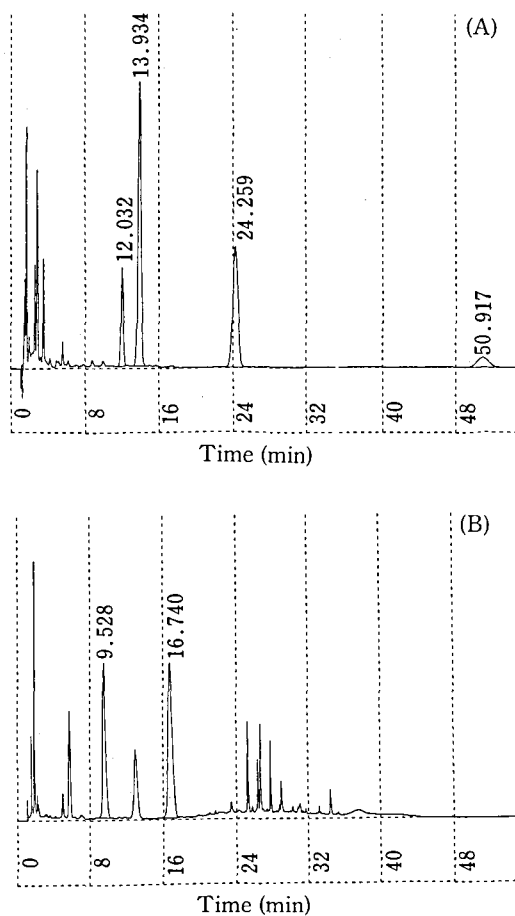


Fig. 3. Typical HPLC chromatograms for the candidate
(A) Isocratic HPLC, (B) Gradient HPLC

率法による評価も行った。これらの結果を Table 2 にまとめて示した。IC法による数値は5機関による平均値±標準偏差であり、GD法による数値は2機関による平均値±標準偏差を示している。また、SB/SAはセンノシドAに対するセンノシドBの含量比を、(SA+SB)はSAとSBの合計含量を示している。Table 2の結果は、総平均とそのばらつきを示したものであるが、機関間の差異も比較的小さく、例えば、SA含量(%)の最小値~最大値をみると、IC法で 14.4 ± 0.14 (n=5)~ 14.7 ± 0.06 (n=5)であり、GD法で 14.9 ± 0.02 (n=5)~ 15.3 ± 0.04 (n=5)であった。なお、面積百分率法による含量評価の場合、機関間でのばらつきは、幾分増加する傾向がみられた。

SAおよびSB精製品を対照にして、本候補品中のSAおよびSB含量(%)を直接に定量した結果によれば、IC法に比較してGD法でやや高めの値が得られているが、複雑なマトリックスをもつ試料であることを考慮すれば、この程度の差異はやむを得ないことなのかも知れない。以下では、IC法とGD法による分析結果の平均値を用いて議論する。Table 2によれば、本候補品中のSA含量14.9

%, SB含量22.9%と推定された。したがって、SB/SA比は1.54, (SA+SB)の合計含量は37.8%と推定される。この値は、蛍光光度法による分析値57.5%(カルシウム塩としての実測値をフリー体に換算)と比較するとき、約20%ほど低い数値であることがわかる。これは、蛍光光度法による分析においては、センノシド中においてホウ酸錯体を生成するすべての成分がトータルに測定されることに起因することは、すでに記した。

一方、面積百分率法による評価によれば、SAおよびSB含量とも高く評価される傾向のあることがわかる。GD法に比較してIC法でより高く評価されているのは主として分析波長の差に起因するものと考えられるが、GD法において20分以降のベースラインの乱れる部分における面積評価が正しく行われているか、若干の疑問もある。IC法での分析波長340nmは、移動相中でのSAおよびSBの極大吸収波長(SA: 336nm, SB: 355nm)に近似し、両者の分子吸光係数がほぼ等しい波長である。一方、GD法での分析波長254nmは水銀ランプの輝線の波長であり、UV吸収性の物質を検出するために一般的に用いられている波長であるが、この波長位置でのSAとSBの分子吸光係数もほぼ等しいことが、Fig. 4に示されている。Fig. 4はIC法における移動相中で得られたSA, SBおよび候補品のUVスペクトルである。当然ながら、候補品のUVスペクトルは共存成分の影響を受けてSAおよびSBとは若干異なっているが、HPLC法は分離分析法であるので、254nmまたは340nmいずれを用いても、共存成分の分離さえきちんとできていれば、正確な含量評価が可能はずである。いずれにしても、センノシド中にはUV吸収スペクトルの異なる多数の夾雑成分があるため、面積百分率法によっては本候補品中のSAおよびSB含量を正しく評価できないことが明らかとなった。IC法による(SA+SB)含量の面積百分率法による評価値56.3%が、蛍光光度法による定量値60.1%に近似しているのは、単なる偶然と考えられ、試料が変われば異なる値をとるものと予想される。

SB/SA比は、IC法で1.51, GD法で1.57とほぼ一致する値が得られている。正川らによれば、市販センナ32種についてのHPLC法による分析の結果、そのSB/SA含量比は1.5とほぼ一定していることを報告している⁹⁾。したがって、本候補品のSB/SA含量比は、市場に流通しているセンナのそれと一致していることから、本候補品はセンノシド中の有効成分含量を評価するための標準品として妥当な成分組成をもつものと判断される。

USP センノシド標準品

USPはXX版(1980)より“Sennosides”を収載しているが、当初の定量法は標準品を対照とする吸光光度法であった。XXII版(1990)より現行の蛍光光度法による定

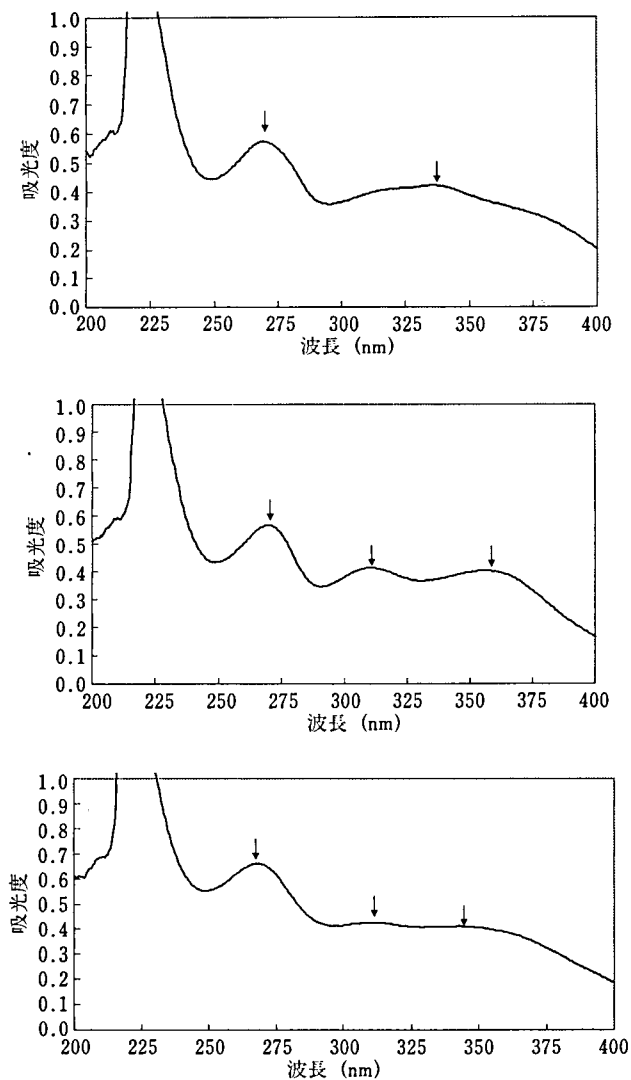


Fig. 4. UV Absorption spectra for Senoside A, Senoside B and the candidate senosides reference standard (A) Senoside A, (B) Senoside B, (C) The candidate senosides reference standard
Each sample was dissolved in the mobile phase for isocratic HPLC analysis, and the concentration was adjusted to 25, 25, and 32 $\mu\text{g/ml}$, respectively. Arrows indicate the absorption maxima for each specimen, (A) 270 and 336 nm, (B) 270, 311, and 357 nm, (C) 268, 312, and 342 nm.

量法に変更されており AL³⁾, 日局原案として提案されている方法と基本的に変わらない。USP のセンノシド標準品 (Lot G) を入手し, 本候補品に対する試験と同様な試験を実施したところ以下のような結果が得られた。

蛍光光度法による含量: $91.3 \pm 2.0\%$ ($n=9$)

HPLC 法による含量

(1) IC 法

SA: 53.1%, SB: 18.2%, SB/SA: 0.34

(SA+SB): $71.3 \pm 1.9\%$ ($n=10$)

(2) GD 法

SA: 53.2%, SB: 19.9%, SB/SA: 0.37

(SA+SB): $73.1 \pm 0.4\%$ ($n=5$)

本候補品に関する Table 1 および Table 2 の結果と比較して明らかなように, USP のセンノシド標準品の SA 含量は本候補品の 3.6 倍, SB 含量は 0.8 倍, (SA+SB) 含量は 1.9 倍となっている。SA 含量に大きな差があり, その結果として SB/SA 比が, 候補品における 1.54 に対し, USP 標準品では 0.36 であり, SA と SB の存在比が完全に逆転した関係になっていることがわかる。この差異は, 主として原料生薬の違いに起因するものと考えられるが, SA と SB は互変異性体の関係にあるため, 精製過程での熱異性化の可能性も否定できず, 詳細は不明である。USP 標準品の現行ロット Lot G は, 上記のような品質を有しているが, 直前のロット Lot F-2 についての HPLC 法による分析結果によれば⁶⁾, SA: 14.8%, SB: 16.2%, (SA+SB): 31.0%, SB/SA: 1.05 であった。SA 含量は, 本候補品と変わらないが, SB 含量は 6% ほど小さく, SA 含量にほぼ等しいという分析結果が得られている。なお, USP 標準品に関する以上の実験結果は, 試料量が十分でないため乾燥物換算を行っていない。なぜ, USP がセンノシド標準品の品質を大きく変更したかについての詳細は不明であるが, その定量試験法をみるとセンノシド標準品の有効成分含量 100% として使用することとされており, 標準品の使用方法との関係によるものと推察される。国内標準品の品質を USP 標準品の品質に強いて合わせる必要はないが, 本候補品とセンノシド含量および SB/SA 比に大きな差異があるので, 注意喚起のため, 記録として残しておく。

結 語

緩下剤センノシドの有効成分含量の蛍光光度法による測定のためのセンノシド標準品を製造した。センノシド中の主たる有効成分は, センノシド A およびセンノシド B であるとされているが, ホウ酸錯体を形成させての蛍光光度法による定量法においては, 共存する他のジアントラキノン類 (センノシド C, D など) およびアントラキノン類配糖体も発蛍光性のホウ酸錯体を形成することから, これらの影響が定量値の中に含まれてくることになる。本候補品につき, 定量用センノシド AB を対照にして蛍光光度法による定量試験を行った結果, 本品中のセンノシド含量は 60.1% (フリー体として 57.5%) と推定された。一方, HPLC 法によれば, 本候補品中の (SA+SB) 含量は 37.7% と推定されたことから, 本候補品中には他のジアントラキノン類およびアントラキノン類配糖体が約 20% ほど含まれていることになる。

以上の結果, 本候補品を蛍光光度法によるセンノシド定量用標準品として使用する場合, センノシド含量 60% と

して用いることが合意された。

終わりに、本共同実験に参加いただきました富山県薬事研究所（斉藤晴夫所長，横田洋一主任研究官），サンド薬品㈱（妹尾節哉品質保証部長，大竹俊一品質保証部サブリーダー），アルプス薬品工業㈱（村杉正治研究開発部室長，綱島資長大阪出張所）と関係者諸氏の多大なご協力に深謝いたします。

文 献

- 1) サンド薬品㈱よりの私信
- 2) A. C. Lane, *Anal. Chem.*, **45**, 1911 (1973)
- 3) *US Pharmacopoeia* **23**, p. 1407 (1995)
- 4) 北川 勲ほか，“生薬学”，p. 229, 廣川書店 (1992)
- 5) 正川 仁ら，生薬分析シンポジウム，講演要旨集，p. 73 (1994)
- 6) アルプス薬品工業㈱よりの私信

国立衛生試験所ジギトキシシン標準品 (Control 951)

北島 文・前川 京子・吉井 公彦・小松 裕明
谷本 剛・岡田 敏史

Digitoxin Reference Standard (Control 951) of the National Institute of Health Sciences

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

The raw material of digitoxin was tested for preparation of the "Digitoxin Reference Standard (Control 951)". Analytical data obtained were as follows: loss on drying, 0.0%; infrared spectrum, the same as that of the JP Digitoxin Reference Standard (Control 845); thin-layer chromatography, no impurity was detected; high-performance liquid chromatography (HPLC), two kinds of impurities were detected and the total amount was estimated to be $0.16 \pm 0.01\%$ ($n=3$); assay, 99.0% by HPLC.

Based on the above results, the raw material was authorized as the JP Digitoxin Reference Standard (Control 951).

Keywords : digitoxin, quality evaluation, authorization, JP reference standard

(Received May 31, 1996)

第十二および第十三改正日本薬局方「ジギトキシシン」の確認試験および定量法、「ジギトキシシン錠」の溶出試験、含量均一性試験および定量法、ならびに「ジギトキシシン注射液」の定量法に用いられる国立衛生試験所ジギトキシシン標準品 (Control 951) を製造したので報告する。

1. 原料

本標準品原料は、塩野義製薬(株)において精製されたものである。同社による日局「ジギトキシシン」の規格および試験法に基づく試験成績の主なものは、以下のとおりである：乾燥減量, 1.4%；定量 (HPLC法), 99.4%。

2. 参照物質および試薬

第十三改正日本薬局方ジギトキシシン標準品 (Control 836；以後、日局標準品と略称) を対照に試験を行った。試薬は JIS 試薬特級品または特級相当品を用いた。

3. 装置

本標準品原料の品質試験に当たり、以下の測定装置を用いた：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), 旋光計 (日本分光, DIP-370 型)。また、液体クロマトグラフ装置は、島津製作所製の LC-9A 型送液ポンプ, SPD-6A 型検出器, CTO-6A 型カラムオープンおよび C-R6A 型データ処理装置を用いた。

4. 試験方法

特に記すもののほかは、日局一般試験法、日局「ジギトキシシン」の規格および試験法を準用する。

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ト薄層板シリカゲル 60 (厚さ, 0.25 mm), 展開溶媒：ジクロロメタン/メタノール/水混液 (84 : 15 : 1), 試料溶液および標準溶液の調製：本品および日局標準品約 1 mg ずつを量り、それぞれをクロロホルム/メタノール混液 (1 : 1) 50 ml に正確に溶かし、試料溶液および標準溶液とする。操作法および検出法：試料溶液および標準溶液の 20 μ l (ジギトキシシン 20 μ g 相当量) をシリカゲル薄層板に線状にスポットし、約 10 cm 展開したのち、風乾する。これに希硫酸を均等に噴霧した後、110°C で 10 分間加熱し、スポットを観察する。

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を乾燥し、その 5.0 mg ずつを精密に量り、それぞれをメタノールに溶かして正確に 10 ml とし、試料溶液および標準溶液とする。これらの液 10 μ 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：紫外吸光光度計 (測定波長：220 nm)

カラム：Inertsil ODS (4.6 mm ϕ × 150 mm)

カラム温度：25°C

移動相：メタノール/水混液 (7 : 3)

流量：1.2 ml/min

検出感度：試料注入量 (μ g) の 1/100 に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの高さが記録紙のフ

ルスケールの約10%になるように、検出器の出力あるいは記録計の感度を調整する。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、主ピークが必ず検出されるように分析パラメーターを設定する¹⁾。

4.3 HPLC法による定量

日局「ジギトキシン」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。

(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 (Fig. 1)。

(3) 旋光度

本品の比旋光度は、 $[\alpha]_D^{20} = +17.0^\circ$ (乾燥後, 0.5 g, クロロホルム, 20 ml, 200 mm) であり、日局規格に適合する (日局: $[\alpha]_D^{20} = +16^\circ \sim +18^\circ$)。

(4) 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. 2 に示した。本品および日局標準品とも不純物スポットは検出されなかった。本法によるジギトキシンの検出限界は、 $0.5 \mu\text{g}$ であった。

(b) HPLC法 本品および日局標準品につき、HPLC法による純度試験で得られた液体クロマトグラムを Fig. 3 に示した。本品 (A) および日局標準品 (B) とともに、ジギトキシンのピークのほかに不純物ピークが、それぞれ1~2個および2~4個認められた。なお、クロマトグラム上、最初に現れる鋭く大きなピークと直ぐその後に現れるピークは溶媒 (メタノール) 由来の不純物ピークであり、これらのピークは不純物量の計算から除外している。また、本クロマトグラムの記録は15分で打ち切っているが、15分以降30分まで不純物ピークの現れないことを確認してい

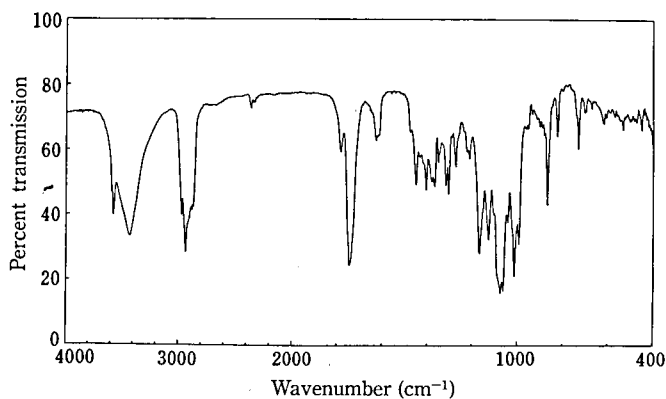


Fig. 1. Infrared absorption spectrum for the candidate Digitoxin Reference Standard

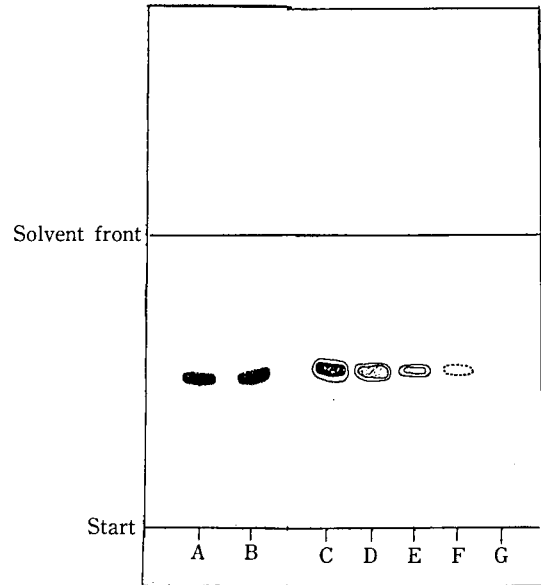


Fig. 2. Thin-layer chromatogram for the candidate and the JP Digitoxin Reference Standard

Solvent system: dichloromethane/methanol/water (84 : 15 : 1)

Spot: A is the JP Digitoxin Reference Standard, 20 μg .

B, C, E, F and G are the candidate material 20, 5, 2.5, 1, 0.5 and 0.1 μg , respectively.

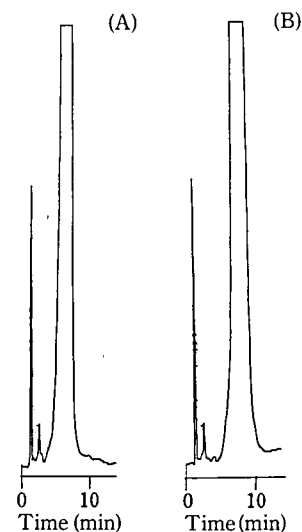


Fig. 3. High-performance liquid chromatograms for the candidate and the JP Digitoxin Reference Standard

(A): The candidate

(B): The JP Digitoxin Reference Standard

Conditions: column, Inertsil ODS (4.6 mm ϕ \times 150 mmL); column temp., 25°C; flow rate, 1.2 ml/min; detection wavelength, 220 nm; mobile phase, methanol/water (7 : 3).

る。この結果、面積百分率法による不純物総量は、本品で $0.1 \pm 0.08\%$ ($n=3$)、日局標準品で $0.5 \pm 0.60\%$ ($n=3$) であった。

TLC 法および HPLC 法による純度試験の結果、本品は HPLC 法による定量分析用標準品として十分な純度を有することが明らかとなった。

(5) 乾燥減量

本品の乾燥減量は、0.6% (0.5 g, 減圧, 100°C, 2 時間) であり、日局規格に適合する (日局: 1.5% 以下)。

(6) 定 量

日局「ジギトキシシン」の定量法を準用し、日局標準品を対照として HPLC 法による定量を行った結果、 $99.0 \pm 1.2\%$ (n=3) の値が得られた。

結 論

ジギトキシシン標準品原料につき、日局標準品を対照に比

較検討した結果、国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) として十分な品質を有することが認められたので、平成 7 年 11 月より頒布を開始した。

終わりに、本標準品の製造にあたり、ジギトキシシン原薬の精製につき、多大な労をとっていただきました塩野義製薬㈱に深謝いたします。

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)

国立衛生試験所ベタメタゾン標準品 (Control 951)

北島 文・前川 京子・吉井 公彦・小松 裕明
谷本 剛・岡田 敏史Betamethasone Reference Standard (Control 951) of the
National Institute of Health SciencesAya Kitajima, Keiko Maekawa, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu,
Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada

The raw material of betamethasone was tested for preparation of the "Betamethasone Reference Standard (Control 951)". Analytical data obtained were as follows: loss on drying, 0.0%; infrared spectrum, the same as that of the JP Betamethasone Reference Standard (Control 845); thin-layer chromatography, no impurity was detected; high-performance liquid chromatography (HPLC), two kinds of impurities were detected and the total amount was estimated to be $0.16 \pm 0.01\%$ ($n=3$); assay, 100.0% by HPLC.

Based on the above results, the raw material was authorized as the JP Betamethasone Reference Standard (Control 951).

Keywords : betamethasone, quality evaluation, authorization, JP reference standard

(Received May 31, 1996)

第十二および第十三改正日本薬局方「ベタメタゾン」の
確認試験および定量法に用いられる国立衛生試験所ベタメ
タゾン標準品 (Control 951) を製造したので報告する。

1. 原料

本標準品原料は、扶桑薬品㈱より供与された。同社による
日局「ベタメタゾン」の規格および試験法に基づく試験
成績の主なものは以下のとおりである：比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$
 $= +117^\circ$ ；定量 (HPLC), 99.2%。

2. 参照物質および試薬

第十三改正日本薬局方ベタメタゾン標準品 (Control
936；以後、日局標準品と略称) を対照に試験を行った。
試薬は JIS 試薬特級品または特級相当品を用いた。

3. 装置

本標準品原料の品質試験にあたり、以下の測定装置を用
いた：自記分光光度計 (日本分光, Ubest-50 型)、赤外分
光光度計 (日本分光, FT-IR VALOR-III)。また、液体
クロマトグラフ装置は、島津製作所製の LC-6A 型送液ポ
ンプ、SPD-6A 型検出器、CTO-6A 型カラムオープンお
よび C-R6A 型データ処理装置を用いた。

4. 試験方法

特に記すもののほかは、日局一般試験法および日局「ベ
タメタゾン」の規格および試験法を準用する。

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ト薄層板シリカゲル

60F254 (厚さ, 0.25 mm), 展開溶媒：ジクロロメタン/
エーテル/メタノール/水混液 (385 : 75 : 40 : 6), 試料溶
液および標準溶液の調製：本品および日局標準品 10.0 mg
ずつを精密に量り、それぞれをクロロホルム/メタノール
混液 (9 : 1) 5 ml を正確に加えて溶かし、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 100 ml とし、標準溶液とする。操
作法および検出法：試料溶液および標準溶液の 5 μ l (ベ
タメタゾン 10 μ g 相当量および 0.1 μ g) をシリカゲル薄層
板にスポットし、約 12 cm 展開したのち、風乾する。こ
れに紫外線 (254 nm) を照射して観察する。

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 ずつを精密に量り、そ
れぞれをメタノールに溶かして正確に 10 ml とし、試料溶
液および標準溶液とする。これらの液 10 μ 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：紫外吸光光度計 (測定波長：240 nm)

カラム：Inertsil ODS-2 (4.6 mm ϕ \times 150 mm)

カラム温度：35 $^\circ$ C

移動相：水/アセトニトリル混液 (3 : 2)

流量：0.6 ml/min

検出感度：試料注入量 (μ g) の 1/100 に相当する量を
注入するとき、得られる主ピークの高さが、記録紙の

フルスケールの約10%になるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整する。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、主ピークが必ず検出されるように分析パラメーターを設定する¹⁾。

4.3 HPLC 法による定量

日局「ベタメタゾン」の定量法を準用し、内部標準法により定量する。

5. 試験結果

(1) 性状

白色の結晶性粉末で、においはない。

(2) 可視吸収スペクトル

日局「ベタメタゾン」の確認試験(4)を準用し、生成したフェニルヒドラゾン体の可視吸収スペクトルを測定するとき、波長442 nmの位置に吸収の極大が認められた。また、吸収極大の波長における吸光度は0.12であり、いずれも日局規格に適合する(日局：極大吸収波長440~460 nm, 吸光度0.30以下)。本品の可視吸収スペクトルをFig. 1に示した。

(3) 赤外吸収スペクトル

本品および日局標準品の赤外吸収スペクトルを臭化カリウム錠剤法により測定し、両者のスペクトルを比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収が認められた(Fig. 2)。

(4) 旋光度

本品の比旋光度は、 $[\alpha]_D^{20} = +116.8^\circ$ (乾燥後, 0.1 g ジオキサン, 10 ml, 100 mm) であり、日局規格に適合する(日局： $[\alpha]_D^{20} = +115^\circ \sim +121^\circ$)。

(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。本品および日局標準品とも主スポット以外のスポットは、検出されなかった。本法によるベタメタゾンの検出限界は、0.1 μg であった。

(b) HPLC 法 本品および日局標準品につき、HPLC

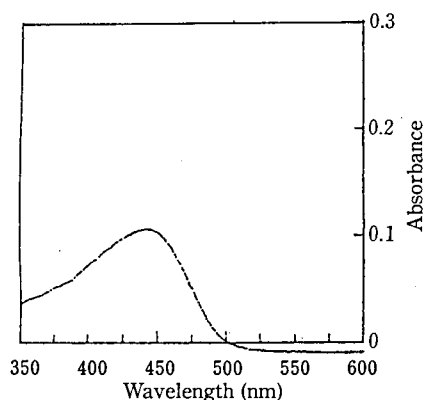


Fig. 1. Visible absorption spectrum for the candidate Betamethasone Reference Standard

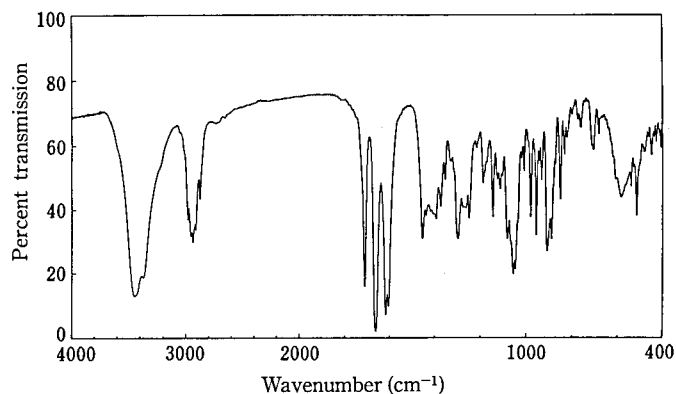


Fig. 2. Infrared absorption spectrum for the candidate Betamethasone Reference Standard

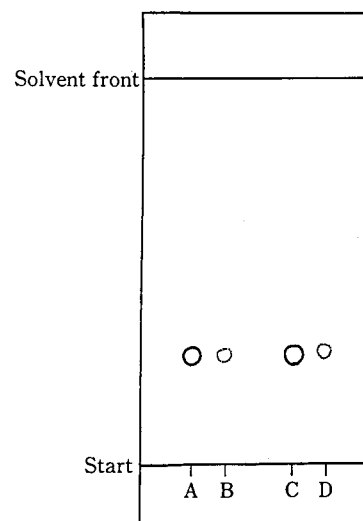


Fig. 3. Thin-layer chromatogram for the candidate and the JP Betamethasone Reference Standard

Solvent system: dichloromethane/ether/methanol/water (385 : 75 : 40 : 6)

Spot: A and B are the JP Reference Standard 10 μg and 0.1 μg , respectively. C and D are the candidate material 10 μg and 0.1 μg , respectively.

法による純度試験で得られた液体クロマトグラムをFig. 4に示した。本品(A)および日局標準品(B)とも、ベタメタゾンのピークのほかに微量不純物ピークが2~5個認められた。面積百分率法による不純物総量は、本品で $0.2 \pm 0.01\%$ (n=3)、日局標準品で $0.3 \pm 0.03\%$ (n=3)であった。

TLC法およびHPLC法による純度試験の結果、本品はHPLC法による定量用の標準品として十分な純度を有することが明らかとなった。

(6) 乾燥減量

本品の乾燥減量は、0.0% (0.5 g, 五酸化リン, 4時間, 減圧5 mmHg以下) であり、日局規格に適合する(日局：0.5%以下)。

(7) 定 量

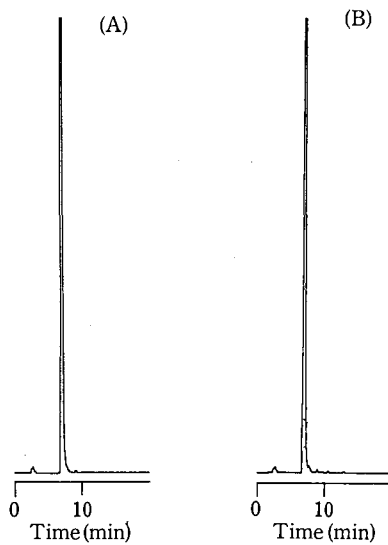


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms for the candidate and the JP Betamethasone Reference Standard

(A): The candidate

(B): The JP Betamethasone Reference Standard

Conditions: column, Inertsil ODS-2 (4.6 mm ϕ ×150 mmL); column temp., 35°C; flow rate, 0.6 ml/min; detection wavelength, 240 nm; mobile phase, water/acetonitrile (3 : 2).

日局「ベタメタゾン」の定量法を準用し、日局標準品を対照としてHPLC法による定量を行った結果、 $100.0 \pm 0.49\%$ (n=4)の値が得られた。

結 論

ベタメタゾン標準品原料につき、日局ベタメタゾン標準品を対照に比較検討した結果、本品は、国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）として十分な品質を有することが認められた。

終わりに、本標準品の製造にあたりご協力いただきました扶桑薬品㈱に深謝いたします。

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)

国立衛生試験所酢酸トコフェロール標準品 (Control 941)

北島 文・前川 京子・吉井 公彦・小松 裕明
谷本 剛・岡田 敏史

Tocopherol 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 of tocopherol acetate was tested for the preparation of the "Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 941)". Analytical data obtained were as follows: infrared spectrum, the same as that of the Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 919); specific absorbance, $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (284nm)=44.5; thin-layer chromatography, no impurities were detected until 50.0 μg ; high-performance liquid chromatography (HPLC), 2~3 impurities were detected and the amount was estimated to be about 1%; assay by HPLC, 100.8%.

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

Keywords : tocopherol acetate, quality evaluation, authorization, JP reference standard

(Received May 31, 1996)

第十二および第十三改正日本薬局方「酢酸トコフェロール」の確認試験および定量法に用いられる国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品)「酢酸トコフェロール標準品 (Control 941)」を製造したので報告する。

1. 原料

本標準品原料はエーザイ(株)より購入した。同社において、分子蒸留法により精製され、褐色アンブル中に約0.15 g量ずつ小分け充填し、窒素置換した後、熔封されたものである。同社による試験成績は次のとおりである。

薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験: 37.5 μg まで異種スポットなし。液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験: 不純物量 1.0%, 比吸光度: $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (284 nm) 43.3, 定量 (HPLC 法): 100.2%。

2. 参照物質および試薬

第十二改正日本薬局方酢酸トコフェロール標準品 (Control 919; 日局標準品と略称)¹⁾を対照物質とした。試薬および溶媒類は、特級品または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), 紫外分光光度計 (日本分光, FT-IR VALOR-III)。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, CTO-6A 型カラムオープンおよび C-R6A 型データ処理装置を用いた。

4. 試験方法

特に記すもののほかは、日局一般試験法および「酢酸トコフェロール」の試験法を準用した。

4.1 薄層クロマトグラフ法 (TLC 法) による純度試験
薄層板: メルク社製プレコートッド薄層板シリカゲル60 (厚さ, 0.25 mm), 展開溶媒: トルエン, 試料溶液および標準溶液の調製: 本候補品および日局標準品 0.01 g をとり、ヘキサン 2.0 ml を加えて溶かし、試料溶液および標準溶液とする。操作法および検出法: 試料溶液および標準溶液 2.5~10 μl を薄層板にスポットし、約 15 cm 展開した後、風乾する。濃硫酸を均等に噴霧した後、110°C で 15 分間加熱し、直ちに白色光下で観察する²⁾。

4.2 液体クロマトグラフ法による純度試験

本候補品および日局標準品約 0.02 g ずつを量り、それぞれを無水エタノール 2.5 ml に溶かし、試料溶液および標準溶液とする。これらの液 10 μl につき、次の条件で液体クロマトグラフ法 (HPLC) による試験を行う。

操作条件

検出器: 紫外吸光光度計 (測定波長: 284 nm)

カラム: ULTRON N-C18L (4:6 mm ϕ ×150 mm)

移動相: メタノール/水混液 (98:2)

流量: 1.1 ml/min

カラム温度: 35°C

検出感度: 試料注入量 (μg) の 1/100 に相当する量を

注入し、得られた主ピークの高さが記録紙のフルスケールの約10%の高さになるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整する。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、主ピークが必ず検出されるように分析パラメーターを設定する³⁾。

5. 試験結果

1) 性状

無色透明の粘性の液で、においはない。

2) 紫外吸収スペクトルおよび比吸光度

日局の方法で調製した本品のエタノール溶液の紫外吸収スペクトルを測定するとき、284 nm 付近に吸収の極大を認めた。極大吸収波長における比吸光度 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (284 nm) = 44.5 (0.01 g, 無水エタノール, 100 ml) であり、日局規格に適合する (日局: $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (284 nm) 41.0~45.0)。本品の紫外吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。

3) 赤外吸収スペクトル

本品および日局標準品の赤外吸収スペクトルを液膜法

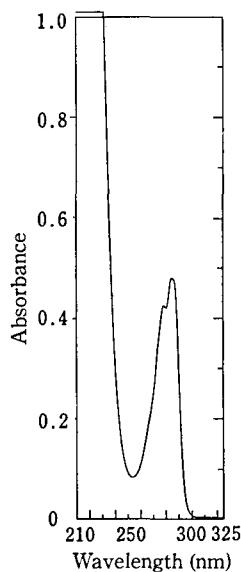


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum for the candidate Tocopherol Acetate Reference Standard

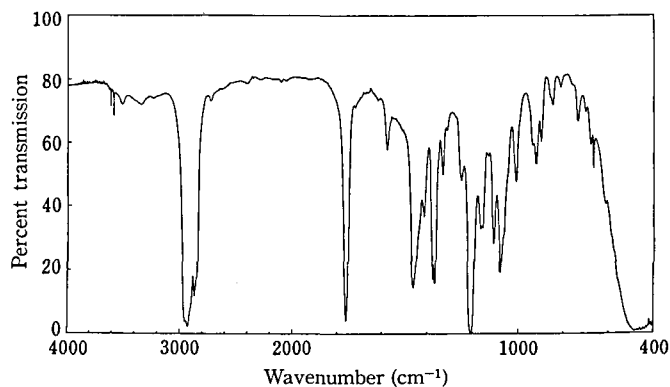


Fig. 2. Infrared absorption spectrum for the candidate Tocopherol Acetate Reference Standard

(赤外吸収スペクトル測定用塩化ナトリウム板) により測定し、両者のスペクトルを比較するとき、同一波長のところに同様の強度の吸収が認められた (Fig. 2)。

4) 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。試料溶液および標準溶液とも、スポット量 50 μg まで異種スポットは認められなかった。

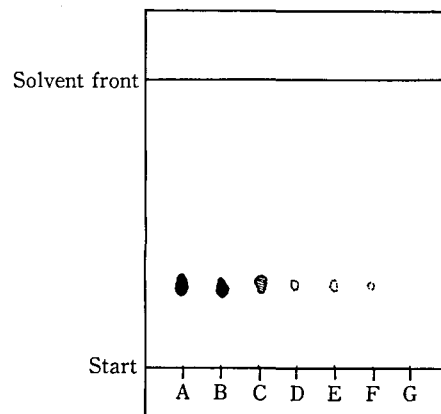


Fig. 3. Thin-layer chromatogram for the candidate and the JP Tocopherol Acetate Reference Standard

Solvent system: toluene

Spot: A is the JP Tocopherol Acetate Reference Standard, 50 μg .

B, C, D, E, F and G are the candidate material 50, 25, 0.1, 0.08, 0.05 and 0.03 μg , respectively.

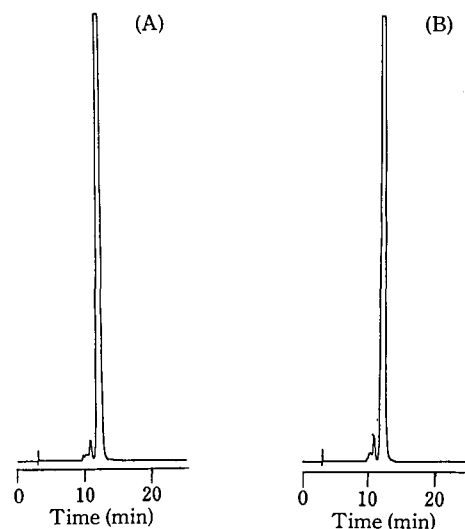


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms for the candidate and the JP Tocopherol Acetate Reference Standard

(A): The candidate

(B): The JP Tocopherol Acetate Reference Standard

Conditions: column, ULTRON N-C18L (4.6 mm ϕ \times 150 mmL); column temp., 35 $^{\circ}\text{C}$; flow rate, 1.1 ml/min; detection wavelength, 284 nm; mobile phase, methanol/water (98 : 2).

また、本法による酢酸トコフェロールの検出限界は 0.05 μg 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 に示した。主ピークの直前に複数個から成る不純物ピークが検出され、それらのピーク位置と形状から、本品と日局標準品の不純物は同一種類のものと推定された。面積百分率法により推定される不純物総量は、面積百分率 0.05% 以上の不純物ピークにつき、本品で $0.3 \pm 0.004\%$ 、日局標準品で $1.1 \pm 0.03\%$ と推定された。しかし、0.01% 以上の不純物量でみると、本品で $0.5 \pm 0.02\%$ 、日局標準品で $1.2 \pm 0.04\%$ となり、両者の間で大きな差異は認められず、本品を日局標準品として利用できることが明らかとなった。

なお、HPLC 法により明確に捉えられた不純物は、TLC 法によっては検出されず、酢酸トコフェロールの類縁物質評価にあたり HPLC 法がより有力な分析手段であることが明らかとなった。

5) 定 量

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、 $100.8 \pm 0.53\%$ ($n=4$) の値が得られた。

なお、定量試験における液体クロマトグラフ法の操作条件は、純度試験の方法を準用した。

結 論

酢酸トコフェロール標準品原料につき、日局標準品を対照に比較検討した結果、国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）として十分な品質を有することを認め、Control 941 として製造・配布を開始した。

終わりに、標準品製造にあたりご協力いただきましたエーザイ(株)に深謝いたします。

文 献

- 1) 泉 若江・村井真美・小松裕明・石光 進・岡田敏史：国立衛生試験所酢酸トコフェロール標準品 (Control 911)，衛生試報，**110**，119 (1992)
- 2) 勝井五一郎，大前雅彦，江沢敏一，江沢 総：トコフェロール，酢酸トコフェロール およびコハク酸トコフェロール標準品に関する研究。医薬品研究，**16**，506～514 (1985)
- 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)

国立衛生試験所シアノコバラミン標準品 (Control 951)

北島 文・前川 京子・吉井 公彦・小松 裕明
谷本 剛・岡田 敏史Cyanocobalamin Reference Standard (Control 951) of the
National Institute of Health SciencesAya Kitajima, Keiko Maekawa, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu,
Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada

The raw material of cyanocobalamin was tested for preparation of the "Cyanocobalamin Reference Standard (Control 951)". Analytical data obtained are as follows: loss on drying, 1.8%; infrared spectrum, the same as that of the JP Cyanocobalamin Reference Standard (Control 936); thin-layer chromatography, three impurities were detected; high-performance liquid chromatography (HPLC), eight to nine kinds of impurities were detected and the total amount of impurities was estimated to be $1.6 \pm 0.13\%$ ($n=4$); assay, 99.7% by spectrophotometry specified in the JP XII and 100.4% by HPLC, respectively.

Based on the above results, the raw material was authorized as the JP Cyanocobalamin Reference Standard (Control 951).

Keywords : cyanocobalamin, quality evaluation, authorization, JP reference standard

(Received May 31, 1996)

第十二および第十三改正日本薬局方「シアノコバラミン」および「シアノコバラミン注射液」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に用いられる国立衛生試験所シアノコバラミン標準品 (Control 951) を製造したので報告する。

1. 原料

本標準品原料は萬有製薬(株)より購入した。同社による日局「シアノコバラミン」の規格および試験法に基づく試験成績の主なものは以下のとおりである：吸光度比, $A_{278} \text{ nm} / A_{361} \text{ nm} = 0.56$, $A_{549} \text{ nm} / A_{361} \text{ nm} = 0.30$; pH, 6.0; 乾燥減量, 2.4%; 定量 (吸光度測定法), 99.9%。

2. 参照物質および試薬

第十二改正日本薬局方シアノコバラミン標準品 (Control 936; 以後, 日局標準品と略称)¹⁾ を対照に試験を行った。試薬および溶媒類は, JIS 試薬特級品または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)。また, 液体クロマトグラフ装置は, 日本分光製の送液ポンプ TRI ROTER-VI および島津製作所製 C-R6A 型データ処理装置を用いた。

4. 試験方法

特に記すもののほかは, 日局一般試験法および日局「シアノコバラミン」の規格および試験法を準用する。

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トッド薄層板シリカゲル 60 (厚さ, 0.25 mm), 展開溶媒: (A) プロパノール/水/10%アンモニア水混液 (7:2:1) および (B) *n*-ブタノール/水/クロロホルム/酢酸/メタノール混液 (25:11:10:9:5), 試料溶液および標準溶液の調製: 本品および日局標準品 5.0 mg ずつを精密に量り, それぞれをメタノール 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: 試料溶液および標準溶液の 40 μ l (シアノコバラミン 200 μ g 相当量) および 20 μ l をシリカゲル薄層板に線状にスポットし, 約 15 cm 展開した後, 風乾する。この薄層板に裏面より白色光を照射してスポットの位置および色を観察する。

4.2 液体クロマトグラフ法による純度試験²⁾

本品および日局標準品 10.0 mg ずつを精密に量り, それぞれに水を加えて溶かして正確に 10 ml とし, 試料溶液および標準溶液とする。これらの液 10 μ l につき, 次の条件で液体クロマトグラフ法 (HPLC) による試験を行う。操作条件

検出器: 紫外吸光光度計 (測定波長: 361 nm)

カラム：Inertsil ODS-2 (4.6 mmφ×150 mm)

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリルと0.1 M リン酸緩衝液 (pH 3.0) の混液。ただし、0分から8分まではリン酸緩衝液/アセトニトリル混液 (89:11) を用い、8分から35分まではアセトニトリル濃度を11 v/v%から60 v/v%まで直線的に増加させ、その後、アセトニトリル濃度60 v/v%を60分まで維持する。

流量：0.7 ml/min

検出感度：試料注入量 (μg) の1/100に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの高さが記録紙のフルスケールの約10%になるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整する。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、主ピークが必ず検出されるように分析パラメーターを設定する³⁾。

面積測定範囲：試料注入後、60分間とする。

4.3 HPLC法による定量²⁾

本品および日局標準品10 mgずつを精密に量り、それぞれを内標準溶液に溶かして正確に50 mlとし、試料溶液および標準溶液とする。これらの液10 μlにつき、次の条件でHPLC法による試験を行い、内標準物質のピーク面積に対するシアノコバラミンのピーク面積の比を求め、試料中のシアノコバラミン量を求める。

内標準溶液：*p*-ヒドロキシ安息香酸の水溶液 (9→200)

操作条件

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長：278 nm)

カラム：μBondapak C18 (3.9 mmφ×150 mm)

カラム温度：40℃

移動相：0.1 M リン酸緩衝液 (pH 3.0)/アセトニトリル混液 (3:22)

流量：1.0 ml/min

5. 試験結果

(1) 性状

暗赤色の粉末である。

(2) 紫外および可視吸収スペクトル

日局「シアノコバラミン」の確認試験 (1) を準用し、吸収スペクトルを測定するとき、波長278, 361, 549 nmの位置に吸収の極大が認められた。また、それぞれの吸収極大の波長における吸光度を A_1 , A_2 , A_3 とするとき、吸光度比 A_1/A_2 は0.55, A_3/A_2 は0.31であり、日局規格に適合する (日局 A_1/A_2 : 0.53~0.59, A_3/A_2 : 0.29~0.32)。本品の紫外・可視吸収スペクトルをFig. 1に示した。

(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

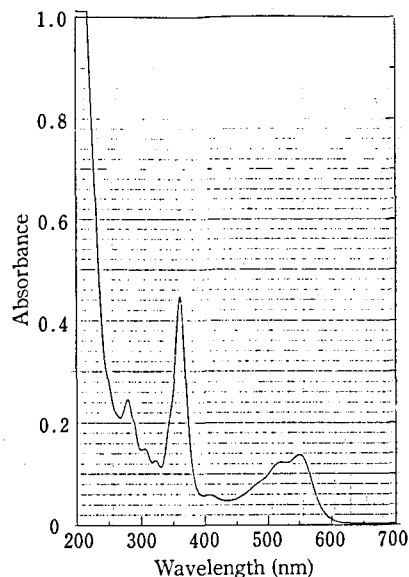


Fig. 1. Ultraviolet and visible absorption spectrum for the candidate Cyanocobalamin Reference Standard

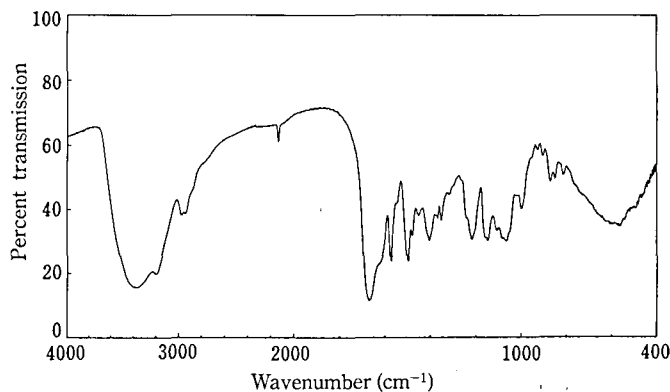


Fig. 2. Infrared absorption spectrum for the candidate Cyanocobalamin Reference Standard

とき、同一波数のところに同様の強度の吸収が認められた (Fig. 2)。

(4) pH

本品の水溶液 (0.10 g, 煮沸冷却水 20 ml) の pH は 4.9 であり、日局規格に適合する (日局: 4.2~7.0)。

(5) 純度試験

(a) TLC法 展開溶媒 (A) および (B) で展開した本品および日局標準品の薄層クロマトグラムを Fig. 3 に示した。本品および日局標準品ともスポット量 100 または 200 μg で展開溶媒 (A) で 3 個, (B) で 2 個の不純物スポットが、主スポットの前後の位置に検出された。展開溶媒 (A) は (B) に比べ、分離能および展開力において優れている。本法によるシアノコバラミンの検出限界は、展開溶媒 (A) で 0.1 μg, (B) で 0.05 μg 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 に示した。本品 (A) および日局標準品 (B) とともに、シア

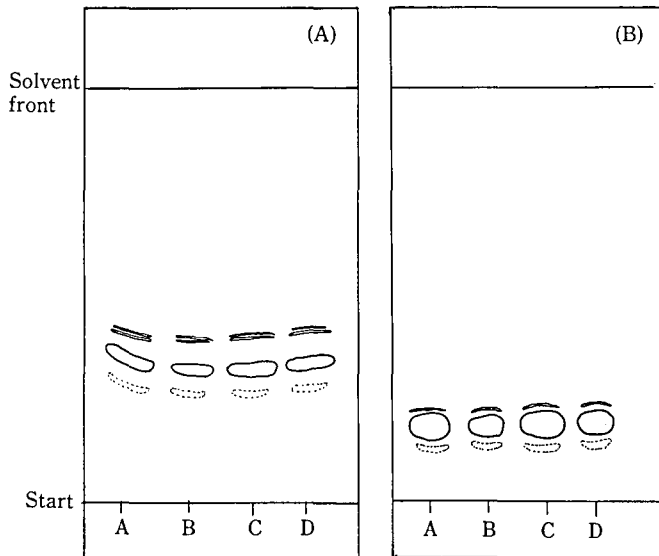


Fig. 3. Thin-layer chromatograms for the candidate and the JP Cyanocobalamin Reference Standard

Solvent system:

(A): n-propanol/water/10% aq. ammonia (7:2:1)
 (B): n-butanol/water/chloroform/acetic acid/methanol (25:11:10:9:5)

Spot: A and B are the JP Reference Standard 200 µg and 100 µg, respectively. C and D are the candidate material 200 µg and 100 µg, respectively.

ノコバラミンのピークのほかに微量の不純物ピークが、それぞれ9個または7個認められた。面積百分率法による不純物総量は、本品で $1.6 \pm 0.13\%$ (n=4)、日局標準品で $1.1 \pm 0.16\%$ (n=3)であった。本品および日局標準品を比較するとき、不純物の数および種類に明確な差異は認められなかった。一方、両者間で総不純物量に若干の差異が認められるが、本標準品は吸光度測定法における対照標準品として利用されることを考慮すれば、試験成績に影響を与えるような不純物量の差異とは考えられない。

(6) 乾燥減量

本品の乾燥減量は、 1.8% (0.05 g, 五酸化リン, 100°C, 4時間, 減圧5 mmHg以下)であり、日局規格に適合する(日局: 12%以下)。

(7) 定量

日局「シアノコバラミン」の定量法を準用し、日局標準品を対照として吸光度測定法による定量を行った結果、 $99.7 \pm 0.4\%$ (n=4)の値が得られた。

別に、HPLC法による定量では、 $100.4 \pm 1.2\%$ (n=3)

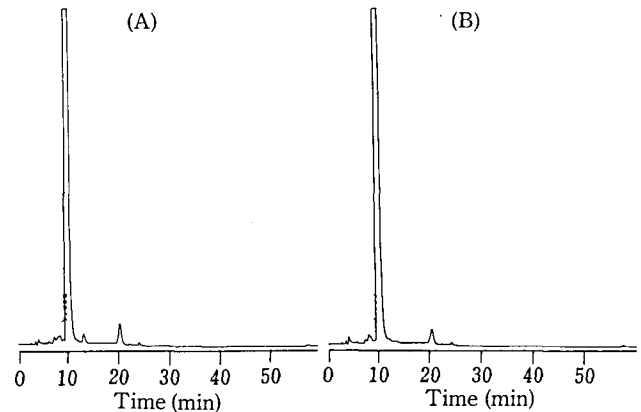


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms for the candidate and the JP Cyanocobalamin Reference Standard

(A): The candidate

(B): The JP Cyanocobalamin Reference Standard

Conditions: column, Inertsil ODS (4.6 mmφ×150 mmL); column temp., 40°C; flow rate, 0.7 ml/min; detection wavelength, 361 nm; mobile phase, a mixture of acetonitrile (AcCN) and 0.1 M phosphate buffer (pH 3.0) was used. Gradient program was as follows: AcCN concentration was constant at 11 v/v% for the first 8 minutes, and then linearly increased to 60 v/v% during 27 minutes, thereafter 60 v/v% of AcCN level was maintained.

の値が得られた。

結 論

シアノコバラミン標準品原料につき、日局標準品を対照に比較検討した結果、本品は国立衛生試験所標準品(日本薬局方標準品)として十分な品質を有することが認められた。

終わりに、本標準品の製造にあたり、ご協力いただきました萬有製薬(株)に深謝いたします。

文 献

- 1) 北島 文, 吉井公彦, 小松裕明, 石光 進, 岡田敏史: 国立衛生試験所シアノコバラミン標準品 (Control 931), 衛生試験報, **112**, 170~174 (1994)
- 2) 太田美矢子, 木村俊夫, 田中 彰: 高速液体クロマトグラフィーによるシアノコバラミンの分析, 衛生試験報, **105**, 65~68 (1987)
- 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 *dl*-カンフル標準品 (Control 951)

北島 文・前川 京子・吉井 公彦・小松 裕明
谷本 剛・岡田 敏史

dl-Camphor Reference Standard (Control 951) of the
National Institute of Health Sciences

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

The raw material of *dl*-camphor was examined for the preparation of the “*dl*-Camphor Reference Standard”. Analytical data obtained are as follows: ultraviolet spectrum, $\lambda_{\max}=290$ nm; infrared spectrum, the same as that of the present JP Camphor Reference Standard; melting point, 179.6°C; purity test by gas-chromatography (GC), three kinds of impurities were detected; assay by GC, 99.0%.

Based on the above results, the candidate raw material was authorized as the JP Reference Standard (Control 951).

Keywords : *dl*-camphor, quality evaluation, authorization, JP reference standard

(Received May 31, 1996)

第十二および第十三改正日本薬局方「*dl*-カンフル」の定量法に用いる国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）“*dl*-カンフル標準品 (Control 951)”を製造したので報告する。

1. 標準品原料

本標準品原料は、松浦薬業(株)より購入した。

2. 参照物質および試薬

第十二改正日本薬局方 *dl*-カンフル標準品 (Control 912; 日局標準品と略称)¹⁾を対照に試験を行った。試薬および溶媒類は、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, FT-IR VAROL-III), 融点測定器 (宮本理研工業, PA-20S型), 旋光計 (日本分光, DIP-370型)。また, ガスクロマトグラフ装置は, 島津製作所製の GC-8A およびデータ処理装置 C-R6A を用いた。

4. 試験方法

特に記すもののほかは, 日局一般試験法および医薬品各条「*dl*-カンフル」の試験法を準用した。

4.1 紫外吸収スペクトル

本候補品約 0.120 g を精密に量り, エタノールを加えて正確に 50 ml とし, エタノールを対照に吸光度測定法により, 本品の紫外外部吸収スペクトルを測定する。

4.2 ガスクロマトグラフ (GC) 法による純度試験

日局「*dl*-カンフル」の定量法を準用し, 以下のように GC 法による純度試験を行った。本品約 0.040 g を精密に量り, エタノールに溶かして正確に 2 ml とし, 試料溶液とする。この液 2 μ l につき, 次の条件でガスクロマトグラフ法による純度試験を行った。

操作条件

検出器: 水素炎イオン化検出器

カラム: PEG 20 M 10%/Chromsorb W AW-DMCS (60/80 Mesh, 3.2 mm ϕ \times 3 ml, ガスクロ工業)。なお, ガスクロマトグラフ用ケイソウ土 (Chromsorb W) は, 酸およびジメチルジクロルシラン処理されている。

カラム温度: 110°C

キャリアーガス: 窒素

流量: *dl*-カンフルの保持時間が約 13 分になるように調整する。

検出感度: 試料注入量 (μ g) の 1/100 に相当する量を注入するとき, 得られる主ピークの高さが, フルスケールの約 1/10 になるように記録計の感度を調整する。さらに, この条件で試料注入量の 1/2000 に相当する量を注入するとき, 主ピークが必ず検出されるように分析パラメーターを設定する²⁾。

5. 試験結果

(1) 性状

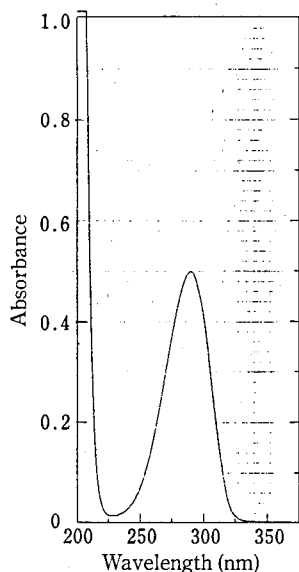


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum for the candidate *dl*-camphor Reference Standard

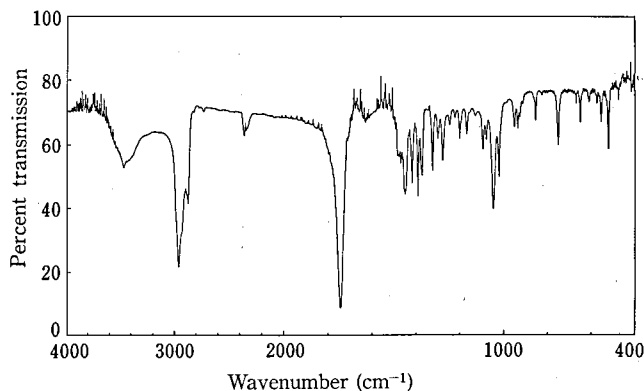


Fig. 2. Infrared absorption spectrum for the candidate *dl*-camphor Reference Standard

無色の結晶性の粉末で、特異な芳香があり、味はわずかに苦い。

(2) 紫外吸収スペクトルおよび比吸光度

波長 290 nm 付近に吸収の極大が観察され、極大吸収波長における比吸光度、 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (290 nm) は 2.00 であった。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、同様の位置に同様の強度の吸収が認められた (Fig. 2)。

(4) 旋光度

本品の比旋光度は、 $[\alpha]_{20}^D = +0.2^\circ$ (0.2 g, 無水エタノール, 100 mm) であり、日局規格に適合する (日局: $[\alpha]_{20}^D -1.5^\circ \sim +1.5^\circ$)。

(5) 融点

本品の融点は、179.6°C であり、日局規格に適合する

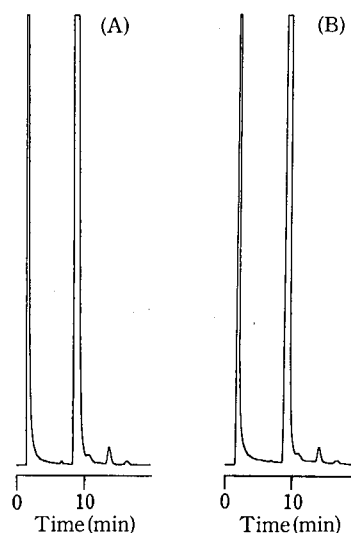


Fig. 3. Gas chromatograms for the candidate and the JP *dl*-camphor Reference Standard

(A): The candidate

(B): The JP *dl*-camphor Reference Standard

Conditions: column, 10% PEG 20 M on Chromsorb WAW-DMCS (60/80 mesh), 3.2 mm ϕ × 3 m; column temp., 110°C; carrier gas, N₂; detector, FID.

(日局: 175~180°C)。

(6) GC法による純度試験

本品および日局標準品につき、GC法による純度試験で得られたクロマトグラムを Fig. 3 に示した。Fig. 3 のクロマトグラムから明らかなように、本品および日局標準品とも主ピークの前後に微量不純物ピークが 3~4 個検出されており、それらは同種の不純物とみなすことができる。面積百分率法により、相対含量 0.05% 以上の不純物の総量を求めるとき、本候補品で 0.65 ± 0.004%、日局標準品で 0.64 ± 0.007% と推定された。

この結果、本品は GC 法による定量用の標準品として必要な純度を有していることが明らかになった。

(7) 定量

日局「*dl*-カンフル」の定量法を準用し、日局標準品を対照として GC 法による定量を行った結果、99.0 ± 1.80% (n=5) の値が得られた。

結 論

標準品原料として入手した *dl*-カンフルにつき、日局 *dl*-カンフル標準品を対照に比較検討した結果、本候補品は国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) として十分な品質を有することが認められた。

終わりに、本標準品の製造にあたり、ご協力いただきました松浦薬業(株)に深謝いたします。

文 献

- 1) 泉 若江, 村井真美, 小松裕明, 石光 進, 岡田敏史: 国立

衛生試験所 *d*-カンフル標準品 (Control 911) および *dl*-
カンフル標準品 (Control 911), 衛生試験報, **110**, 116~118
(1992)

2) 木村俊夫, 網川延孝, 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)

国立衛生試験所リゾチーム標準品 (Control 951)

北島 文・田頭 洋子・前川 京子・谷本 剛・岡田 敏史

Lysozyme Reference Standard (Control 951) of the
National Institute of Health SciencesAya Kitajima, Yoko Tagashira, Keiko Maekawa,
Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada

The "Lysozyme Reference Standard (Control 951)" of the National Institute of Health Sciences was prepared. The lysozyme potency of the standard material was assayed against the Lysozyme Reference Standard (Control 915) by two turbidimetric methods using the drycells of *Micrococcus luteus* as the substrate. The potency of the standard material was in satisfactory agreement with that of Lysozyme Reference Standard (Control 915) and was defined as 1 mg [potency] per mg.

Keywords : lysozyme, Lysozyme Reference Standard, NIHS reference standard

(Received May 31, 1996)

国立衛生試験所第13回リゾチーム標準品 (Control 951) を製造したので、その試験成績を報告する。

1. 標準品原料

リゾチーム標準品原料として、6回再結晶したニワトリ卵白リゾチームを生化学工業(株)より購入した。

2. 試験方法

2.1 力 価

標準品原料の力価を第12回リゾチーム標準品 (Control 915) を対照として、次の2方法で測定した。この2方法はともに、*Micrococcus luteus* の乾燥菌体を基質とした溶菌活性測定を基本原理とするものである。

(1) 力価測定法1: 日本薬局方外医薬品規格¹⁾に記載された定量法に準じて測定した。

(2) 力価測定法2: 塩化リゾチームの迅速分析法^{2,3)}に準じて測定した。

2.2 アミノ酸組成

Spackmanらの方法⁴⁾に従い、L-8500型日立高速アミノ酸分析計を用いて行った。すなわち、標準品原料約1mgをとり、6mol/l塩酸0.5mlを加え、減圧下110℃で24時間加水分解し、その内容物を乾固し、その残留物についてアミノ酸分析を行った。

2.3 SDS-ゲル電気泳動

ファルマシア社製の全自動ゲル電気泳動装置、Phast System, を用いてSDS-ゲル電気泳動を行った。ゲルは本装置専用の既製ゲル(20%ポリアクリルアミドゲル)を用いた。標準品原料の適量を量り、水に溶かし、1ml当たりそれぞれ15.6, 31.3, 62.5, 125, 250, 500, 1000,

2000 μg を含む液を調製し、それぞれの液20 μl に10% SDS溶液20 μl を加えて、沸騰水浴中で5分間加熱し、試料溶液とした。

2.4 乾燥減量

日本薬局方外医薬品規格「塩化リゾチーム」の規格¹⁾に準じて、標準品原料の約100mgを精密に量り、105℃で2時間乾燥した。

3. 試験の結果

3.1 力 価

2種の力価測定法で求めた試料1mg中のリゾチーム量[mg(力価)]をTable 1に示した。力価測定法1では25回の、力価測定法2では18回の繰り返し測定によって求めた値は、それぞれ 0.991 ± 0.063 mg(力価)および 1.015 ± 0.045 mg(力価)であった。両測定法で求めた値には有意の差はなかった(t検定, $p=0.155$)。これらの結果から、標準品原料の1mgは1mg(力価)のリゾチームを含有することが示された。

3.2 アミノ酸組成

標準品原料のアミノ酸分析の結果を理論値およびリゾチーム標準品 (Control 915) の測定結果とともにTable 2に示した。標準品原料のアミノ酸組成は、半シスチンを除いて文献値⁵⁾とよく一致しており、リゾチーム標準品 (Control 915) のそれともよく一致していた。

3.3 電気泳動的純度

試験方法に記した試料溶液の1 μl をPhast Systemで電気泳動し、その結果をFig. 1に示した。レーン1~3では過量添付のためテーリングが見られるものの、至適添付

Table 1. Potency of the material for Lysozyme Reference Standard

| Exp. No. | Potency [mg(potency)/mg] | |
|-----------------|--------------------------|-------------------|
| | Method-1 | Method-2 |
| 1 | 1.071 | 0.911 |
| 2 | 0.925 | 1.063 |
| 3 | 0.995 | 0.988 |
| 4 | 0.951 | 1.054 |
| 5 | 1.096 | 0.932 |
| 6 | 1.148 | 0.950 |
| 7 | 1.008 | 1.015 |
| 8 | 0.993 | 0.998 |
| 9 | 0.965 | 1.010 |
| 10 | 0.967 | 0.973 |
| 11 | 1.009 | 0.951 |
| 12 | 0.967 | 1.022 |
| 13 | 0.974 | 1.071 |
| 14 | 1.078 | 1.025 |
| 15 | 0.910 | 1.041 |
| 16 | 0.953 | 1.095 |
| 17 | 0.996 | 1.067 |
| 18 | 1.085 | 1.011 |
| 19 | 0.987 | |
| 20 | 0.958 | |
| 21 | 0.954 | |
| 22 | 0.926 | |
| 23 | 0.971 | |
| 24 | 0.938 | |
| 25 | 0.948 | |
| Mean \pm S.D. | 0.991 \pm 0.063 | 1.015 \pm 0.045 |

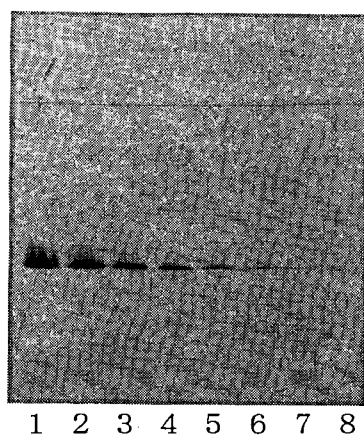


Fig. 1. SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis of the standard material

20% acrylamide gel (Homogenius 20, Pharmacia) was used. Applied amounts (ng) of the material were as follows; lane 1: 1000 ng, lane 2: 500 ng, lane 3: 250 ng, lane 4: 125 ng, lane 5: 62.5 ng, lane 6: 31.3 ng, lane 7: 15.6 ng, lane 8: 7.8 ng. Gel was stained with Coomassie Brilliant Blue.

量であるレーン4~7では単一のバンドが認められ、標準品原料は分子量的に均一な標品であることが示された。

3.4 乾燥減量

Table 2. Amino acid composition of the material for Lysozyme Reference Standard

| Amino acid | Amino acid residues per mole of lysozyme | | |
|------------|--|---------------------------|---------------------------|
| | Material | Standard (Control 915) | Theoretical ⁵⁾ |
| Asp | 20.6 | 20.5 | 21 |
| Thr | 6.4* | 6.7 | 7 |
| Ser | 7.7* | 9.8 | 10 |
| Glu | 4.9 | 5.2 | 5 |
| Pro | 1.8 | 2.2 | 2 |
| Gly | 12.1 | 12.1 | 12 |
| Ala | 12.1 | 11.8 | 12 |
| 1/2Cys | 2.0 | 2.4 | 8 |
| Val | 5.9 | 6.0 | 6 |
| Met | 2.0 | 2.2 | 2 |
| Ile | 5.8 | 5.9 | 6 |
| Leu | 8.1 | 8.1 | 8 |
| Tyr | 3.0 | 3.2 | 3 |
| Phe | 3.0 | 3.0 | 3 |
| Lys | 6.1 | 5.8 | 6 |
| His | 0.9 | 1.2 | 1 |
| Arg | 11.1 | 11.3 | 11 |

* uncorrected

日本薬局方外医薬品規格「塩化リゾチーム」の規格に準じた測定条件での標準品原料の乾燥減量は4.09% (S.D.: $\pm 0.24\%$, n=3)であった。ちなみに、同時に測定したリゾチーム標準品 (Control 915) の乾燥減量は6.11% (S.D.: $\pm 0.07\%$, n=3)であった。

まとめ

国立衛生試験所第13回リゾチーム標準品を製造するにあたり、標準品原料の力価を前回のリゾチーム標準品 (Control 915) を対照として2種の測定法で測定したところ、標準品原料の1 mgはそれぞれ0.991 \pm 0.063 mg(力価)および1.015 \pm 0.045 mg(力価)であり、両測定法での値はよく一致していた。また、標準品原料は電気泳動的に均一であり、そのアミノ酸組成は理論値とよく一致し、リゾチーム標準品 (Control 915) のアミノ酸組成とも差がなかった。これらの結果から、本標準品原料を国立衛生試験所リゾチーム標準品 (Control 951) とし、その1 mgはリゾチーム1 mg(力価)を含有するものと定めた。

文献

- 1) 厚生省薬務局審査：日本薬局方外医薬品規格, p. 310 (1993)
- 2) 厚生省薬務局監視指導課長通知, 薬監第49号 (平成4年9月24日)
- 3) 谷本 剛, 横田 崎江：月刊薬事, 36, 411 (1994)
- 4) D. H. Spackman, W. H. Stein and S. Moore: *Anal. Chem.*, 30, 1190 (1958)
- 5) R. E. Canfield: *J. Biol. Chem.*, 238, 2691 (1963)

国立衛生試験所ヒト成長ホルモン標準品 (Control 951)

四方田千佳子・岡田敏史・内田恵理子・森本和滋・早川堯夫

The Somatropin Reference Standard (Control 951) of the
National Institute of Health SciencesChikako Yomota, Satoshi Okada, Eriko Uchida,
Kazushige Morimoto and Takao Hayakawa

Somatropin material was examined for preparation of the "Somatropin Reference Standard". The candidate material was evaluated by a domestic collaborative study in which eight laboratories participated. The protein content was determined to be 4.5 mg/Vial based on amino acid analysis.

Because of the possibility of application as a chemical reference standard for assay by the HPLC method, a physico-chemical evaluation of the candidate material was also performed. By SE-HPLC, the content of polymer, dimer were determined to be 0.54%, 0.98%, respectively. By RP-HPLC, the early peak area ascribed to desamido and sulfoxide form was 1.07% of the total peak area. And for informational data, the potency of the candidate material, being estimated by three different biological methods, weight gain assay, tibia test and adipose conversion assay is 14.8 IU/vial.

Based on the above results, the candidate was authorized as the Somatropin Reference Standard of the National Institute of Health Sciences.

Keywords : somatropin, quality evaluation, NIHS reference standard

(Received May 31, 1996)

ヒト成長ホルモンは、従来はヒト下垂体より抽出されたが、現在は高純度の製品が大量に供給可能な遺伝子組み換え製品に移行している。ヒト成長ホルモンの生物活性（力価）は、下垂体摘出ラットを用いた体重増加法（Weight gain assay）、頸骨骨端軟骨幅増加試験（Tibia test）が用いられてきた。しかし、これらの方法は低感度、低精度で、繰り返し実験が必要なため多大の時間と労力を要し、動物愛護の観点からも化学的定量法への変更が望まれている¹⁾。すでに、ヨーロッパ薬局方（EP）では、1994年にSomatropinおよびSomatropin for injectionのモノグラフで、定量法としてsize-exclusion chromatographyを採用している²⁾。また、USPもForumにおいて、HPLC法の定量法への採用を提案している³⁾。わが国においても、医薬品の国際的調和の観点から、これらの製剤における定量法を生物検定法から化学的定量法へと変更する必要がある、化学的定量法へ変更するための前提条件として、ヒト成長ホルモン標準品を設定した。

標準品候補品の品質評価にあたり、住友製薬(株)、セローノジャパン(株)、日本イーライリリー(株)、日本ケミカルリサーチ(株)、ノボノルディスクファーマ(株)および山之内製薬(株)との共同実験を行った。

実験材料および実験方法

1. 候補標準品の調製

候補品用のヒト成長ホルモンは、Novo Nordisk A/S社（Denmark）において、遺伝子組換え法により調製されたものであり、凍結乾燥品として供給された。1バイアル中の組成は、ヒト成長ホルモン約4 mg、グリシン9.3 mg、マンニトール46.7 mg、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.3 mg、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.2 mgとされていた。

2. 参照物質および試薬・試液

生物活性測定用およびHPLC法による定量用標準物質として、WHO国際参照品（Code 88/624）を用いた。そのほか、理化学的試験に用いた試薬類は、JIS特級品または特級相当品を用いた。

3. 理化学的品質試験法

候補品につき、RP-HPLC法、SE-HPLC法、IE-HPLC法、キャピラリー電気泳動、ペプチドマッピング、Native-PAGE、SDS-PAGE、等電点電気泳動、による理化学的評価試験を行った。

3.1 HPLC

HPLCの試料溶液は候補品1バイアルを、水4 mlに溶解し、それぞれ以下の操作条件にしたがって試験を行った。

(1) RP-HPLC 操作条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：220 nm）
 カラム：Vydac 214TP54（または、Develosil ODS-UG-5）（4.6 mm I.D.×250 mm）
 カラム温度：45℃
 移動相：0.05M Tris-塩酸緩衝液（pH 7.5）/n-プロパノール（71：29）
 流量：0.5 ml/min
 注入量：50 μl
 検出感度：試料溶液を25倍希釈した液100 μlにつき、上記の条件で操作するとき、得られる主ピークの高さがフルスケールの50～70%になるように調整する。ただし、試料溶液を1000倍希釈した液25 μlにつき、上記の条件で操作するとき、主ピークが検出できるように検出器およびデータ処理装置等の条件を設定する。
 面積測定範囲：溶媒のピークの後から主ピークの保持時間の約2倍の範囲

(2) SE-HPLC 操作条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：214 nm）
 カラム：TSKG 2000SW_{XL}（7.8 mm I.D.×300 mm）+ TSK guard Column SW_{XL}（6.0 mm I.D.×40 mm）
 カラム温度：25℃付近の一定温度
 移動相：0.05 M 炭酸水素アンモニウム溶液
 流量：0.5 ml/min
 注入量：25 μl
 検出感度：(1)を準用
 面積測定範囲：ヒト成長ホルモンの単量体が溶出するまでの範囲

(3) IE-HPLC 操作条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：280 nm）
 カラム：Mono QHR（7.8 mm I.D.×300 mm）
 カラム温度：25℃付近の一定温度
 移動相A：25 mM Bistris-塩酸緩衝液（pH 7.0）
 移動相B：0.25 M NaClを含む移動相A
 流量：1.5 ml/min
 注入量：100 μl
 感度：(1)を準用

3.2 キャピラリー電気泳動

キャピラリーゾーン電気泳動（CZE）は、以下のA、B 2つの系で測定した。

| | A | B |
|--------|--------------------------|-------------------------|
| 使用機器 | 大塚電子 CAPI-3100 | ベックマン P/ACE5510 |
| キャピラリー | 50 μm I.D. ×37.8 mm | 50 μm I.D. ×50 mm |
| 測定波長 | 220 nm | 200 nm |
| 泳動温度 | 25℃ | 23℃ |
| 試料注入法 | 重力注入法 (25 cm, 20 sec) | 加圧法 (0.5 Psi, 2 sec) |

| | | |
|-------|---|--|
| 泳動緩衝液 | 50 mM ホウ酸緩衝液 (pH 9.0) + エチレンジグリコール (85：15) | 100 mM リン酸緩衝液 (pH 6.0) + 100 mM ホスファチジル エタノールアミン |
| 印加電圧 | 212 V/cm | 439 V/cm |

3.3 その他の操作

ペプチドマッピング、Native-PAGE、SDS-PAGE、等電点電気泳動はEP法²⁾、USPFforum法³⁾、あるいはそれらに準じる方法でそれぞれ試験を行った。

4. たん白質量（アミノ酸分析）

アミノ酸分析法により、本候補品中のたん白質含量を求めた。候補品1バイアルに水4 mlを加えて溶かし、その500 μlを正確に量り、2.5 μmol/mlのノルロイシン溶液50 μlを加え、加水分解用試料溶液とする。加水分解用試料溶液50 μlを正確に量り、加水分解用ガラス容器の中に入れ、減圧下で蒸発乾固し、0.1%チオグリコール酸含有低沸点塩酸200 μlをガラス容器の底部に、50 μlを試験管内に加える。容器内を窒素置換後、減圧下（1 mmHg以下）で密封し、110±2℃で48時間加熱する。冷後開封し、減圧下で塩酸を除去後、残留物に0.02 N塩酸0.25 mlを加えて溶かし、試料溶液とする。別に、アミノ酸標準溶液4 mlおよび2.5 μmol/mlのノルロイシン溶液4 mlを正確に量り、0.02 N塩酸試液を加えて正確に250 mlとシアミノ酸標準溶液とする。試料溶液および標準溶液5 μlにつき、アミノ酸クロマトグラフ法により試験を行う。試料溶液5 μl中のアミノ酸残基の含量 M₁ (mg) を式 (1) により算出する。M₁ と式 (2) より、候補品1バイアル中の成長ホルモン含量 M₂ (mg) を計算する。

$$M_1(\text{mg}) = \frac{AA_{SA}}{AA_{ST}} \times \frac{AN_{ST}}{AN_{SA}} \times AM \times R \quad (1)$$

$$M_2(\text{mg}) = M_1 \times \frac{22,124}{NA} \times \frac{0.55}{0.05} \times \frac{4}{0.5} \times 50 \times 10^{-9} \quad (2)$$

AA_{ST}: 標準溶液のそれぞれのアミノ酸のピーク面積

AA_{SA}: 試料溶液のそれぞれのアミノ酸のピーク面積

AN_{ST}: 標準溶液のノルロイシンのピーク面積

AN_{SA}: 試料溶液のノルロイシンのピーク面積

AM: 注入したアミノ酸量 (mg)

R: 注入した試料溶液と、注入した標準溶液のノルロイシンの比 (1.136)

NA: ヒト成長ホルモンのアミノ酸残基数

5. モル吸光係数

候補品およびWHO国際参照品を約1 mg/mlとなるように水に溶かし、276 nmにおける吸光度を測定する。光散乱の影響は、250 nmから400 nmの吸光度を0.2～0.4 nmおきに分光光度計で測定し、350～400 nmにおける波長-吸光度の両対数グラフから276 nmへの外挿値を求めて補正する。

6. 生物活性測定法

体重増加法 (Weight gain test), 頸骨骨端軟骨幅増加試験 (Tibia test) および脂肪細胞分化活性測定法 (Adipose conversion assay) により, WHO ヒト成長ホルモン国際参照品 (Code No. 88/624) の活性値 6.7 IU/amp. を標準として測定した。

6.1 体重増加法

生後 35 日目に脳下垂体を摘出した 5 週齢のウィスター系ラット雌を用い, 一群 12 匹とした。候補品および WHO 国際参照品を 0.25% ウシ血清アルブミン含有生理食塩液に溶解し, 0.16 IU/ml 溶液およびその 4 倍希釈溶液を作り, 投与開始日に体重を測定した各ラットに 0.5 ml を 1 日 2 回, 約 7 時間間隔で皮下投与し, これを 4 回繰り返す。最終投与時から約 16 時間後に体重を測定し, 投与開始日との体重差を体重増加として平行線定量法により相対力価を求めた。

6.2 頸骨骨端軟骨幅増加試験

候補品および WHO 国際参照品の高濃度 (0.01 IU/ml) および低濃度 (0.05 IU/ml) の 2 用量について 1 群 10 匹の脳下垂体摘出ラットに 1 日 1 回 500 μ l ずつ 4 日連続で皮下投与し, 摘出した頸骨骨端軟骨部分の幅を測定して平行線定量法により力価を求めた。

6.3 脂肪細胞分化活性測定法

マウス脂肪前駆細胞 3T3-F442A 細胞は, 成長ホルモンにより濃度依存的に脂肪細胞へ分化することが知られ, 分化マーカー酵素である Glycerophosphate dehydrogenase (GPDH) 活性を指標とすることにより成長ホルモンの *in vitro bioassay* 法として有用であることが報告されている⁴⁾。候補品および WHO 国際参照品をそれぞれ最終濃度が 20, 40, 80 μ IU/ml となるように細胞へ添加した場合の GPDH 活性値を測定し, 平行線定量法により力価を求めた。

結果および考察

1. 理化学的品質試験

1. 確認試験

(1) ポリアクリルアミドゲル (PAGE) 電気泳動

Native-PAGE により, 候補品のバンドは, WHO 国際参照品と一致した。

SDS-PAGE により, 候補品の分子量は 22,000 であった (アミノ酸組成より 22,121)。

(2) 等電点電気泳動

等電点電気泳動により, 候補品の等電点 pI は 5.1 と求められ, 文献値 4.9⁵⁾ とほぼ一致した。

(3) ペプチドマッピング

3 機関において候補品のペプチドマッピングを行い, いずれも WHO 国際参照品のクロマトグラムのパターンとよく一致した。

2. 純度試験

(1) 液体クロマトグラフィー

A. RP-HPLC

候補品中のデアミド体およびスルホキシド体の含量を, EP に採用されている方法, USP で提案されている方法に準じた RP-HPLC 操作条件により測定した。8 機関による測定結果を Table 1 に, クロマトグラムの一例を Fig. 1 に示した。成長ホルモンの主ピークの前に溶出するピークの和を early peak とし, そのうち主ピークのすぐ前のピークをスルホキシド体, さらに前をデアミド体ピークとし, 主ピークの後を late peak として各測定値を Table 1 にまとめた。ただし, D の測定値は異常値として平均値の算出から除外した。ここで, 機関 H は ODS カラムを, その他の機関は C4 カラムにより測定したが, Fig. 1 の ODS カラムによるクロマトグラムと類似する結果が得られた。7 機関による測定値の平均値は early peak $1.07 \pm 0.21\%$, late peak $0.15 \pm 0.18\%$ であった。

B. SE-HPLC

EP 法²⁾ あるいは USP Forum 法³⁾ に準じた SE-HPLC

Table 1. Content of desamido and sulfoxide body in the candidate material for NHS Somatropin Reference Standard

| Laboratory | Content (%) | | |
|------------|--|------------------|-----------------|
| | Early peak (desamido, sulfoxide) | Main | Late peak |
| A | 0.99 (0.60, 0.38) | 98.49 | 0.52 |
| B | 1.02 (0.80, 0.22) | 98.99 | N.D |
| C | 1.20 (0.91, 0.26) | 98.40 | 0.20 |
| D* | 0.09 (? , ?) | 99.91 | N.D |
| E | 1.26 (1.09, 0.17) | 98.74 | N.D |
| F | 0.64 (0.47, 0.17) | 99.29 | 0.07 |
| G | 1.30 (1.10, 0.19) | 98.70 | N.D |
| H | 1.05 (0.82, 0.23) | 98.72 | 0.23 |
| Average | $1.07 \pm 0.21 (0.83 \pm 0.22, 0.23 \pm 0.07)$ | 98.76 ± 0.28 | 0.15 ± 0.18 |

*This value was excluded in calculating the average.



Fig. 1. RP-HPLC chromatogram of the candidate material for NIHS Somatropin Reference Standard
Peaks: 1=sulfoxide somatropin; 2=desamido somatropin; 3=somatropin; 4=late peak

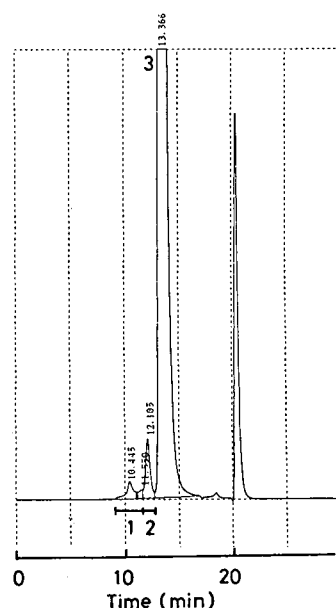


Fig. 2. SE-HPLC chromatogram of the candidate material for NIHS Somatropin Reference Standard
Peaks: 1=polymer; 2=dimer; 3=somatropin

により、候補品中のダイマー、ポリマー含量を測定した。この結果を Table 2 に、クロマトグラムの一列を Fig. 2 に示した。8 機関による測定値の平均はダイマー 0.98 ± 0.22%，ポリマー 0.54 ± 0.14% であった。

C. IE-HPLC

さらに、イオン交換カラムを用いた IE-HPLC による純度試験を行った。主に主ピークの後に溶出するデアミド体等の類縁物質ピークの総面積は主ピークの 0.79 ±

Table 2. Content of polymer and dimer in the candidate material for NHS Somatropin Reference Standard

| Laboratory | Content (%) | | |
|------------|-------------|-------------|--------------|
| | Polymer | Dimer | Monomer |
| A | 0.70 | 1.02 | 98.28 |
| B | 0.70 | 0.88 | 98.43 |
| C | 0.50 | 1.20 | 98.20 |
| D | 0.43 | 0.95 | 98.63 |
| E | 0.60 | 1.41 | 97.99 |
| F | 0.28 | 0.69 | 99.03 |
| G | 0.49 | 0.71 | 98.81 |
| H | 0.63 | 1.01 | 98.36 |
| Average | 0.54 ± 0.14 | 0.98 ± 0.22 | 98.47 ± 0.32 |

Table 3. Purity test of the candidate by capillary electrophoresis

| Laboratory | Content (%) | | |
|------------|--------------|-------------|---------|
| | Main | Desamido | Unknown |
| A | 98.40 | 1.20 | 0.30 |
| H | 98.59 | 1.41 | N.D. |
| Average | 98.50 ± 0.09 | 1.31 ± 0.11 | 0.15 |

Table 4. Protein content for the candidate by amino acid analysis

| Laboratory | Protein(mg) |
|------------|-------------|
| A | 4.31 |
| B | 4.43 |
| C | 4.56 |
| H | 4.55 |
| Average | 4.46 ± 0.1 |

0.40% であった。なお、スルホキシド体は電荷の変化を起こしていないため、IE-HPLC では主ピークと分離できないことが知られている。

(2) キャピラリー電気泳動

近年、たん白質や核酸の分析に有効であることが示されてきたキャピラリー電気泳動 (CZE) により、候補品の評価試験を行った。Fig. 3 に候補品のフェログラムの例を、Table 3 に 2 機関の試験結果を示した。電気泳動では、スルホキシド体は分離しないため、CZE ではデアミド体含量を求めていることになるが、RP-HPLC より主ピークからの分離が良好であるため、1.31 ± 0.11% とやや大きな測定結果が得られたものと思われる。

3. たん白質量

アミノ酸分析の結果より、候補品 1 バイアル中のたん白量を計算した。4 機関による測定結果を Table 4 に示した。平均値は 4.46 ± 0.10 mg と求められ、これを基に、4.5 mg を候補品含量の表示値とした。また、WHO 国際参照品における、比吸光度 A (276 nm) = 8.18 を用いて、候補品の実測吸光度より計算したたん白量は 4.39 ± 0.08 mg/vial であった。また、アミノ酸分析によるたん白量を基に、候補品の 276 nm におけるモル吸光係数を求めたところ、1.79 ± 0.01 であった。

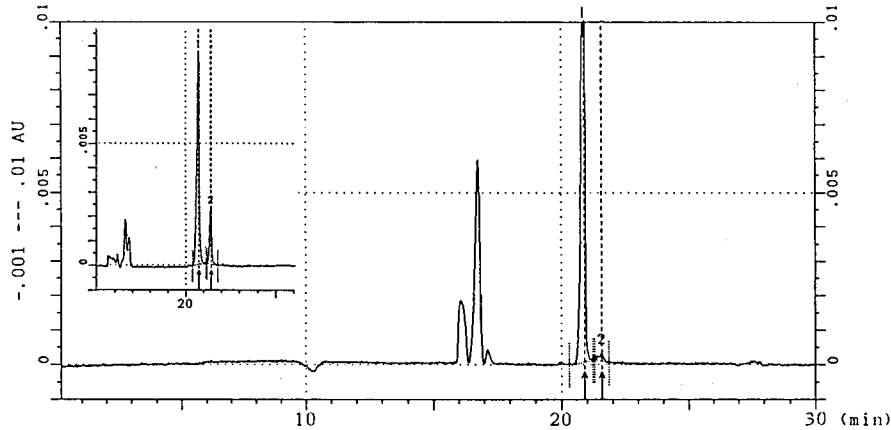


Fig. 3. Electropherogram of the candidate material for NIHS Somatropin Reference Standard by capillary zone electrophoresis
The small electropherogram is that of the somatropin solution stored for three days at 37°C. Peaks: 1=somatropin; 2=monodesamido somatropin

Table 5. Summary of biological assay for the candidate by three methods

| Activity(IU/vial) | | |
|-------------------|-------------------|--------------------------|
| Weight gain assay | Tibia test | Adipose conversion assay |
| 17.9 16.6 14.2 | 11.7 14.6 | 15.17 14.42 15.16 |
| average 16.2±1.53 | average 13.2±1.45 | average 14.92±0.35 |

4. 生物活性測定

候補品の生物活性を、体重増加法、頸骨骨端軟骨幅増加試験および脂肪細胞分化活性測定法により、WHO ヒト成長ホルモン国際参照品 (6.7 IU/amp.) を標準として測定した。結果を Table 5 にまとめて示した。体重増加法では 16.2±1.53 IU/vial, 頸骨骨端軟骨幅増加試験法では 13.2±1.45 IU/vial, 脂肪細胞分化活性測定法では 14.92±0.35 IU/vial の生物活性値が得られた。ただし、国際参照品の力価は正式表示されたものではないため、これらの活性値は参考値として取り扱い、候補品の活性値として表示するものではない。

別に、SE-HPLC 法においてすべての活性が monomer ピークによるものと仮定して、WHO 国際参照品 (6.7 IU/amp.) に対する候補品の活性値を monomer ピーク面積のみを比較して計算したところ、8 機関における平均値として 14.67±0.34 IU/vial の値が得られた。

5. 候補品と WHO 国際参照品の純度の比較

候補品と同時に、WHO 国際参照品についても HPLC による純度試験を行い、候補品との比較を試みた。Table

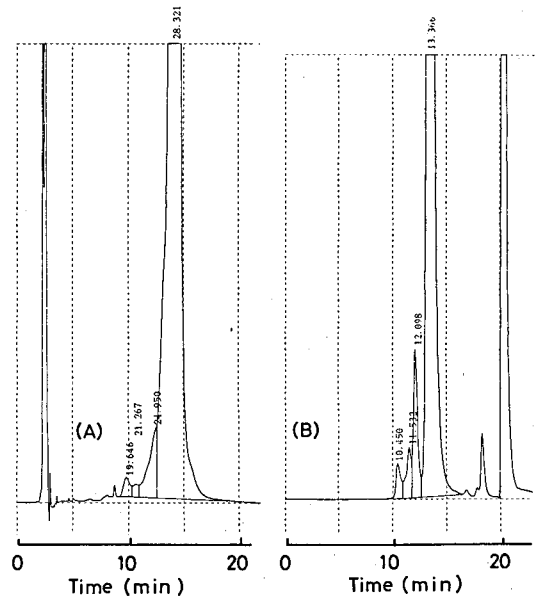


Fig. 4. HPLC chromatograms of WHO Reference Reagent for Somatropin
(A) RP-HPLC, (B) SE-HPLC

6 に示すように、国際参照品における類縁物質含量はいずれの場合も候補品の 3 倍程度であり、候補品は国際参照品よりかなり高い純度を有していることが明らかであった。国際参照品の HPLC チャートを Fig. 4 に示した。

Table 6. Comparison of the purity between the candidate and WHO Reference Reagent

| | Content (%) | | | |
|-----------------------|-------------|-----------|-----------|---------------------|
| | RP-HPLC | SE-HPLC | | IE-HPLC |
| | Early peak | Polymer | Dimer | Desamido and others |
| the candidate | 1.07±0.21 | 0.54±0.12 | 0.98±0.20 | 0.79±0.40 |
| WHO Reference Reagent | 3.19±0.43 | 1.6±0.51 | 2.49±0.5 | 3.43±0.90 |

結 論

以上の結果、本候補品のたん白質含量は4.46 mgと求められ、表示を4.5 mgとした。参考値としてWHO国際参照品に対する生物活性を異なる3種の方法で評価したところ、13.2~16.2 IU/vialであった。また、HPLC法およびCZE法による純度試験の結果、本候補品の化学的純度は極めて高く、SE-HPLCによる定量用標準品としても十分使用可能な品質を有することが明らかとなった。

終わりに、本候補品の品質評価試験は、以下の方々との共同実験で行われた。

住友製薬(株) 松田 秀 製剤技術研究所主任研究員, 古川明弘 同所 副主任研究員
セローノジャパン(株) 長谷川嘉成 浜松研究所副所長
日本イーライリリー(株) 金田 宣 医薬開発研究所室長, 西野正純 同所 主任研究官
日本ケミカルリサーチ(株) 加藤和夫 開発研究所所長, 辰巳正史 同所 研究員, 井上 桂 同所 研究員

ノボノルディスクファーマ(株) 長南義勝 厚木工場品質管理部部長, 江島伸一 同所 生産部部長, 赤塚真成 開発第一本部薬事部課長
山之内製薬(株) 関野 順 分析科学研究所所長, 湯田真道 同所 研究員, 村田芳美 同所 研究員

文 献

- 1) 早川堯夫, 森本和滋, 内田恵理子, 川崎ナナ, 徳永裕司, 山口照英, 新見伸吾, 押沢 正: タンパク性医薬品の新しい品質評価法の流れ: 遺伝子組換えヒト成長ホルモンの力価測定における *in vivo bioassay* から理化学試験方法への移行のためのバリテーション, 医薬品研究, **25**, 339~347 (1994)
- 2) European Pharmacopeia, Second Edition, 951 (Somatropin), 952 (Somatropin Preparations) (1994)
- 3) US Pharmacopoeia Forum, **17**, 1253~1264 (1990)
- 4) 内田理恵子, 森本和滋, 川崎ナナ, 早川堯夫: 培養細胞を用いたヒト成長ホルモンの *in vivo bioassay* 法の開発に関する研究, 医薬品研究, **25**, 348~353 (1994)
- 5) Li, C. H.: *Fed. Proc.*, **16**, 775 (1957)

国立衛生試験所標準品（色素試験用標準品）ファストグリーン
FCF 標準品について

石光 進・三島 郁子・辻 澄子・柴田 正

Studies on "Fast Green FCF Standard" for the Dye Standard on the
National Institute of Health Sciences

Susumu Ishimitsu, Ikuko Mishima, Sumiko Tsuji and Tadashi Shibata

The raw material for Fast Green FCF was tested for preparation of the "Fast Green FCF Standard (C.I. 42053)". Analytical data obtained were as follows: paper chromatography, only one spot is observed; arsenic content, 0.38 $\mu\text{g/g}$; chloride content, 0.11%; sulfate content, 3.30%; heavy metals, lead, 8.0 $\mu\text{g/g}$, manganese, 28.1 $\mu\text{g/g}$, and chromium, 1.6 $\mu\text{g/g}$; infrared spectra, 1575 cm^{-1} , 1169 cm^{-1} , and 1033 cm^{-1} ; loss on drying, 2.39%; assay, 93.0% by the titanium trichloride titration.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Dye Standard of National Institute of Health Sciences.

Keywords : fast green FCF, dye, standard, titanium trichloride titration method

(Received May 31, 1996)

食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のファストグリーン FCF の確認試験に用いられる国立衛生試験所標準品（色素試験用標準品）ファストグリーン FCF 標準品を製造したので, それらの試験結果を報告する。

実験装置

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 (日立, U-3210), 高周波誘導結合プラズマ発光分析計 (京都光研, UOP-1 Mark II), 赤外分光光度計 (日本分光, FT-IR VALOR-III), イオンクロマトグラフ (Dionex, 4500i), また, 液体クロマトグラフ (HPLC) 装置は日本分光製の 880-PU 型ポンプおよび 870-UV 型インテリジェント紫外可視分光検出器を用いた。

原 料

癸巳化成(株)より購入した。

試験方法

特に記するものの他は, 食品添加物公定書食用緑 3 号の試験項目¹⁾を準用した。

塩化物および硫酸塩: 山田らのイオンクロマトグラフィ²⁾を準用した。

HPLC 分析条件

検出波長: 254 nm (AT: 256 mV) および 624 nm (AT: 64 mV)

カラム: L-Column ODS (4.6 mm ϕ ×250 mmL)

移動相: A 0.02 M 酢酸アンモニウム溶液, B アセトニトリル

濃度勾配: A 100% から 60% までの直線濃度勾配を 50 分間行う。

流 速: 1.0 ml/min

赤外吸収スペクトル

本品を硫酸デシケーター (減圧 2.0 kPa 以下) 中で 24 時間以上乾燥し, その約 1 mg を量り, 赤外吸収スペクトル測定用臭化カリウム約 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 cm^{-1} の範囲で赤外吸収スペクトルを測定する。

試 験 結 果

性 状 暗緑色の粉末。

確認試験 極大吸収波長 623.7 nm (0.02 M 酢酸アンモニウム溶液)。

純度試験 (1) 水不溶物 0% (1%水溶液)。

(2) 塩化物 0.11%。

(3) 硫酸塩 3.30%。

(4) 重金属 1.6 $\mu\text{g/g}$ (Cr として)。

28.1 $\mu\text{g/g}$ (Mn として)。

8.0 $\mu\text{g/g}$ (Pb として)。

(5) ヒ素 0.38 $\mu\text{g/g}$ (As_2O_3 として)。

(6) 他の色素 0.1%水溶液 2 μl について食品添加物公定書に規定する PC 法で測定するときファストグリーン FCF 以外のスポットを認めない。

乾燥減量 2.39% (1 g, 135°, 6 時間)。

含量 93.0% (0.96 g, 硫酸デシケーター, 2.0 kPa 以

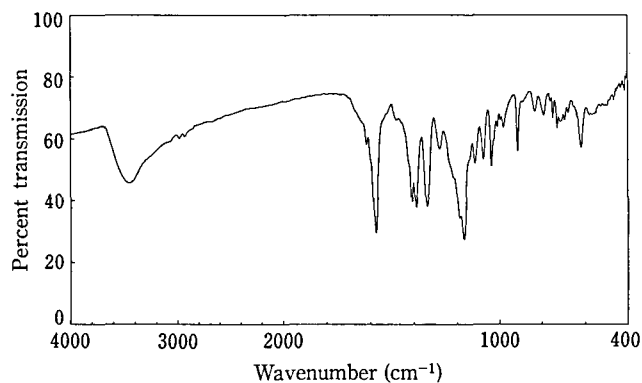


Fig. 1. Infrared absorption spectrum for the candidate Fast Green FCF Standard

下, 24 時間乾燥後三塩化チタン法).

赤外吸収スペクトル

Fig. 1 に赤外吸収スペクトルの一例を示した. 1575 cm^{-1} 付近は芳香環の $\nu_{\text{C}=\text{C}}$, 1169 cm^{-1} および 1033 cm^{-1} 付近はスルホン酸基の $\nu_{\text{S}=\text{O}}$ のファストグリーン FCF に特有な吸収が認められた³⁾. 本試験が他の機関によって確認され, かつ各特性吸収波長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.

HPLC 法

本試験法は, 純度試験として食用赤色 40 号中の未反応原料, 反応中間体および付随色素に適用されている方法を準用したものである. 試料溶液の液体クロマトグラムを Fig. 2 に示した. 総夾雑物の推定値は 624 nm で 1.9% および 254 nm で 0.8% 以下と推定された.

結 論

標準品原料として入手したファストグリーン FCF の品質を検討した. その結果は良好であった. これらの試験成績により今回入手した標準品原料は, 国立衛生試験所標準品 (色素試験用標準品) に適した品質を有することを認められた.

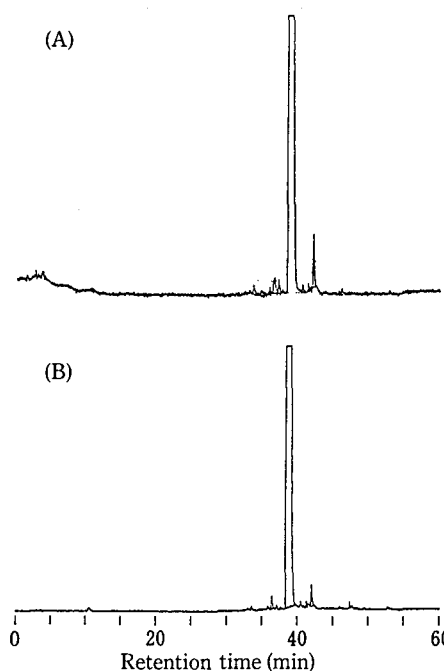


Fig. 2. High-performance liquid chromatograms for the candidate Fast Green FCF Standard

HPLC conditions: column, L-column ODS (4.6 mm ϕ \times 250 mmL); column temp., 30°C; eluent, A: 0.02 M ammonium acetate, B: acetonitrile; gradient condition, 0 \rightarrow 50 min (A: 100 \rightarrow 60%); detection, (A) 624 nm, (B) 254 nm; flow rate, 1.0 ml/min, injection volume, 5 μ l; concentration of sample, 0.3%

終わりに, 本標準品を製造するに当たり多大のご協力をいただいた癸巳化成(株)に感謝致します.

文 献

- 厚生省：第六版食品添加物公定書, p. 327~328 (1992)
- 山田真記子, 宮田政明, 中村幹雄, 柴田 正, 伊藤誉志男：イオンクロマトグラフィーによる各種食用タール色素中の塩化物, 硫酸塩, 臭化物およびヨウ化物の同時定量, 食衛誌, **32**, 548~552 (1991)
- 日本化粧品工業連合会：“法定色素ハンドブック”, p. 25~27 (1988), 薬事日報社

国立衛生試験所下垂体性性腺刺激ホルモン標準品 (Control 961)

江馬 真・原園 景・宮脇英美子・天野 博夫
小川 義之・岡田 敏史

The Human Menopausal Gonadotrophin Reference Standard (Control 961) of the National Institute of Health Sciences

Makoto Ema, Akira Harazono, Emiko Miyawaki, Hiro Amano,
Yoshiyuki Ogawa and Satoshi Okada

Raw human menopausal gonadotrophin (HMG) material was examined for preparation of the "Human Menopausal Gonadotrophin Reference Standard (Control 961)". The candidate material was assayed its follicle stimulating hormone (FSH) activity and luteinizing hormone (LH) activity against the 3rd International Standard for FSH and LH, urinary (71/264) by the augmented ovarian weight gain assay and the seminal vesicle weight gain test, respectively. The potency of the new standard was defined as 56 international units of FSH activity per mg and 61 international units of LH activity per mg as the result of 13 and 5 assays, respectively, in four collaborative laboratories.

Keywords: human menopausal gonadotrophin, follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, biological assay, NIHS reference standard

(Received May 31, 1996)

本品は更年期婦人尿から得た性腺刺激ホルモンを乾燥したもので、卵胞刺激ホルモン (FSH) 作用および黄体形成ホルモン (LH) 作用を有し、間脳性 (視床下部性) 無月経、下垂体性無月経の排卵誘発のために用いられる。下垂体性性腺刺激ホルモンは局外規 (1993) 取載品目であるが、日本薬局方取載品目に指定され、三共(株)より日局原案が提案される予定である。

国立衛生試験所下垂体性性腺刺激ホルモン標準品設定にあたり、国際標準品を対照として、持田製薬(株)、帝国臓器製薬(株)、三共(株)および国立衛生試験所大阪支所生物試験部の4機関による国内共同検定が行われた。

実験材料および方法

1. 標準品原料

オルガノン社 (オランダ) より入手した下垂体性性腺刺激ホルモン (Batch no.: A04421001, Ref. No.: L00005041) を用いた。

2. 力価の検定

本実験には対照標準品として第3回国際標準品 (3rd International Standard for Follicle Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone, Urinary-71/264) を用いた。本候補品および国際標準品は0.1%のウシ血清アルブミンを含むリン酸塩・塩化ナトリウム緩衝液 (pH 7.2) に溶解した。力価の検定は試料溶液および標準溶液の高用量

および低用量の2用量による卵巣および精嚢重量の増加を比較する2-2平行線検定法を用い、日本薬局方「胎盤性性腺刺激ホルモン」の定量法にしたがって行った。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ィスター系またはSD系ラットを使用した。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。

FSH活性は幼若雌ラットを用いた卵巣重量増加法により測定した。本候補品および国際標準品を精密に量り、胎盤性性腺刺激ホルモン80単位/mlを含む溶液を調製し、2.0~3.0単位/mlを高用量液とし、1.0~1.5単位/mlを低用量液とした。各群10匹の4群の3週齢の雌ラットに、第1日目の午後1回、第2日目の午前、正午および午後の3回、第3日目の午前および午後の2回にわたって1回0.2mlずつ皮下投与した。第5日目に卵巣を摘出して重量を測定した。

LH活性は幼若雄ラットを用いた精嚢重量増加法により測定した。本候補品および国際標準品を精密に量り、20.0~28.0単位/mlを高用量液とし、10.0~14.0単位/mlを低用量液とした。各群10匹の4群の3週齢の雄ラットに、1日1回0.2mlずつ5日間皮下投与し、第6日目に精嚢を摘出して重量を測定した。

3. 検定結果の集計

4機関で得られた計13回のFSH活性および計5回の

LH 活性測定の結果のそれぞれの加重平均力価を USP の方法¹⁾により求めた。

試験結果

計 13 回の FSH 活性測定の結果を 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、総平均力価は 55.8 単位/mg となった。その 95% 信頼限界は 53.4~58.3 単位/mg (Lc=0.039) であった。これらの試験結果に基づいて、国立衛生試験所下垂体性性腺刺激ホルモン標準品 (Control 961) の FSH 活性の力価を 56 単位/mg と決定した。

計 5 回の LH 活性測定の結果を Table 2 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、総平均力価は 60.6 単位/mg となった。その 95% 信頼限界は 54.5~67.4 単位/mg (Lc=0.093) であった。これらの試験結果に基づいて、国立衛生試験所下垂体性性腺刺激ホルモン標準品 (Control 961) の LH 活性の力価を 61 単位/mg 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 FSH 活性は 55.8 単位/mg とな

Table 1. Summary of the collaborative biological assay for follicle stimulating hormone activity of the candidate Human Menopausal Gonadotrophin Reference Standard

| Exp. no. | Lab. code | No. of rats | Log unit (M) | L | F' | w (4 t ² /L ²) | Potency (IU/mg) |
|----------|-----------|-------------|--------------|-------|-------|---------------------------------------|-----------------|
| 1 | A | 40 | 1.762 | 0.154 | 0.002 | 693 | 57.8 |
| 2 | A | 40 | 1.785 | 0.136 | 0.215 | 885 | 61.0 |
| 3 | A | 40 | 1.753 | 0.237 | 3.564 | 291 | 56.7 |
| 4 | B | 40 | 1.786 | 0.123 | 1.596 | 1091 | 61.1 |
| 5 | B | 40 | 1.638 | 0.243 | 1.117 | 278 | 43.4 |
| 6 | B | 40 | 1.790 | 0.163 | 0.911 | 619 | 61.7 |
| 7 | B | 40 | 1.769 | 0.160 | 0.769 | 644 | 58.7 |
| 8 | C | 40 | 1.704 | 0.109 | 0.041 | 1380 | 50.5 |
| 9 | C | 40 | 1.762 | 0.101 | 0.112 | 1604 | 57.8 |
| 10 | C | 40 | 1.748 | 0.075 | 1.059 | 2957 | 55.9 |
| 11 | C | 40 | 1.720 | 0.065 | 1.887 | 3921 | 52.5 |
| 12 | D | 40 | 1.833 | 0.266 | 0.372 | 233 | 68.1 |
| 13 | D | 40 | 1.770 | 0.170 | 0.141 | 570 | 58.8 |

Approx. $\chi^2 = 15.850 < 21.026$ ($p=0.05$, $df=12$)

Weighted mean of M=1.747

Combined potency=55.8 IU/mg

Lc=0.039 (53.4~58.3 IU/mg, $p=0.95$)

Table 2. Summary of the collaborative biological assay for luteinizing hormone activity of the candidate Human Menopausal Gonadotrophin Reference Standard

| Exp. no. | Lab. code | No. of rats | Log unit (M) | L | F' | w (4 t ² /L ²) | Potency (IU/mg) |
|----------|-----------|-------------|--------------|-------|-------|---------------------------------------|-----------------|
| 1 | A | 40 | 1.764 | 0.062 | 0.431 | 4217 | 58.1 |
| 2 | B | 40 | 1.849 | 0.107 | 4.057 | 1458 | 70.7 |
| 3 | B | 40 | 1.769 | 0.240 | 0.284 | 286 | 58.8 |
| 4 | C | 40 | 1.785 | 0.111 | 0.089 | 1325 | 60.9 |
| 5 | C | 40 | 1.749 | 0.172 | 0.932 | 555 | 56.0 |

Approx. $\chi^2 = 8.633 < 9.488$ ($p=0.05$, $df=4$)

Weighted mean of M=1.783

Combined potency=60.6 IU/mg

Lc=0.093 (54.5~67.4 IU/mg, $p=0.95$)

り、その95%信頼限界は53.4~58.3単位/mgと算出され、LH活性は60.6単位/mgとなり、その95%信頼限界は54.5~67.4単位/mgと算出された。これらの結果に基づいて、国立衛生試験所下垂体性性腺刺激ホルモン標準品(Control 941)のFSH活性の力価を56単位/mg、LH活性の力価を61単位/mg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日本オルガノン(株)(沢村勝文薬事・法規室長)、持田製薬(株)(酒井

喜代志クオリティ担当副部長、鴨西啓司静岡クオリティ・チーフ)、帝国臓器製薬(株)(竹崎孝行品質管理部長、三枝 衛主席研究員)および三共(株)(外岡弘道品質管理部長、湯浅 正、吉崎忠雄品質管理課長)に深謝いたします。

文 献

- 1) US Pharmacopoeia 23, pp. 1705~1715 (1995)

レギュラトリーサイエンス討論会

生物学的同等性の評価法

青柳伸男

Assessment of Bioequivalence

Nobuo Aoyagi

Bioequivalence tests in Japan are now under the improvement according to the WHO guidance. This article describes the desirable assessment of bioequivalence where the use of discriminatory subjects, application of confidence interval methods, logarithmic transformation of pharmacokinetic data are recommended. The role of dissolution tests in bioequivalence assessment is also discussed.

Keywords : bioequivalence, bioavailability, dissolution test, generic drug, guideline

(Received May 31, 1996)

生物学的同等性試験の主な目的は、対照、試験製剤のバイオアベイラビリティが同じであることを証明することによって、両製剤を治療上、互換使用しても問題がないことを示すことにある。しかしながら、同じであることを証明することは決して容易でない。どのような被験者を対象とし、どのようなパラメータを用い、どのような統計手法で生物学的同等性を評価すべきか、検討すべき課題は多い。また、生物学的同等性試験における *in vitro* 溶出試験の役割についても明確な結論は得られていない。これらの諸問題については国際的な場で議論がなされてきており、生物学的同等性試験の国際調和を図るべく WHO はガイドラインを作成した。我が国の生物学的同等性試験は、現在、改訂の途上にあるが、WHO ガイドラインと我が国の現行の同等性試験を対比しながら、生物学的同等性試験の主要な問題についてその在り方を述べる。

1. *in vivo* 試験

1) 被験者

健康人、患者、小児、女性、高齢者、いずれの被験者を用いて試験を行うべきかは重要な問題である。通常、健康成人男子が被験者として用いられるが「健康人でなく、医薬品が投与される患者で試験すべき」という強い意見もある。しかし、倫理面、試験の実行性等を考慮するとき、患者を試験に用いるのは望ましくない。健康人での試験を優先すべきであろう。被験者の選択に関して、WHO は年齢(18~55歳)、標準体重を規定しているが、大切なことは製剤間にバイオアベイラビリティの差が生じやすい被験者を用いることである。これに関連して殊に問題となるのは低胃酸被験者の存在で、中性付近の pH で溶出の遅い製剤のバイオアベイラビリティは正常胃酸の人に比べ低胃酸の

人で低くなりやすいことが知られている。そして、我が国では高齢者に低胃酸の人が多く、こうした実状を考えると、*in vitro* 溶出試験の結果から、低胃酸被験者で製剤間にバイオアベイラビリティの差が生じやすいと予想される場合は低胃酸被験者を選択し、生物学的同等性試験を行うべきであろう。

2) 統計解析

対照、試験製剤のパラメータの平均値間に有意差がないからといって両製剤が同等であることを意味するものではない。バラツキの大きい試験をすれば、平均値の差が多少大きくても有意差がなくなってしまうからである。仮説検定法のこの欠点を補うべく、バラツキの大きさを一定以下(検出力として0.8以上)に規定した検出力法は、当初、生物学的同等性を判定する優れた方法として各国で用いられた。しかし、それでもなお、バラツキの大きい試験を行えば行うほど同等と判定されやすいという欠点は残った。その後の研究で、平均値の差を推定する信頼区間法の方が同等性を判定する上でより適切であることが判明した。すなわち、精度のわるい試験に対して信頼区間法は厳しく、信頼区間法ではバラツキが大きいほど同等と判定されにくい。現在、WHO、各国共、信頼区間法を採用している。我が国では依然、検出力法が用いられているが、信頼区間法に変更する必要がある。

3) データの変換

統計解析を行う際、データの分布特性を把握しておくことは大切である。しかしながら、データが正規分布するかどうか確認するには多くの例数が必要でその確認は簡単ではない。血中濃度データは未変換より対数変換した方が正規分布しやすいといわれてきていた。しかし、実験的な

証明は全くなされておらず、未変換のままでも正規分布するとの想定の下で統計解析が行われてきた。しかし、種々の要因によって影響されるパラメータほど対数-正規分布しやすいという理論があり、その理論に基づけば、様々な生理学的要因の影響を受けやすい血中濃度データは対数-正規分布しやすいと考えられる。こうした背景を踏まえて解析されたペルフェナジンカプセルでは、最高血中濃度およびAUCは未変換値より対数変換値の方が正規分布に適合するということが証明された。現在、WHO、各国共、最高血中濃度、AUCは対数変換して統計解析を行うよう定めている。未変換値の方が正規分布しやすいというデータが得られない限り対数変換して解析すべきと思われる。

2. *in vitro* 溶出試験

生物学的同等性試験における溶出試験の役割については、ヒト試験の代替となり得るかどうかの観点から主に議論されてきている。そして、溶出速度とバイオアベイラビリティとの間に相関性がない限り、溶出試験を生物学的同等性の評価に用いるべきでないというのが主要な意見であり、溶出試験の活用はかなり制限されているのが現状である。しかし、製剤間の溶出速度の差が識別しやすい条件で試験を行い、すべての試験条件において製剤間に溶出速度の差がなければバイオアベイラビリティにも差を生じる可能性は少ないと考えられる（識別性の優れた試験条件は、通常、低撹拌速度、低界面活性剤濃度の条件で、pHは製剤によって異なる）。実際、溶出試験で製剤間に差がなかったのにバイオアベイラビリティに差はみられたという例は極めて少ない。これとは反対に、一つの条件においても溶出速度に差がみられた場合、すべての被験者ではなくとも特定の被験者でバイオアベイラビリティに差を生じる可能性がある。例えば、ジアゼパム錠等において、酸性条件下では溶出速度の差を示さなかった二つの製剤が中性条件下では著しい差を示し、それら製剤が低胃酸被験者でバイオアベイラビリティの有意な差を示したことが報告されている。したがって、溶出試験で製剤間に差がみられた場合、バイオ

アベイラビリティに差が生じやすい被験者（例えば、低胃酸被験者）を用いて生物学的同等性を注意深く評価する必要がある。このように、溶出試験は生物学的同等性に関し有用な情報を与えるもので、

- 1) 識別性の優れた被験者（低胃酸被験者等）の選択
- 2) 生物学的同等性の間接的保証
- 3) ヒト代替試験
- 4) individual bioequivalence の確保

に役立つと考えられる。

生物学的同等性をヒト試験のみで証明することは容易でない。クリアランスの変動が大きい医薬品では血中濃度が変動しやすく、生物学的に同等であることを証明するにはかなり多くの被験者が必要とされる。また、生物学的同等性試験は通常、健常成人を被験者として行われるが、健常人で同等であったからといって患者、小児等でも生物学的に同等となるとは限らない。近年、individual bioequivalenceが問題となっているが、医薬品の互換性を保証するには、基本的には個々の人で生物学的に同等であることを確認することが必要である。しかし、そうした試験は不可能に近い。溶出試験はそれらヒト試験の欠点、限界を補う手段として役立つ。溶出試験を積極的に活用し、生物学的同等性の保証度を高めると同時にヒト試験の軽減を図ることが大切である。

我が国の生物学的同等性試験は改訂の途上にあるが、改訂に際しては、1) 患者に対するリスク、2) 科学的評価、3) コスト-ベネフィット、4) 国際調和に配慮することが必要である。何よりも重要なのは患者に対するリスクで、試験法を設定するに際し、国際調和を損ねるようなことがあっても患者のリスクを増大させるようなことがあってはならない。例えば、高齢者に低胃酸の人が多い我が国の実状を考えると、諸外国では要求されなくとも我が国では、低胃酸の人で非同等性が疑われるとき低胃酸被験者を用いた生物学的同等性試験を要求すべきと思われる。

レギュラトリーサイエンス討論会

マトリキシング法によって推定される医薬品製剤の有効期間

吉岡 澄江・阿曾 幸男・小嶋 茂雄

Shelf-life Estimation of Pharmaceutical Products by Matrixing

Sumie Yoshioka, Yukio Aso and Sigeo Kojima

The shelf-life estimates of pharmaceutical products obtained by matrixing are compared with those obtained by ordinary analysis, using stability data generated by the Monte Carlo method. The effect of the variation in stability due to different packaging and formulations on the shelf-life estimates is described. Analysis of variance is proposed for the evaluation of shelf-life estimates obtained by matrixing. The relationship between the power of the test and the significance level is discussed as well as the effect of assay error on the power of test.

Keywords : shelf-life, matrixing, stability testing, ANOVA

(Received May 31, 1996)

2種類以上の異なる包装形態をもつ製剤や、同一成分でも処方量が異なる複数の製剤について同時に有効期間を設定する際に、包装間や処方間で安定性に有意な差がないと考えられる場合には、すべての包装および処方の製剤をまとめて安定性試験を行い、その結果から推定される一つの有効期間をすべての製剤に適用する方法—マトリキシング法—がICHにおいて採択された。マトリキシング法を取り入れることによって安定性試験を大幅に省力化することが可能であるが、安定性に差がある製剤を同時に組み合わせた場合には適切でない有効期間が推定されるリスクが生じる。そこでマトリキシング法にしたがって推定された有効期間が適切であるかどうか判断するための統計的方法を確立することを目的として、マトリキシング法による有効期間の推定値がどのような特徴をもつかをシミュレーションで検討し、包装間や処方間、さらにはロット間の有意差検定における有意水準と検出力との関係を明らかにした。

マトリキシング法および従来法によって推定される有効期間の差異

3種類の包装および3種類の処方の合計9種の製剤の組み合わせを仮定し、これらの製剤の経時的な品質の低下が薬物のゼロ次分解による含量変化によって起こると仮定して、3年から4年の有効期間をもつ製剤の分解データを発生させ、マトリキシング法および従来法によって推定される有効期間の違いを検討した。安定性に及ぼす包装および処方の影響を段階的に変化させた10種類のモデル（最も安定な製剤と最も不安定な製剤の分解速度の差：0~16.6%）を仮定し、サンプリング回数を3/4に省略できる代表

的なサンプリング計画を用いた。マトリキシング法による有効期間として、包装および処方の異なる9種の製剤についてシミュレートした分解データをすべて合わせて有効期間を計算した。一方、従来法による有効期間としては、組み合わせた製剤の中で最も不安定な製剤のデータのみを用いて有効期間を計算した。有効期間はWoolfe式を用いて、薬物含量が90%以下になる時間の95%信頼下限値として計算した。

マトリキシング法による有効期間は、各製剤について得られたデータをすべて合わせて計算するためにデータ数が従来法より多くなり、その結果、得られる分解回帰曲線の分散が小さくなり、従来法に比較して長い推定値が得られる。今回のシミュレーションによって、包装間や処方間で安定性の差がない場合においても、マトリキシング法では従来法より約1.8%長い有効期間が推定されることが示された。この両方法による有効期間の推定値の差は、包装や処方による安定性の変動が大きくなるほど増大し、最も不安定な製剤と最も安定な製剤間で安定性が10.2%異なるモデルでは、従来法による有効期間は41.0ヶ月であるのに対し、マトリキシング法による有効期間は約3ヶ月長くなり、6%近い差が生じることが明らかになった。すなわち、マトリキシング法により10%以上安定性が異なる製剤を組み合わせると有効期間を設定した場合には、最も不安定な製剤にとっては3ヶ月程度長すぎる有効期間を設定してしまうリスクが生じることが分かった。

包装間および処方間の回帰式の一様性の検定

シミュレーションによって明らかにされたマトリキシン

グ法および従来法による有効期間の推定値の差から判断して、包装および処方異なることによって安定性に10%以上の差がある製剤の組については、有効期間をマトリキシング法によって設定することは適切ではないと考えられる。マトリキシング法にしたがって推定された有効期間が適切であるかどうか、すなわち包装間および処方間で安定性に10%以上の差がある製剤を組み合わせせていないかどうかを判断するためには、包装間および処方間で回帰式が一樣であるかどうかを検定することが必要である。回帰式の一樣性の検定に用いる有意水準を設定することを目的として、シミュレートした分解データを用いて、包装および処方間の安定性の差の検出力に及ぼす有意水準の影響を検討した。初期と最終時点の分解データから計算した最終残存率に基づいて、包装および処方の各要因について分散分析を行った。

包装間や処方間に有意差が検出される率は、有意水準の上昇とともに当然増大する。今回、シミュレートした分解データに基づいて検討した結果、包装や処方が異なっても安定性に差がない場合においても検出率は有意水準の上昇にしたがって増大し、有意水準が0.1および0.25においてはそれぞれ約35%および50%になることが示された。一方、包装間や処方間での安定性の変動が大きくなるにしたがって検出力は増大するが、包装や処方によって最も不安定な製剤と最も安定な製剤間で安定性が10.2%異なるモデルでは、有意水準が0.1および0.25においては有意差の検出率はそれぞれ60%および80%近くに達することが明らかになった。したがって、包装間および処方間で安定性に10%の差がある製剤の組み合わせを、最低限検出すべき差（最小検出差）と仮定した場合には、有意水準を0.25に設定することによって、 β エラー、すなわち不安定な製剤にとって長すぎる有効期間を設定してしまうリスクを20%以下に抑えられることが分かった。これらの結果から、包装間および処方間での回帰式の一樣性の検定に用いる有意水準としては、0.25が適切であると考えられた。

以上に記した有意水準と検出力の関係は、分解データを得るときの定量誤差に大きく影響される。上記の具体的な数値は定量誤差が0.5%の場合に得られた値であり、定量誤差が上昇すると、包装間および処方間での回帰式の一樣性の検定の検出力は著しく低下する。

定量誤差が2%になると、有意水準を0.25に設定しても10%の安定性の差に対する検出力は約60%に減少することが示され、定量誤差の影響を0.5%以下に抑える必要性が明示された。なお、マトリキシング法を適用するとデータ数の増加によって従来法より長い有効期間の推定値が得られるメリットがあるが、定量誤差が大きいため有意差が検出されずにマトリキシング法を適用した場合には、大きな定量誤差に起因して分解回帰式の分散が大きくなるために、著しく短い有効期間が推定されることになる。したがって、有効期間の推定を目的とした分解データの測定は、精密な方法を用いるか、定量を繰り返すことによって、約0.5%以下の定量誤差で行うことが原則である。

さらに今回のシミュレーションの結果から、包装および処方の各因子によって安定性が少しずつ変化する場合よりも、一つの因子だけが安定性に差を生じる場合の方が、例えば、ある一つの包装の製剤のみが低い安定性を示す場合の方が、その差を検出されやすいことが分かった。

ロット間の回帰式の一樣性の検定

包装間および処方間での回帰式の一樣性の検定を行う際には、それぞれの分解データに有意なロット間変動はないことが前提である。ロット間変動の検定における有意水準としては0.25の値が現行のガイドラインにおいて設定されているが、この値については議論がしばしば生じており、0.05の値への変更が提案されたりしている。この有意水準の設定の意味を明らかにすることを目的として、有意水準と検出力との関係をシミュレーションで検討した結果、ロット間に25%の安定性の差がある場合に、有意水準が0.05では β エラーすなわちロット間に差があるのに差がないと見なす誤差が50%近くに達するのに対して、有意水準が0.25では20%以下になることが示された。すなわち、有意水準が0.05ではロット間に25%も変動がある場合にも50%の確率で検出できないのに対して、有意水準0.25では、 β 誤差を通常の検定で考察される20%以下にできることが分かった。以上の結果から、ロット間変動の検定における有意水準としても、0.25が適当であると考えられた。

ロット間変動の検定の検出力も定量誤差に大きく依存することが示され、有効期間推定のための分解データは、0.5%程度の小さい誤差の条件で集積することが重要であることが確認された。

レギュラトリーサイエンス討論会

局方生薬の成分定量

鈴木 英世・佐竹 元吉

Determination of Crude Drugs in the Pharmacopoeia

Hideyo Suzuki and Motoyoshi Satake

The determination of crude drugs by high performance liquid chromatograph (HPLC) method was introduced to the Japanese Pharmacopoeia (JP) 12 for the first time. At JP 13, another HPLC methods were established for eight kinds of crude drugs and relative medicines. Special conception is used in the determination of crude drugs, different from chemical medicines. Determinations were classified to two methods: "assay" and "component determination" according to standards. "The Japanese Reference Standard" or "Reagent for assay" is used in assay, and "Reagent for component determination" is used in component determination. In addition, the analysis and the dryness of crude drug were discussed because they were important to evaluate the result of analysis exactly.

Keywords : Japanese Pharmacopoeia, crude drug, assay, component determination, reference standard
(Received May 31, 1996)

生薬成分の定量は生薬の品質評価の基本であり、局方ではこれまでエキス量を求める重量法の他に、さらに限局した成分の量を求める精油定量法や滴定法が使われてきた。しかし、国内で純度のよい生薬成分が市販されるようになり、また機器分析が普及してきたことを受けて、先の12局からは成分単位の測定のためHPLC法が採用されるようになった。また、本年4月1日から適用の13局でも重要生薬の成分定量にHPLC定量法の導入が進められている。これらのHPLC分析では、抽出、標準品、含量規格表現など、化学薬品とは異なった考え方が採用されている。ここでは、生薬の定量の一般的な解説および13局で新設又は改定された定量法を概説する。

1. 13局での生薬定量法の特徴

新設又は改定した定量法はすべてHPLC法で実施される。この操作には、四塩化炭素やクロロホルムなど有害試薬を用いないクリーンアナリシスとなるように心がけた。また12局の性状項にあった成分の含量幅(参考値)の表現は廃止し、規格値扱いとした。この成分含量は薬効評価の基準とされたり、また生薬を製剤化で用いる時には品質管理の指標とされる。そのため、「……〇〇%以上含む」のように表記し、その基準値は判定材料となった。

2. 生薬のHPLC定量法と標準品

HPLCを用いる生薬の成分定量法には、定量法と成分含量測定法がある。定量法には標準品に日本薬局方標準品や定量用試薬を用いる。生薬分析で用いられる日本薬局方標準品は、衛生試験所や日本公定書協会から頒布されてい

る塩化ベルベリン、グリチルリチン酸、硫酸アトロピン、臭化水素酸スコポラミンなどがそれにあたる。また定量用試薬は、「試薬・試液」の項に規格および試験方法が記載されており、多くの場合、純度のよい医薬品各条の薬品を用いる。成分含量測定法の標準品には、市販の試薬を用い、使用前に「試薬・試液」の項にある純度試験などの規格に合致することを確認する必要がある。

3. 生薬の乾燥

生薬中の水分量は外部環境により刻々と変化する。そのため成分量を決定するには、水分量を差し引いた生薬をベースにするのが最適と考えられる。しかし、乾燥減量を求めることが難しい場合もあり、生薬を次のように分類して成分量を求めるのが妥当と考えられた。

(i) 精油生薬では、乾燥すると、水とともに精油も揮散するので、乾燥操作を加えない生薬自身に対して求める(コウボク、ボタンピ等)。

(ii) 成分が安定な生薬では、乾燥したものに対して求める(ベラドンナコン、マオウ、ロートコン等)。

(iii) 乾燥減量試験を実施する多くの生薬では、換算した生薬の乾燥物に対して求める(オウゴン、オウレン、カンゾウ、シャクヤク、センナ、ダイオウ、トコン等)。

今後は、定量の迅速化が可能な分類(iii)の方法で実施されることが多くなると考えられる。

4. 新設の成分定量法

成分の含量規格の設定は、現在流通している市場品をできるだけ多数収集し、複数の機関で分析して行った。次に

新設した定量法と規格値について概観する。

オウゴン：イオン対 HPLC 法/バイカリン 10.0%以上。

コウボク：マグノロール 0.8%以上。

センナ：イオン対 HPLC 法/センノシド A とセンノシド B の含量和を総センノシドとして求める。1.0%以上。

ダイオウ：イオン抑制 HPLC 法/比較的成分量の多いセンノシド A のみを定量する。0.25%以上。

ボタンピ：ペオノール 1.0%以上。

(ただし、生薬の粉末やエキスは省略)

5. 改定した成分定量法

アルカロイドを含むトコン、トコン末、ベラドンナコン、ベラドンナエキスおよびマオウの成分定量には滴定法を用いてきたが、分画操作などがあり、分析者により誤差がでやすいとの意見があった。そこでそれらの生薬についても、再現性と操作の簡便性に優れた HPLC 法が採用された。

トコン：イオン対 HPLC 法/エメチンとセファエリンの含量和を総アルカロイドとして求める。2.0%以上。

ベラドンナコン：ロートコンの HPLC 定量法を準用/ヒヨスチアミン 0.4%以上。

マオウ：イオン対 HPLC 法/エフェドリンとプソイドエフェドリンの含量和を総アルカロイドとする。0.7%以上。

(ただし、生薬の粉末やエキスは省略)

6. 12局から引き続き実施する生薬の成分定量法

ウワウルシ：HPLC 法/アルブチン 7.0%以上。

オウバク：イオン対 HPLC 法/塩化ベルベリン 1.2%以

上。

オウレン：イオン対 HPLC 法/塩化ベルベリン 4.2%以上。

カンゾウ：HPLC 法/グリチルリチン酸 2.5%以上 (規格値に変更)。

シャクヤク：HPLC 法/ペオニフロリ 2.0%以上 (規格値に変更)。

センソ：HPLC 法/アフォステロイド (ブファリン、シノブファギン、レジブフォゲニンの合計量) 5.8%以上。

ホミカ：HPLC 法/ストリキニーネ 1.07%以上。

ロートコン：HPLC 法/総アルカロイド (ヒヨスチアミンとスコポラミンの合計量) 0.29%以上。

ハッカ油：GC 法/メントール 30.0%以上。

ユーカリ油：GC 法/シネオール 70.0%以上。

(ただし、生薬の粉末やエキスは省略)

結 語

薬局方全般で試験法の質的充実と試験項目の整備が進められており、分析にも機器を用いる方法の積極的な導入が進められている。局方生薬においても、HPLC を用いる成分定量法の数は今後も多くなるものと思われる。当面は、標準品に市販試薬を用いる成分定量法で行うが、順次、日本薬局方での標準品化を進め、本来あるべき定量法の設定をめざしたいと考えている。

レギュラトリーサイエンス討論会

熱分析法の医薬品の品質評価試験への応用

小松 裕明・吉井 公彦・岡田 敏史

Application of Thermal Analysis to Quality Evaluation Tests of Drugs

Hiroaki Komatsu, Kimihiko Yoshii and Satoshi Okada

Thermal analysis method can be applied to the quality evaluation tests of drugs. Recent advances in the technology and the data-processing system on the apparatus have accelerated the utilization of this analytical techniques in the field of drug quality control. In this report, various application techniques of the thermal analysis such as DSC, DTA, TG and the impurity analysis by DSC, were reported and discussed from the viewpoints of a general test in the Japanese Pharmacopoeia. Further the present situations of this analytical method in the US Pharmacopoeia 23 and the British Pharmacopoeia 1993 are also explained.

Keywords : thermal analysis, drug quality control, Japanese Pharmacopoeia, US Pharmacopoeia, British Pharmacopoeia

(Received May 31, 1996)

熱分析法は、医薬品の品質管理に広く応用されることが期待されながら、未だ十分に活用されていない。熱分析装置の自動化が進み、一方で医薬品の製造工程管理に GMP が法的拘束力をもって適用されるという状況の中で、熱分析法を日局一般試験法として規定して欲しいとの要望が各方面から寄せられている。USP は XX 版 (1980) より、BP および EP は 1991 年より、熱分析法を一般試験法として採用しており、日局においても早期の採用が期待されている。

熱分析法を医薬品の品質管理に応用する場合、原薬または標準品の規格試験への応用が中心となり、製剤に関する試験への応用は考えにくい。原薬の規格および試験法の一般的構成を考えると、熱分析法の適用対象となる試験は、当然ながらかなり限定されたものとなる。性状の項中、結晶性に関する試験、示性値に関する試験のうち、融点、沸点、凝固点など相転移を伴う物理的変化に関する試験、純度試験中、類縁物質に関する試験、乾燥減量または水分に関する試験などが、具体的な適用対象として考えられる。このうち、最も可能性の高い適用対象は、乾燥減量または水分測定への熱重量分析法の応用であり、別に、興味深い適用対象として純度試験中の類縁物質試験に対する示差走査熱量分析法がある。

本報告では、USP および BP における熱分析法の概要と適用事例につき紹介するとともに、著者らの実験成績も合わせて示し、日局一般試験法への採用にあたっての問題点などにつき、考察した。

1. USP, BP および EP における熱分析法

USP の熱分析法は、熱重量分析法 (TG)、示差熱分析法 (DTA) および示差走査熱量分析法 (DSC) を規定しており、熱分析法の主要なテクニックのすべてが利用可能とされており、3種類の異なる試験に応用できることを規定している。すなわち、①相転移温度の決定が DSC 法および DTA 法により可能なこと、②TG 法により温度および加熱時間の関数として試料の質量変化を観察できること、③DSC 融解ピークの解析から試料温度と融解分率の関係を求め、Van't Hoff 式を適用して試料中の不純物総量が求められることを明記している。

一方、BP および EP における熱分析法の応用は、現在のところ TG 法に限定されている。全体に簡潔な記載がされている中で、温度および質量スケールの校正につき、温度はニッケルまたは他の適当な物質により、質量は、シュウ酸カルシウム一水和物を用いることが規定され、EP 標準品が供給されている。

2. 熱重量測定 (TG) 法による乾燥減量試験

Table 1 に、USP および BP, EP における TG 法の応用例を示した。Table 1 によれば、USP では、硫酸ビンプラスチンをはじめとする 6 品目の乾燥減量試験 (LOD) に TG 法が採用されている。また、BP および EP における熱分析法の採用は 1991 年と比較的新しいため、現在のところ硫酸ビンプラスチンと硫酸ビんクリスチンの 2 品目の乾燥減量試験で TG 法が規定されている。

これらの医薬品原薬は、Amiloride Hydrochloride を除

Table 1. Application of Thermogravimetry to the Loss on Drying Test in the USP 23 (1995), the BP 1993, and the EP 2nd

| Monograph | Specification in Pharmacopoeia | | |
|---|--------------------------------|--------|-----------------|
| | USP 23 | BP/EP | JP 13/RAP* |
| Amiloride Hydrochloride (2H ₂ O)** | 11.0~13.0% | | — |
| Bromocriptine Mesylate | ≤4.0% | | LOD: ≤3.0% |
| Edetate Disodium (2H ₂ O)** | 8.7~11.4% | | Not specified |
| Sterile Imipenem (H ₂ O)** | 5.0~8.0% | | MC***: 5.0~8.0% |
| Vinbrastine Sulfate | ≤15.0% | ≤15.0% | LOD: ≤15.0% |
| Vincristine Sulfate | ≤12.0% | ≤12.0% | LOD: ≤12.0% |

* Requirements for Antibiotic Products (RAP), Ministry of Health and Welfare, 1993

** Mono- or dihydrate

*** Moisture content (MC): In the RAP, MC for Imipenem can be determined either by the LOD test (60°C, 3 hr, ≤0.67 kPa) or the Water Content Determination by Karl-Fisher method.

き、日局または日本抗生物質基準に記載されているものがあるが、イムペネムを除いて通常の乾燥減量試験が適用されている。イムペネムの場合、含湿量として規定され、乾燥減量またはカールフイッシャー (KF) 法による水分測定の内いずれの方法を用いてもよいとされている。対象品目の特徴としては、硫酸ビンブラスチンのように高価で貴重な試料であること、水和または溶媒和のため減量率が大きいこと、溶解性が悪いため KF 法による水分測定法が適用しにくいなどの特徴がある。上記のような特徴をもつ医薬品原薬または標準品につき、乾燥減量試験または水分測定法の代替法として TG 法は有力な分析手段と位置づけられる。

3. DSC または DTA によるプラスチック容器材料の確認・同定

USP は、プラスチック容器材料のうち、ポリエチレン (PE) とポリエチレンテレフタレート (PET) につき、DSC または DTA サーモグラムの標準フィルムとの比較から確認・同定する方法を規定している²⁾。PE 容器については、高密度 PE と低密度 PE の二つの規格が規定されており、それぞれの標準フィルムと試料を同一条件で DSC または DTA 測定するとき、(1)サーモグラムの類似性と、(2)吸熱および発熱ピークにおける相転移温度の差異が、高密度 PE では 6.0°C 以下、低密度 PE では 8.0°C 以下であることが規定されている。一方、PET 容器についても同様な規定がなされており、PET 標準フィルムと比較して、(1)サーモグラムの類似性と、(2)融解温度 T_m およびガラス転移温度 T_g の差異が、それぞれ 9.0°C 以下または 4.0°C 以下と規定されている。

このように、プラスチック材料の特性評価にあたり、熱分析法は有力な手段となり得るが、融解温度またはガラス転移温度の絶対的評価による判定が困難なため、標準フィルムを用意しなければならないところに難点がある。

なお、国内で輸液用プラスチック容器材料として繁用さ

れている PE は、USP の高密度 PE または低密度 PE のいずれとも異なっていることを観察している。日局では PE 容器材料に対し、熱分析法による確認を要求していないが、GMP 的な品質管理の中で容器材料のバリデーションに DSC または DTA 分析法を積極的に活用することのメリットは大きい。

4. DSC 法による不純物解析

USP は、DSC 法の特殊な応用手段として、共融混合物に対する不純物解析 (Eutectic Impurity Analysis) が可能なことを規定している³⁾。不純物の共存により、純物質の融点が低下し、融点降下の度合いは不純物量に比例するという、Van't Hoff 式 (1) を適用する方法である。具体的には、融解ピークの解析から融解温度 T_m と融解分率 F の関係を求め、得られる直線プロットの勾配より、試料中の総不純物含量 X_2^* を求めようとする方法である。

$$T_f = T_0 - [X_2^* RT_0^2 / \Delta H_f] (1/F) \quad (1)$$

純度標準物質およびモデル薬物の DSC 法による純度解析 NIST の純度標準物質 (フェナセチン)³⁾ と 3 種の自製モデル薬物 (アセトアミノフェン、エテンザミド、ニコチン酸アミド) につき、二つの異なる装置による純度解析結果を紹介した。いずれの薬物においても不純物量の増加に伴って、保証値または期待値からのズレは大きくなり、ズレの方向は不純物量を過小評価する傾向があることが示された⁴⁾。これは、Van't Hoff 式の成立が、理想稀薄溶液を仮定しているのに対し、不純物の増加に伴い、不純物間または不純物-主成分間の相互作用が避けられなくなることに起因するものと推定された。いずれにしても、不純物総量 2 モル% 付近が一つの限界点になるものと考えられ、それ以上の不純物を含むと予想される試料への適用は、かなりのリスクを伴うことを覚悟する必要がある。

トリアゾラム標準品の純度解析 日本薬局方外医薬品規格、通称、局外規に記載される「トリアゾラム」という催眠鎮静剤があり、その HPLC 法による定量試験でトリア

ゾラム標準品が対照物質として用いられている。そのトリアゾラム標準品の規格および試験法が局外規中で規定されているが、それによれば、赤外吸収スペクトルの特性吸収波数、融点のほかには含量が規定されており、その含量は、DSC法により求めるものとされている⁵⁾。

すなわち、上述の USP の不純物解析法の手順により、Van't Hoff 式を適用して試料中の不純物総量を求め、これを全体から差し引くことで主成分の含量が求められるとされている⁵⁾。DSC法による不純物解析法を定量法としてしまうことについては、疑問があるが、こうした方法が公定規格書に既に採用されていることのもつ意味は大きい。特に、標準品の場合、含量を相対的に評価する方法が基本的に存在しないため、純度の定量的評価ということが、とりわけ重要な課題となる。したがって、HPLC、TLC などによるクロマト的な純度評価に加えて、DSC 的な純度評価ができれば、それぞれの試験結果に対する信頼性もそれだけ向上する。

DSC 法による純度解析の問題点 DSC 測定により得られる融解ピークの解析から純度を求めようとする方法の最大の特徴は、個々の不純物量を問題とせず、不純物の総量を求めることができることにある。したがって、ステロイド類や生薬成分のように、分離精製が困難なため、個々の類縁不純物量は微量であるが、トータル量としてみるとき無視できないというような場合、この不純物解析法の適用が期待される。とはいえ、実際にこの方法を適用するにあたっては、テクニカルなことを含めていろいろな問題がある。

例えば、融解曲線上のある点における平衡温度 T_f の決め方、融解分率 F の決め方、モル融解熱 ΔH_f の求め方など、専門家の間でも議論のあるいくつかの問題があり、これらの技術的な問題につき、短期間で標準化することは困難である。したがって、個々のテクニカルな問題の解決は、装置メーカーとユーザーに任せてしまい、システム全体の信頼性を保証するために、純度標準物質を用いてバリデーションを行うという考え方が必要と思われる。

結 語

熱分析法の医薬品の品質評価試験への応用にあたり、ど

のような具体的な適用が可能か考えるため、USP および BP に採用されている一般試験法としての熱分析法の概要とそれらの適用事例、著者らの実験成績の一部を紹介した。日局においても熱分析法の一般試験法への採用が計画されており、それにより医薬品原薬および標準品などの品質管理への積極的な活用が期待される。

熱分析法の日局への採用にあたっては、熱重量分析法 TG の優先度が最も高いと考えられる。乾燥減量試験および水分測定法の別法として、直ぐにでも応用したいいくつかの原薬または標準品がある。

DSC および DTA は、試料セルと対照セル間での熱量の出入りの差を観測するか、温度差を観測するかの違いだけで、相転移など温度変化に伴う、物理的な状態変化の観察に適している。装置の類似性および適用対象の同一性を考慮するとワンセットの分析手法として考えることができる。プラスチック材料の確認または判別などに用いる場合、標準物質を用意しなければならない煩わしさがある。

また、USP のように、DSC 法を不純物解析の手法として規定するかどうかは、議論の分かれるところかと思われる。規定するとすれば、純度標準物質を用いて、システム全体の信頼性がチェックできるような規定をしないと、実際の応用は、かなり限定されたものになってしまうおそれがある。

熱分析の専門家、装置メーカー、製薬企業の品質管理関係者などの協力を得て、早期に熱分析法の一般試験法への採用を図れるようにしたい。

文 献

- 1) *US Pharmacopoeia* 23, p. 1837 (1995)
- 2) *US Pharmacopoeia* 23, p. 1781 (1995)
- 3) Standard Reference Material 1514 (Thermal Analysis Purity Set), National Institute of Standard and Technology (1984)
- 4) 岡田敏史, 吉井公彦, 小松裕明: 医薬品研究, 27, 169~176 (1996)
- 5) 厚生省薬務局審査課: “日本薬局方外医薬品規格”, p. 37 (1993)

会議名：FAO/WHO 食品規格委員会

第20回分析法およびサンプリング部会

出席者：副所長 斎藤行生**開催場所、時期：**ハンガリー、ブダペスト、平成7年10月2日～6日**参加者内訳、人数：**欧州、米国、カナダ、アジア、オセアニア、南米、独立国家共同体諸国、アフリカおよび国際機関（AOAC, IDF, ISO, IUPAC, FAO/WHO事務局）等41ヶ国から約110名が出席**会議内容：**以下の点が討議され今後の課題とされた。1) 内部精度管理はIUPAC/ISO/AOACのガイドラインを採用、2) 分析法の種類を拡大するために食品規格委員会の業務権限を改正する（例：バイオ食品の検出法）、3) 熟練度テストに参加する、4) オゾン層を破壊する物質を使用する分析法のレビューおよび他の機関への周知、5) 分析上のコアタームを定義し各国の意見を求める、6) サンプリングおよび分析法に関する用語の定義、7) IUPAC/AOAC/ISO等の分析法の問題点に関する検討、8) その他。**会議名：**ICH-3 準備会合および本会議**出席者：**前大阪支所長 武田 寧 (①②に参加)

薬品部 小嶋 茂雄 (")

毒性部 長谷川隆一 (")

薬品部 吉岡 澄江 (②に参加)

" 鹿庭なほ子 (")

開催場所、時期：①ICH-3 準備会合：ブラッセル（ベルギー）、1995年7月27日～30日、②ICH-3（準備会合および本会議）：横浜、1995年11月27日～12月1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**会議内容：**品質分野の5つのトピックスのうち、安定性試験、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専門家会議における検討の内容は次の通りである。

1. 安定性試験 光安定性試験のガイドラインに関しては、ブラッセルの会議において、3極間に意見の相違が存在した光源の問題ならびに判定基準の問題の解決が図られたため、横浜の会議においてステップ2に達した。

一方、一部変更申請における安定性試験のガイドラインに関しては、ブラッセルの会議において、申請にどのような試験を必要とするかを巡る日米と欧州との間の意見の対立を乗り越えられる見通しが立たないことから、その検討を凍結（“Freeze”）することとされた。なお、このガイドラインのうちの新剤形に関する部分についてはほぼ合意

されているので、この部分を抜き出して合意を目指すこととされた。横浜の会議では、この新剤形の申請の際に必要な安定性試験に関するガイドラインに関して、基本的な合意（ステップ2）に達することができた。

2. 分析法バリデーション 評価方法のテキストに関しては、ブラッセルでの会議においてすでに大筋での合意ができていたので、横浜での会議では残った点についての詰めが行われて、基本的な合意（ステップ2）に達した。

3. 不純物規格 製剤の不純物規格のガイドラインに関しては、ブラッセルでの会議において、主要な問題点であった構造決定ならびに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について解決をみており、横浜での会議で残った点の調整が行われた結果、基本的な合意（ステップ2）に達した。

また、残留溶媒のガイドラインに関しては、ブラッセルおよび横浜での2回の会議において、毒性学者の参加を得て精力的な検討が行われた結果、次の2点を除いてほぼ合意に達することができた。次回のワシントンでの専門家会議において、ステップ2に達することが期待される。

1) 本ガイドラインの適用対象に、医薬品添加物および製剤を含めるかどうか？

横浜での会議においては、このガイドラインの製剤への適用を巡って、①患者の安全を考慮すれば、製剤をこのガイドラインの対象にしないのでは意味がないとの意見が行政側から出される一方で、②製剤の大部分を占める添加物に関する残留溶媒のデータがないと、製薬メーカーが製剤をすべて試験をしなければならなくなり、負担が重すぎるとの意見が企業側から出され、決着がつかなかった。

そこで、各極の医薬品添加剤協会に、残留溶媒のデータを提供する用意があるかどうかを問い合わせ、その返事に基づいて、1996年4月末のワシントンでの専門家会議でこの問題について決着を図ることとされた。

2) クラス2の溶媒（基準値を設けて規制すべき溶媒）の規制に2オプション方式が導入されたが、オプション1およびオプション2をそれぞれどのように適用すべきか？

特に、オプション2に関して、その適用範囲を明確にする必要がある。

横浜でのICH-3の本会議（1995年11月29日～12月1日）においては、以上のような調和の成果が報告された。

会議名：ICH バイオテクノロジー応用医薬品の品質関連会議**出席者：**生薬薬品部 早川堯夫

森本和滋

川西 徹

山口照英

開催場所、時期：専門家会議（ベセスダ（米国）、1995年6月12, 13, 16日、パリ（フランス）、1995年9月12日～14日、横浜1995年11月28日～30日）、ICH-3シンポジウム（横浜1995年11月29日～12月1日）

参加者内訳、人数：専門家会議は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約20名、ICH-3シンポジウムは日米欧三極を中心とする40ヶ国以上の製薬企業、薬事規制当局から約2500名が参加した。

会議内容：バイオテクノロジー医薬品（バイオ医薬品）の品質（Q5）に関しては、ワシントン、パリ、横浜での3回の専門家会議および横浜でのICH-3において、以下の4つの課題について討議された。

1. VIRAL VALIDATION（ウイルス安全性）

正式ガイドライン名は「Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin（ヒトおよび動物細胞株由来のバイオテクノロジー製品のウイルス安全性評価）」である。厚生省が担当したもので、8つの章、30近くのセクション、5つの表、6つの付録からなり、全1174行のきわめて大部で複雑なものとなったが、1年半の作業の末、ICH-3でステップ2に達することができた。その趣旨、目的は、ヒトや動物細胞株由来の特性解析がなされた細胞株から生産されるバイオ医薬品のウイルス面からみた安全性に係わる試験や評価のあり方を提示することにある。すなわち、細胞レベルでのウイルス安全性評価試験のあり方、細胞培養終了後でのウイルス試験のあり方、精製過程における不活化・除去等のウイルスクリアランスに関する試験のあり方、精製目的産物でのウイルス試験のあり方などに関する国際調和ガイドラインである。適用対象とする製品の範囲については、テキスト本体は「特性解析がなされた細胞株をインビトロで培養して得た製品」を対象とすることにし、腹水のようなインビボで増殖したハイブリドーマ由来の製品については、付録に示された特別な留意事項が適用されることになった。一方、不活化ワクチン、自己複製体を含む生ワクチン類はすべて、あるいは、遺伝子操作をした生きたベクターなどは本ガイドラインの適用範囲には含まない。ステップ2に至るまでの主な論点は、1) マスター・セル・バンク（MCB）、ワーキング・セル・バンク（WCB）、および医薬品製造条件として提案されたインビトロ細胞齢の上限まで培養された細胞（CAL）で一度は実施すべきウイルス試験の実施要領、特にWCB、CALでの外来性ウイルス否定試験の範囲と程度、2) 未精製バルクでのウイルス試験の範囲と程度、またその試験の頻度、3) 細胞レベル

および未精製バルクでのウイルス試験結果に応じた精製段階でのウイルスクリアランス試験のあり方と試験に用いるウイルスの選択、4) 一般、特殊を問わず各種ウイルス試験の具体的内容の記述法、などに関してであった。

2. GENETIC STABILITY（遺伝子安定性）

正式ガイドライン名は、「Analysis of the Expression Construct in Cells Used for Production of rDNA Derived Protein Products（組換えDNA応用タンパク質の生産に用いる細胞中の遺伝子発現構成体の分析）」である。FDAが担当したもので、4つの章、6つのセクション、全178行からなる。討議開始から2年後の1995年3月にステップ2となっていたが、ICH-3でステップ4に達した。ステップ2からステップ4の間は一部の字句の修正があったのみで実質的内容の変更はなかった。主な変更点として、医薬品製造終了時の細胞または製造条件を超えて培養された細胞End of Production Cells（EOP）に関する記述があげられるが、EOPが多様な解釈を生む可能性やウイルス安全性ガイドラインとの関係から呼称と定義の変更がなされた。

3. PRODUCT STABILITY（製品の安定性）

正式ガイドライン名は「Stability Testing of Biotechnological/Biological Products（生物薬品：バイオテクノロジー応用製品/生物起源由来製品の安定性試験）」である。CPMPが担当したもので、9つの章、20のセクション、全520行からなる。討議開始から2年後の1995年3月にステップ2となっていたが、ICH-3でステップ4に達した。ステップ2からステップ4の間にはかなり多くの字句の修正および内容の一部手直しがあったが、いずれも解釈を明確にしたり全体の整合性を図るためのもので、内容の実質的な追加はなかった。変更点の一例としては適用対象となる物質について、「十分に特性解析がなされたタンパク質やポリペプチド類およびそれらの誘導体ならびにそれらを構成成分とする製品で、組織、体液あるいは細胞培養液から単離・精製され、あるいは組換えDNA技術を用いて生産されたもの」へ表現が変更された。

4. CELL SUBSTRATE（細胞基材）

ガイドライン名は「Derivation and Characterization of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products（生物薬品：バイオテクノロジー応用製品/生物起源由来製品の生産に用いられる細胞基材の由来に関する必要条件、細胞バンクの樹立と特性解析）」である。PhRMAが担当しているもので、ICH-3でステップ1、ドラフト3の段階にある。本ガイドラインの趣旨、目的は、1) 生物薬品（バイオ製品/生物起源由来製品）の生産基材として用いられるヒト、動物、微生物細胞の由来に関する基準、2) 細胞バンク樹立に関して要求されるデータ、3) 明らかにしておくべき細胞特性やその

特性を確認するための試験の実施要領, 4) 細胞の維持・管理方法, 細胞の安定性評価に関連する事項, について国際調和を図ることにある。主な論点と今後の課題としては, 1) 適用範囲に関する合意, 2) 申請時要求事項, GMP 事項, 参考事項の区別の明確化, 3) 細胞特性評価項目に関する合意, 4) 製品の品質恒常性確保の一環としての細胞の安定性評価のあり方, 5) 細胞の無菌試験やマイコプラズマ試験に関する既存公定書の利用とデータの相互受け入れの可能性, 6) 用語の整備, などがあげられる。

会議名: 生物薬品のウイルス安全性とウイルスクリアランスの評価に関する国際科学会議

出席者: 生物薬品部 早川堯夫
山口照英

開催場所, 時期: ベセスダ (米国), 1995年6月14日~16日

参加者内訳, 人数: EU 各国, 米国, カナダ, 日本等の産官, 学の研究者など約600名

会議内容: FDA, 米農務省, NIH, IABS, 米国ワクチン協会などが主催し, NIH の会議センターで行われた国際シンポジウムで, バイオ製品, ワクチン, 血液製剤, 遺伝子治療薬等のウイルス面からみた安全性評価, 製品の精製工程におけるウイルスクリアランス評価, ウイルス試験法などに関する最新の知見を公表し, 討議することを目的としていた。会議は, 5つのセッションからなる本会議と8つのブレイクアウトセッションから構成されていた。本会議でのトピックスは, 1) 細胞レベルでの解析, 2) 汚染をスクリーニングするためのアッセイ法, 3) ウイルスクリアランスの評価, 4) 製造工程で考慮すべき点, 5) 米国, EU および日本において承認時および第1相臨床試験開始時に規制側が求めるウイルス試験やプロセス評価に関するデータ, であった。早川は, 本会議の冒頭で頭書の課題とICHでのガイドライン作りとを関連づけながら主な問題点についての講演を行い, また座長を務めた。さらに3日間の本会議の終盤で総括講演を行った。ブレイクアウトセッションでは, アデノウイルスを用いた遺伝子治療, 動物起源の原材料に由来する外来性微生物をめぐる問題などに関する講演と討議が行われた。

会議名: 第2回中日薬品分析セミナー (天津市薬品試験所 JICA プロジェクト)

出席者: 生薬部 佐竹 元吉
薬品部 石橋無味雄

開催場所, 時期: 天津市 (中国), 平成7年11月6日~11月11日

参加者内訳, 人数: 中央政府の衛生部関係者3名をはじめ, 各省・各市等の代表者107人

会議内容: 11月6日に中国衛生部薬政局長を迎えて, 開会式が行われた。続く2日目にかけて, 佐竹・貴志および石橋専門家等による特別講演が行われた。第3日目は天津市薬品試験所および生薬倉庫等の関連機関の見学, 第4日目は中国側の試験所における試験内容が発表された。第5日目は総合討論会が中国側の質問に日本側の専門家が返答する形式で行われた。

参加者は中央政府の衛生部関係者3名をはじめ, 各省・各市等の代表等107名であった。主なテーマは中薬および化学薬品の分析技術に関する行政的な考え方とその実施法であった。

中薬に関しては化学的分析技術, 特に TLC および HPLC を用いた試験法が広く導入されたため, 標準化合物の取り扱いが話題となった。また, 日中の薬局方の相違点や日本薬局方における最も新しい考え方などが日本側専門家によって述べられた。中薬の製薬工場における GMP については日本の漢方エキス製剤の GMP を示して討論が行われた。

化学薬品に関してはニセ薬の試験法, 溶出試験法等新しい試験法に関して話題が集中した。

シンポジウムを通して, 日中の生薬および生薬製剤規格の統一の重要性を, 生薬生産国の立場 (中国) と使用する国の立場 (日本) から検討し, 薬局方の記載内容, 標準生薬, 標準植物標本, 標準化合物およびこれらを利用した規格の作成の必要性を感じた。このような日中の国際調和は, 同様な医薬品を用いている東南アジアへも波及し, その効果をもたらすと考えられる。

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: ストックホルム (スウェーデン), 1996年4月24日~26日

参加者内訳, 人数: 17ヶ国, 約70人

会議内容: 医療用具の生物学的評価の枠組みと試験方法の国際調和をめざしている。すでに, 多くのパートが国際規格 (ISO) として出版されたが, それらのスタンダードの多くが各国の試験方法の羅列であるため, もっと分かりやすく使いやすいものに改訂する必要がでてきた。また, 試験をただ網羅的に実施するのではなく, より効率的に実施することが必要であり, そのためのアプローチを標準化する必要があるという雰囲気が出てきた。そこで, 次の二つの WG を新設することを決定した。

WG14: Material characterization (convener: J. Lang-UK)

WG15: Strategic approach to biological assessment (convener: B. Page-USA; B. Krug-Germany; A. Nakamura-Japan)

その他の重要な決定は以下の通り：(1) Part 1「試験の選択」の修正のために、現 ISO の利用に関する問題点のアンケートを実施するための案文を作成；(2) 日本の細胞毒性試験の陽性対照材料を各国の方法でテストし、データを集める；(3) 血液適合性試験の一つとして補体活性化試験法を盛り込む計画であったが、臨床上の意義が薄いとされ、この計画は撤回された；(4) 化学物質の医療用具中の残留許容値を決める標準手順を審議中であるが、同じ毒性文献データを用いたフィージビリティスタディーを行うこととされた。今回は、1997年4月に英国で行われる。

会議名：AAMI/FDA 主催 第6回医療用具の国際標準化会議

出席者：療品部 新谷英晴

開催場所、時期：ワシントン（米国）、1996年3月26日～3月27日

参加者内訳、人数：米国150名、欧州50名、アジア20名（内日本5名）

会議内容：本会議は“国際調和”が議論の中心で、議論の中には ISO も含まれていた。ISO TC/198（医療用品の滅菌）に関して言えば ISO 11138-1,2,3 成立に伴い現存する ANSI/AAMI ST 21, ANSI/AAMI ST 19 は各々 AAMI ST 11138-2 ならびに AAMI ST 11138-3 になり、ISO 11138-1 を基にして ST 11138-1 が作成される。さらに ANSI/AAMI ST 34 は WD 14161 が ISO に成れば AAMI スタンドにする予定であり、これは欧州も同様である。確かに ISO は今後各国の規格ならびに基準改正に影響を与えていくことは確実であるが、ISO 11138-1,2,3 が米国で国内規格にするため修正されたように日本を含め各国で ISO がそのまま国内規格に取り入れられる可能性は低いと考えられる。

具体例を挙げれば私が国内委員会の主査をしている ISO/TC 198/WG4 のドキュメント ISO 11138-1,2,3 は米国の ST-11138,1,2,3 とは内容をかなり異にする。幸いにも日本案であった生残曲線法での制限スタンポーマーフィーコクラン法、ならびに一担体数菌種の生物指標の主張は ISO では認められなかったが AAMI/ANSI では採用されることになった。

本会議で米国として ISO を国内規格にするための修正理由等を説明していたが、本会議に出席して“国際調和”の難しさをあらためて実感させられた次第である。

会議名：第28回国際食品規格委員会食品添加物汚染物質部会

出席者：食品部 豊田正武

食品添加物部 山田 隆

開催場所、時期：マニラ（フィリピン）、1996年3月18日

～22日（15日～16日 ad hoc working group）

参加者内訳、人数：35ヶ国の政府機関代表、31の食品関連の国際機関・団体など、約190名

会議内容：2月にジュネーブで開催された第46回 JECFA 会議の要点の報告が行われた。次回の 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甘味料と増粘安定剤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、次は着色料、色調安定剤と膨張剤について同様な作業を行うこととなった。食品汚染物質については、アフラトキシン B₁、オクラトキシン A、鉛、カドミウム、ダイオキシンについて討議がなされ、錫とパツリンについては position paper が作成されることとなった。

会議名：医薬品国際一般名（INN）委員会

出席者：有機化学部 宮田直樹

開催場所、時期：ジュネーブ（スイス）、1995年4月18日～22日

参加者内訳、人数：日、米、欧などから INN 委員8人、WHO 事務局6人、オブザーバー1人、また、製薬業界代表グループ約10人

会議内容：WHO において、第25回 INN（医薬品国際一般名）策定委員会が開かれ、1) 1994年11月以降に申請された79品目（内、日本からの申請品目10）について、国際一般名（INN）策定作業を行った。2) リスト#73 p. INN において継続審議になっていた17品目、および、リスト#73 p. INN 以前からの継続審議品目（6件）について、国際一般名（INN）策定作業を行った。3) p. INN 既収載品目についてコメントに基づき再審議した。その結果、脳下垂体ホルモンのステムについて、—trophin を —tropin に統一することが決まり、3品目の INN が変更になった。4) バイオテクノロジー産物の命名法とその定義について審議した。5) 製薬業界代表グループとの意見交換会を行い、INN のステムの定義法、INN と商標との明確な区分法などについて質疑応答を行った。6) INN 情報のインターネットによる公表について検討を行った。

会議名：医薬品の構造式データベースの作成に関する検討会

出席者：有機化学部 宮田直樹

開催場所、時期：ジュネーブ（スイス）、1996年2月21日～22日

参加者内訳、人数：日、米、仏、伊などから医薬品構造式

に関するエキスパート5人, WHO 事務局7人

会議内容: WHOにおいて, 医薬品の構造式データベースの作成に関する専門家委員会が開かれ, INN (医薬品国際一般名)に登録されている医薬品を中心に構造式データベースを作成することに関して意見交換を行った。その結果, 現在各国が所有する医薬品構造式リソースを利用して実現可能な医薬品データベースを作成することで意見が一致した。当面は, 1996年秋をめどに, USPの協力の下に, 試験的なデータベースを作成し, それに基づいて経費や作成に要する時間等見積もることになった。データベースは, ISIS/BASE上で作成する予定。

会議名: ヨーロッパ連合・ヨーロッパ薬局方, 日本薬局方および米国薬局方における無菌試験法と保存効力試験法の国際調和のための会議

出席者: 衛生微生物部 三瀬勝利

開催場所, 時期: バルセロナ市 (スペイン), 1996年2月2日~8日

参加者内訳, 人数: 26カ国, 約200人

会議内容: ヨーロッパ連合・ヨーロッパ薬局方の主催により, ヨーロッパ薬局方, 日本薬局方および米国薬局方の無菌試験法と保存効力試験法の国際調和のためのオープン・カンファレンスが行われた。両試験法のリード薬局方はヨーロッパ薬局方である。この会議内容をもとに近日中にステージ5が発表されるであろう。無菌試験法に比べて, 保存効力試験法の調和が遅れているように思われた。なお, 日本側からの出席者は全員で3名であった。

会議名: 第一回「国際簡潔評価文書 (Concise International Chemical Assessment Document: CICAD)」スティアリンググループ

出席者: 化学物質情報部 関沢 純

開催場所, 時期: ワシントン D.C. (米国), 平成7年5月30日~6月1日

参加者内訳, 人数: 先進9ヶ国および, OECD, EUを含む4国際機関の代表の計28名

会議内容: IPCS/OECD 優先物質諮問会議の決議, 「西暦2000年までに500物質について既存の各国の安全性評価資料を基に, 国際的に利用できる簡潔な化学物質の安全性評価文書をIPCSが作成する」の具体化のために開かれた。簡潔な国際評価文書の名称, 内容, 作成手順, 体裁, 執筆指針, パイロット計画のスケジュールについて討議した。CICADはこれまでIPCSが作成してきた Environmental Health Criteriaの科学的な信頼性を保ちつつ, 各国や国際機関における化学物質の安全性管理にとって, より直接的な参考資料となることを目指すことになった。

会議名: 国際化学物質安全性カードの作成・翻訳および化学物質安全性に関するグローバル情報ネットワークに関する検討会議

出席者: 化学物質情報部 山本 都
中野達也

開催場所, 時期: ジュネーブ (スイス), 1995年6月17日~7月2日

参加者内訳, 人数: IPCS, ILO, UNEP, WHO, 英国, カナダ, 衛試等約15名

会議内容: WHO, UNEP, ILO, 衛試等が共同で進めているGINC (化学物質の安全性に関する情報ネットワーク)について, 現状および今後の方向を話し合った。各機関のデータベース等をインターネット上で利用するための技術的な問題も検討した。またGINCの実行にあたって各国際機関の現在のネットワーク状況を話し合った。

IPCSの国際化学物質安全性カードは現在各国語への翻訳が進められており, 各国の担当者を集めた翻訳会議 (1995年12月, 東京) 開催のため, IPCSおよびILOの事務局担当者と具体的な準備協議を行った。

会議名: GINCプロジェクトに関連したアジア太平洋地域諸国とのパイロット・ネットワーク構築に関する技術的な打ち合わせ

出席者: 化学物質情報部 神沼二眞

開催場所, 時期: バンコック, ジャカルタ, シンガポール, クアラルンプール, 1995年7月9日~18日

参加者内訳, 人数: 斉藤和幸 (厚生省生活科学安全対策室) 他約20名

会議内容: GINCプロジェクトは, 新しいIPCSを支える国際化学物質安全性フォーラムで正式に認知されたUNEPのIRPTC, ILOのCIS, WHOのPCSの共同プロジェクトであり, 日本が事実上のリードカントリー, 衛試情報部が事実上のリード機関として推進されている。今回の訪問は, アジア太平洋地域において, GINCのパイロットモデルとなるネットワークを構築する可能性を探ることである。そのため, 上記のアジア太平洋地域事務局や各国の関係機関が最初の訪問先として選ばれた。GINCのプロジェクトはインターネットを基盤とした情報交換を提言しているが, インターネットは今回訪問した東南アジア諸国でも急速に普及しており, タイミング的に非常に良かった。また今回の訪問先は, いずれもGINCのアジアのパイロットネットワークのキー機関となりうる場所であることもわかった。

会議名: IPCS 国際化学物質安全性カード (ICSC) 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）、1995年10月21日～10月30日

参加者内訳、人数：EU各国、米国、カナダ、日本、IPCS、IARCの担当者、ILO、EC委員会、CEFIC等約20名

会議内容：各国の担当者が毎年分担して原案作成しているIPCSの国際化学物質安全性カード（ICSC）の最終検討会議を行った。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70物質のカード原案を検討した。日本が担当した原案はそのうち、1,1,2,2-テトラプロモエタン、四ホウ酸ナトリウム、*p*-プロモアニリンなど9物質である。

会議名：IPCSのプログラム・アドバイザー委員会の役割の見直しに関するコンサルテーション

出席者：化学物質情報部 神沼二真

開催場所、時期：ジュネーブ、1995年11月27日～12月3日

参加者内訳、人数：各国のIPCS協力研究機関約10名、WHO、ILO、UNEPなど事務局側約13名

会議内容：化学物質の安全性に関する国際協力については、従来のIPCSの枠を拡大強化することが、リオの国際環境開発会議（UNECDのアジェンダ21第19章）で決まったが、これを受けて新たに国連機関などの協力機構であるIOMC（Inter-Organization Program for the Sound Management of Chemicals）とIFCS（Intergovernmental Forum on Chemical Safety）が設立された。これに伴い、従来のIPCSのPAC（プログラム・アドバイザー委員会）の役割をどうするかが協議された。結論として、PACはマネージメントとテクニカルな両面にわたり助言すること、必要ならテーマごとに分科会を開催すること、IPCSの仕事の効率と成果を向上させるには情報交換機能を強化すべきこととなった。

会議名：日米合同リスク研究学会研究

出席者：化学物質情報部 関沢 純

開催場所、時期：ハワイ（米国）、平成7年12月3日～12月6日

参加者内訳、人数：国別論文発表者数、日本55名（国公立研究所10名、大学33名、その他12名）、アメリカ351名、その他の先進国79名、途上国12名、計497名

会議内容：日本リスク研究学会は、Society for Risk

Analysis（SRA）の日本支部として初めて、SRAと合同で国外で研究発表会を持つことになった。日本支部の発表者のために一室が割り振られ、20題の口頭発表と12題のポスター発表があった。関沢は、Risk Communication on Consumer Chemical Productsという演題の研究発表を行った。研究発表会前日に5つのワークショップがあり、「曝露およびリスク評価における変動と不確実性の定量的解析方法」のワークショップに参加した。研究対象に内在する変動による不確実性と、理論およびデータの不備による不確実性とを、明確に分離して解析する必要性を認識した。また種々のリスク評価モデルを含むリスク分析についての最新の情報も入手できた。

会議名：第2回「国際簡潔評価文書（Concise International Chemical Assessment Document：CICAD）」スティアリンググループ

出席者：化学物質情報部 関沢 純

開催場所、時期：オタワ（カナダ）、平成8年2月21日～23日

参加者内訳、人数：カナダ7名、アメリカ6名、ドイツ4名、イギリス3名、スウェーデン2名、オーストラリア1名、日本1名、IPCS3名、OECD1名、計28名

会議内容：パイロット計画で作成されたCICADドラフトを参考に、CICADの内容とフォーマット、レビュープロセス、データの質の評価、CICAD作成対象物質の選択基準を検討し、結論と勧告を採択した。内容については、Environmental Health Criteriaの内容をカバーしつつ、データの詳細はCICAD作成の基礎となったナショナルレビュー（各国の評価資料）に委ね、簡潔かつ的確に健康と環境への影響評価にとりキーとなる研究データからエンドポイントと数値を記述する。評価結果における不確実性と、結果に基づく指針値（Guidance value）、リスクの総合判定（Risk characterization）についても記すことになった。

会議名：化学物質安全性国際フォーラム（IFCS）の第2回インターセッションナルグループ（ISG-2）の情報セミナー

出席者：化学物質情報部 神沼二真

中田琴子

中野達也

大竹千代子

石川恵司

開催場所、時期：キャンベラ（オーストラリア）、1996年3月3日～8日

参加者内訳、人数：化学物質の安全性に関わる31ヶ国の

政府の代表者、国際機関、NGO など、
171人

会議内容：この会合は、約3年に一度開催される化学物質の安全性に関する国際フォーラム (IFCS) の中間会合で、昨年のブルージュに続く第2回として開催された。本会合に先立つ3月3日～4日の2日間、コンピュータによる情報提供に関するデモ・セッションがあった。これは、先のブルージュで日本とオーストラリアが提唱したもので、化学物質情報部もこれに参加した。本会合では、IPCS などによる活動や財政状態が総括的に報告された他、(1)アジア地域の会合の必要性、(2) POPs (Persistent Organic Pollutants) に関する行動計画の必要性、(3)汚染物質の放出と移送に関する登録制度の導入の必要性、(4)97年2月オタワで開かれ第2回のフォーラムの準備メンバー国の選定などに議論の時間が当てられた。日本もフォーラムの準備メンバー国になった。

会議名：GINC プロジェクトに関連したアジア地域とのネットワーク構築に関する打ち合わせ

出席者：化学物質情報部 神沼二真

開催場所、時期：フィリピン中毒情報センター、WHO 西太平洋事務局、1996年3月11日

参加者内訳、人数：Dr. Maramba, Hartigan-Go (以上フィリピン中毒情報センター)、Hann, Tamplin (以上 WHO 西太平洋事務局)

会議内容：化学物質情報部では、本省の支援を受けて IOMC (拡大 IPCS) 事業として認知された GINC (化学物質安全性に関する地球規模の情報ネットワーク) を先導してきたが、昨年より、アジア地域におけるネットワーク化に協力している。今回のマニラ訪問では、まずフィリピンの中毒情報センターを訪問し、つぎに WHO 西太平洋事務局 (WPRO) を訪問し、GINC および GINC アジアプロジェクトを理解してもらうよう務めた。この結果、WPRO としては (これまでのように) クアラルンプールの環境健康センターではなくタンプリン氏が直接、化学物質の安全性や GINC アジアを担当することになった。また WPRO ではすでにインターネットが設備されており、実習室もあることから、アジア地域においてインターネットや GINC の研修場所として適当であるとの印象をもった。

会議名：IPCS 国際化学物質安全性カード (ICSC) 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)、1996年3月23日～3月31日

参加者内訳、人数：EU 各国、米国、カナダ、日本、IPCS、IARC の担当者、ILO、EC 委員会、ILO 等約 20 名

会議内容：会議は BIBRA International で行われた。全体で約 80 物質について IPCS の国際化学物質安全性カード (ICSC) の原案検討を行った。今年度は 1990 年および 1991 年に作成されたカードの更新を行っている。日本はアクリル酸 2-エチルヘキシル、2-エチルヘキサノール、酢酸イソブチルなど 16 物質について更新作業を行った。

会議名：ヨーロッパにおける医薬品等に含まれる化学物質の安全性評価に関する情報ネットワーク状況および各試験研究機関の役割・機能についての調査

出席者：化学物質情報部 中田琴子
総務部 藤井厚美
上沼陽子

開催場所、時期：ケンブリッジ (英国)、イスプラ (イタリア)、フローレンス (イタリア) 1996年3月31日～4月6日

参加者内訳、人数：ケンブリッジ 4 人、イスプラ 8 人、フローレンス 1 人、衛試 3 人

会議内容：英国ケンブリッジでは英国医学研究協会 (MRC) のタンパク工学センターおよびサンガーセンター、またイタリアのイスプラでは欧州連合・欧州化学物質事務局 (EU-ECB)、フローレンスではフローレンス大学動物生物学・遺伝学を見学し、ヨーロッパにおける医薬品等に含まれる化学物質の安全性評価に関する情報ネットワーク状況および各試験研究機関の役割・機能についての調査を行った。また各々が開発している特徴あるデータベースや解析システムを相互に紹介しあった。インターネットを通じて衛試のデータベースシステムや種々の化学物質の安全性評価に関するデータベースの統合検索等を紹介し好評を得た。

会議名：IPCS リスクアセスメントガイドライン策定会議

出席者：安全性生物試験研究センター 黒川雄二

開催場所、時期：WHO 本部、ジュネーブ、1995年6月12日～15日

参加者内訳、人数：IPCS 加盟国専門家、約 30 名

会議内容：リスクアセスメントは多様な対象化学物質の毒性等に関して必要なものであり、その国際的に統一したガイドラインの策定が望まれている。今回は 3 回目の会議であり、特に発がん性、変異原性、生殖発生毒性のリスクアセスメントガイドラインについて検討した。今後、神経毒性、免疫毒性に関して作業を進めることとなった。

会議名：① ICH 専門家準備会合および② ICH-3

出席者：安全性生物試験研究センター 黒川雄二

開催場所，時期：①シェラトンホテル，シアトル，1995年
6月28日～7月8日，②パシフィコ，横
浜，11月27日～12月2日

参加者内訳，人数：安全性分野専門家，①約50名，②約
2000名

会議内容：雄授精能に関するEWGは，Seg.1試験の代わりに精巣毒性を評価することで試験期間の短縮を図ることが決定されたが，その実際の期間および毒性評価指標を明確に示す目的で開始されたものである。①の会議で，日本での協同研究の結果から，4週の投与後の精巣の病理組織学的検索が最も感度の高い方法であることを発表しStep 2となった。②の会議でその結果が正式に認められStep 4に至った。同時にこの結果は生殖毒性ガイドライン(S5A)に組み入れられた。しかしこの結果をM3(非臨床試験と臨床試験のタイミング)に反映させる点では未だに合意が得られていない。

会議名：11th OECD Hazard Assessment Advisory Body (HAAB)

出席者：安全性生物試験研究センター 黒川雄二

開催場所，時期：OECD本部，パリ，1995年12月5日～
6日

参加者内訳，人数：16ヶ国代表のHAABメンバー，EU
など3団体代表者およびOECD関係
者など約30名

会議内容：本会議はOECD化学品プログラムの全般にわたってその進捗状況や今後の方針を検討する目的で，約10ヶ月に一度開催されている。今回は，①IPCSとの協力体制のあり方，②環境および健康影響アセスメントのための試験法開発，③国際的協力事業(高生産量化学物質点検，農薬リスクアセスメント)④リスクアセスメントのハーモナイゼーション⑤情報交換などについて討議した。毒性に関するテストガイドラインでは，現在発がん性，遺伝毒性，生殖発生毒性についてのものが改訂中であり，神経毒性，免疫毒性についてのものが検討中である。

会議名：National Toxicology Program (NTP) Workshop on Validation and Regulatory Acceptance of Alternative Toxicological Test Methods

出席者：安全性生物試験研究センター 黒川雄二

開催場所，時期：マリOTTホテル，アーリントン(米国)，
1995年12月11日～12日

参加者内訳，人数：米国内15カ所の官庁，附属研究所および米国内・海外の政府・民間・大学研究機関研究者など約100名

会議内容：1993年のNIH Revitalization Actにより従来の毒性一般に関する研究に加えて，新たに2つの指令が米国政府よりだされた。すなわち，(1)代替法のためのvalidationおよび規制当局によるacceptanceの規準の確立，(2)validationされた代替法を規制当局が使用するための手順の提示，である。この目的のためにNIEHSをリード機関として米国内官庁および研究機関のスタッフによるICCVAM (Interagency Coordination Committee on the Validation of Alternative Methods) が94年に設立され今回その最初のドラフトが完成し広く意見を求めるためのワークショップが開かれた。会議は，全体会議に続いて，validationの規準作成，規制当局のacceptanceの方法，今後の方針・手順の3つのグループに分かれて行われ最終的に各々からのrecommendationがなされた。米国官庁間でも未だに意見がまちまちで統一見解が出ておらず時間がかかりそうである。一方EUでの同様な団体であるEC-CVAMでのまとまりはよく積極的に代替法を推進している。最終的には国際的ハーモナイゼーションを確立するためにOECDの場を借りてそのガイダンスとして採択される動きがあり，96年1月にはこの問題に関する最初のOECDのワークショップが開かれる。

会議名：ICH (International Conference on Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use)

分科会名：Preclinical Testing of Biotechnologically Derived Pharmaceuticals 医薬品規制ハーモナイゼーションの推進に関する国際共同研究事業

分科会名：バイオ医薬品の前臨床試験

専門家会議：Expert Working Group (EWG-S6)

出席者：毒性部 井上 達

開催場所，時期：①シアトル(米国)，1995年6月28日～
7月8日，②ロンドン(英国)，1995年
10月14日～20日，③シェラトン・タイ
ソン・ホテル(米国ヴァージニア州)，
1996年4月30日～5月1日

参加者内訳，人数：Guiseppe Vicari (EU)，Richard Lee (EU)，Jorgen Carstensen (EFPIA)，Wolfgang Neumann (EFPIA)，Tohru Inoue (MHW)，Eiji Maki (JPMA)，Muitsufumi Kawai (JPMA)，James Green (PhRMA)，Joy A. Cavagnaro (FDA)，他，3～6名。(計12～15名)

会議内容：バイオ医薬品の安全性試験は，ICH共通ガイドラインの作製が時期尚早との判断によりこれを作製しないことが決まり(ICH-1)，これについてはケース・バイ・ケースで処理することなどを中心に，考え方の調整が進め

られてきた。しかしこの領域の開発の進展と相まって各国の状況が区々になり、これを整理してプリンシプルという形で、共通の考え方を示す必要性が生じた (Brussels: Oct./94)。これを ICH-3 横浜会議 (Nov./95) にむけて準備することが決まり (Brussels: Oct./94)。ついで、バイオ医薬品の安全性試験に関する各国の現状と確認とそれぞれで行われている試験の問題点についての意見交換が進んだ (Washington: Mar./95)。これに基づいて寄せられた意見をレポーターの Cavagnaro 女史が Step 1 Draft 1 (June/95) としてまとめ、これをシアトルにて協議 (Seattle: Jun./95)、この段階での意見交換を行った。ついで 95 年 10 月には、Step 1 への意見を集め、さらに受容体アッセイ系やトランスジェニックマウス利用などの諸点を含む新たな加筆が行われた (London: Oct./95)。これは ICH-3 横浜会議にてプレ Step 2 となり、運営委員会よりこの段階で各界の意見を収集することが許可された。今回のヴァージニア州における討議は、そうした各局のコメントを集め、より誤解のない内容で成文化することを目的として行われ、基本目標を終えて、Draft 9 が成立した。

会議名: OECD 主催の亜急性・慢性毒性に関する検討会議 (OECD Consultation Meeting on Subchronic and Chronic Toxicity Testing)

出席者: 病理部 高橋道人
毒性部 長谷川隆一

開催場所, 時期: Istituto Superiore di Sanita (Rome, Italy), 平成 7 年 11 月 2 日~3 日

参加者内訳, 人数: OECD 事務局 1 名, 日本 3 名, 米国 2 名, イギリス 1 名, イタリア 4 名, オランダ 2 名, カナダ 1 名, スペイン 1 名, デンマーク 1 名, ドイツ 2 名, フランス 1 名, 合計 19 名

会議内容: 平成 7 年 7 月にゲッシ類の 28 日間経口投与毒性試験法の改訂案が承認され、それに伴い、亜慢性、慢性毒性試験法およびがん原性試験法の改訂について討議した。ゲッシ類の亜慢性経口投与毒性試験法 (408) では試験名を Repeated Dose 90-day Oral Toxicity と改める。また、回復試験を必須項目とはせず、回復試験を行う場合でも期間は特定しない。尿検査は必須項目としないで、選択項目とする。非ゲッシ類の亜慢性経口投与毒性試験法 (409) でも改正点はゲッシ類とほぼ同一であるが、尿検査については必要項目とする。がん原性試験法 (451) では最高投与量は現行では飼料中 5% となっているが、食品成分および食品添加物を除いて、28 あるいは 90 日試験と同様に 1000 mg/kg BW/day 相当量 (ラット 2%, マウス 0.8%) とする。慢性毒性試験法 (452) でも最高投与量は現行では飼料中 5% となっているが、食品成分を除いて 1000 mg/

kg BW/day 相当量とする。なお、投与期間の 12 ヶ月以上は据え置かれたが、日本の農薬のガイドラインが現在でも 2 年間で要求していることに関して Harmonization の必要性が指摘された。慢性毒性ならびにがん原性併合試験法 (453) では最高投与量を上記の試験法 (451, 452) と同様に 1000 mg/kg BW/day 相当量とされた。

会議名: ICH-M3 専門家会議

出席者: 安全性生物試験研究センター

黒川雄二 (①, ②, ④) に参画)

薬理部 大野泰雄 (③) に参画)

開催場所, 時期: ①シアトル (米国), 1995 年 6 月 29 日~30 日, ②横浜 (日本), 1995 年 11 月 29 日~12 月 1 日, ③ウプサラ (スウェーデン), 1996 年 3 月 31 日~4 月 6 日, ④バージニア (米国) 1996 年 4 月 29 日~5 月 2 日

参加者内訳, 人数: それぞれ約 6 ヶ国, 約 15 人

会議内容: ICH では医薬品の承認審査に関わる諸問題について、品質、安全性、有効性の 3 つのグループに分かれて、ハーモナイゼーションが図られてきた。ICH-M3 ではそれらの境界領域に関わる問題「臨床試験との関係において非臨床安全性試験の実施のタイミング」についての検討を担当している。本課題については衛試では黒川安全生物試験研究センター長、大野薬理部長が担当してきた。本専門家会議ではガイドラインを作成する目的や背景、全体に関わる原則、安全性薬理試験、薬物動態試験、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、局所毒性試験、遺伝毒性試験、発癌性試験、生殖毒性試験、その他の試験について臨床試験の段階に応じて行うべき試験の内容について議論し、まとめてきたが、平成 8 年 5 月現在で合意されていない大きな事項としては、ヒトに初めて投与する前に行うべき反復投与毒性試験の期間と妊娠可能な女性に投与する前に行うべき生殖毒性試験の範囲がある。

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: ローマ市 (イタリア), FAO 本部, 1994 年 9 月 19 日~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)

もしくは無作用量 (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) はアバクチン (0~0.0002), アゾサイクロチン (0~0.007), クロルフエンビンホス (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), テフルベンズロン (0~0.01), トルクロルホスメチル (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: COLIPA 会議

出席者: 薬理部 大野泰雄

開催場所, 時期: ブラッセル (ベルギー), Brussels Europa Hotel, 1995 年 11 月 29 日~30 日

参加者内訳, 人数: 講演者 8 ヶ国, 36 人, 参加者は約 100 人

会議内容: ヨーロッパ化粧品工業会 (COLIPA) 主催によるシンポジウムに招待を受け、参加した。本会議には化粧品工業会の者のみならず、各国の行政担当者や動物愛護団体の代表も招待されていた。また、EU の担当大臣も出席し、動物実験代替法開発の推進について熱弁を振るった。

本会議は 1998 年に予定されている化粧品の安全性試験において動物の使用の全廃に向けて、今までの代替法の開発研究の結果どこまで可能であるか検討する事が大きな課題としたものであり、各種試験法に関するポスターやシンポジウムが行われた。それらのうち、ヨーロッパにおける代替法研究の中心となっている ECVAM (European Centre for the Validation of Alternative Methods) の Ball 博士は化粧品の皮膚吸収、光毒性、皮膚刺激性、皮膚腐食性、および遺伝毒性試験に関しては、動物を用いない方法への転換が 2 年以内に可能であろうとの見通しを示した。しかし、今までにヨーロッパで行われた眼刺激性試験代替法のバリデーション結果は満足できるものでは無く、それに関してさらにはバリデーションを行い、検討する必要があるとの意見であった。なお、我が国で行われた眼刺激性試験代替法のバリデーションの結果では、細胞毒性試験がかなり動物を用いた試験結果に近い結果を与えるという、中間的な解析結果を紹介した。

会議名: OECD 会議 (Environmental Health and Safety Division 主催)

出席者: 薬理部 大野泰雄
毒性部 井上 達

開催場所, 時期: KEMI (Swedish National Chemicals Inspectorate) ソルナ市 (スウェーデン), 1996 年 1 月 22 日~24 日

参加者内訳, 人数: 10 ヶ国 8 機関, 約 52 人

会議内容: 本会議は「毒性試験代替法のバリデーションと代替法を受け入れるための基準をハーモナイゼーションするためのワークショップ」であり、我が国からは厚生省生活衛生局生活化学安全対策室の安田技官、国立衛生試験所の井上毒性部長、大野薬理部長、食薬センターの小野所長、および化学品検査協会の大塚主幹研究員が出席した。会議は 1) 新しい毒性試験法のバリデーションと受け入れにおける原則と基準、2) バリデーションの具体的側面、および 3) 化学物質や化学製品を評価する際のストラテジーの 3 つのグループに分かれて検討され、それぞれ、小野、井上、大野が分担して参画した。第 3 グループでは主に皮膚刺激/腐食性試験、光毒性試験、眼刺激性試験について代替法を組み込んだ評価ストラテジーについて検討し、試案を作成した。なお、それぞれの試験に組み込まれた代替法については、まだ、十分にバリデートされたものは無いとの認識であり、今後、作成された基準にしたがって評価される必要がある。

会議名: OECD (経済協力開発機構) 主催の GLP 原則改訂のための第 1 回専門家会合

出席者: 病理部 三森国敏

開催場所, 時期: リューベック (ドイツ), 1995 年 11 月 13 日~16 日

参加者内訳, 人数: OECD 加盟各国より 74 名

会議内容: 現在の OECD GLP は、米国 FDA や我国の厚生省のそれよりも規制内容は詳細ではないことから、今回の改定案では、内容は限りなく FDA および厚生省の GLP に近づく方向性でまとめられていることが明確にされた。厚生省 GLP と異なる点は以下の通りである。

1. 試験に用いた被験物質のすべては保管する。
2. 高頻度に繰り返して実施される短期試験については、同一の形式の試験計画書や最終報告書を用いても良い。
3. 試薬の有効使用期限について、再分析をして安定性が保証された場合は有効期限を延長しても良い。
4. 分析化学や代謝試験を GLP 適用とする。

上述の異なる点も含めて、加盟各国から種々のコメントが出され、改正案の修正文書が作成された。この他、解決すべき問題点として、用語の定義の追加、GLP 準拠の声明文、小規模試験施設の GLP 準拠の可能性、試験計画書の承認 (SD, QA, TFM の署名の順序)、QAU の役割拡大の必要性、副試験責任者の指名の必要性、コンピュータについてのより詳細な説明等を GLP に含めるべきか否かについての討議もなされ、これらは、今回の会議において

継続して審議されることとなった。

会議名：FAO/WHOの第45回合同食品添加物専門家委員会 (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), 1995年6月6日～6月15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：アバメクチン, ドラメクチン, フェバンテル, フェンペンダゾール, オックスフェンダゾール, モキシデクチン, セフチオフル・ナトリウム, クロロテトラサイクリン, テトラサイクリン, ディクラリズルの毒性と残留データに関する評価に基づき一日許容摂取量 (ADI) の設定と最大残留基準値 (MRL) 案の勧告がなされた。さらに, CF-1マウスにおけるアベルメクチン類の神経毒性が取り上げられ, これらの物質に対する感受性はCF-1マウスにおいて著しく高いが, ヒトの一部の人種においても同様のことが起こる可能性が推測され, JECFAはヒトへの感受性の増加を考慮してADI算定にさらに安全係数2を乗ずる措置をとった。また, JECFAは既に残留動物薬品の安全性評価において毒性学および微生物学的ADIの両者を考慮した上での薬物のADIを算出している。しかし, 微生物学的ADIの算定式について見直しを行ったところ, その算出根拠に種々の問題点があることが明らかとなった。これらのことから, ADIの上限値を決定する新しい算定式が考案された。その他, JECFAは動物薬などが環境を経由してヒトに曝露される可能性について, どのように安全性評価やMRLの設定法を変更すべきかについての問題点の提起がなされた。

会議名：Technical Reports Review Subcommittee Meeting on NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies

出席者：病理部 西川秋佳
高田幸一

開催場所、時期：NIEHS (米国), 1995年12月5日

参加者内訳、人数：米国内の研究所等からの試験実施関係者20名を含め, 討議参加者約60名

会議内容：6つの癌原性試験の成績に関し討議した。①食品用噴霧剤 Tetrafluoroethylene を吸入曝露した結果, ラットおよびマウスともに clear ながん原性を認めた。②下剤等に使用される Phenolphthalein を混餌投与した結果, 雄ラットと雌雄のマウスで clear ながん原性を, 雌ラットで some evidence を得た。③洗剤等に含まれる Sodium Xylenesulfonate を皮膚塗布した結果, がん原性はなかった。④化粧品等に使用される D&C Yellow No.11 を混餌

投与した結果, ラットで some evidence を得た。⑤ロケット燃料等に用いられる Nitromethane を吸入曝露した結果, 雌ラットと雌雄マウスで clear evidence を得た。⑥合金腐食防止剤の Molybdenum Trioxide を吸入曝露した結果, 雌ラットではがん原性を認めなかったが, 雄ラットで equivocal evidence, マウスで some evidence を得た。

会議名：第6回 OECD ナショナル・コーディネーター会議

出席者：病理部 高橋道人

開催場所、時期：パリ (フランス), 1995年12月4日～5日

参加者内訳、人数：各国の代表者, 約30名

会議内容：毎年1回行われる OECD 毒性試験ガイドラインの改訂作業の会議である。今回討議されたのは, 水中における光化学的分解性, TG 305:生物内蓄積の改訂, 殺虫用生物に対する問題点と回答, 経皮吸収に関する試験ガイドライン, 神経毒性試験 (オタワでのワーキンググループ報告), 生殖毒性試験 (コペンハーゲンでのワーキンググループ報告), 遺伝毒性試験 (SMARTについて), 動物愛護の問題である。また, HAABのメンバー (黒川センター長が出席) を交えての討議も行われ, 困難物質の試験と評価, 水棲動物への影響の試験とその考え方, 水棲動物に対する毒性データの統計解析, 陸棲動物 (鳥類を含む) への影響試験とその考え方, リスク/有害影響のアセスメントで用いられる用語のハーモナイゼーション (OECD/IPCS プロジェクト), 試験ガイドラインの成果報告 (特異的健康有害影響の問題) などが話し合われた。今後, どのように作業を進めるかが話し合われ, 各試験ガイドラインに多くの人が登録しており経済効率が悪いので, 各国で整備するよう求められた。

会議名：1996年トキシコロジーフォーラム・ヨーロッパ年會

出席者：病理部 高橋道人

開催場所、時期：オックスフォード (英国), 1996年3月25日～28日

参加者内訳、人数：EUの産官学およびFDAの研究者, 約100名

会議内容：現在, 行政的に問題となっているようなテーマについて発表がなされ討議された。今回参加したのは, 食品添加物として認められているパラフィン類の安全性が取り上げられたが, 長期試験のデータがなく, 安全性評価ができないことから, 病理部で実施した発がん性試験の結果に注目され, 招待講演を依頼されたものである。結果としては明らかな発がん性を認めなかった。そのほか, 新規食品 (遺伝子組み替え植物) の安全性評価, 食物アレルギー

食品、取りすぎによるビタミン RDA (推奨一日認容量)、食肉からの病原性大腸菌、食肉内に残留する耐性腸内細菌 (バンコマイシン耐性) のリスク、食品用リサイクル容器 (PET ボトルなど) の安全性確保等が議論されたほか、狂牛病問題、環境化学物質のエストロゲン作用、食品添加物のポジティブリストの有用性、香料化学物質の評価、複合化学物質の評価などが報告された。

会議名：ICH 専門家会議 (安全性分野：遺伝毒性：S2B)

出席者：変異遺伝部 祖父尼俊雄 (①②③)

能美健彦 (③)

本間正充 (③)

開催場所、時期：①ブルッセル (ベルギー)、1995 年 7 月 15 日～22 日、②ワシントン (米国)、1995 年 10 月 23 日～30 日、③ヴィクトリア (カナダ) 1996 年 3 月 23 日～27 日

参加者内訳、人数：日米欧 3 極の行政および製薬業界の遺伝毒性分野の代表者 8～12 名

会議内容：S2B では遺伝毒性試験の標準的な試験の組合せについて論議を行っている。日米欧で共通しているのは、細菌を用いる復帰変異試験およびげっ歯類を用いる細胞遺伝学的試験 (染色体異常または小核) の 2 種の試験が必要である点にある。本邦ではこれに哺乳類培養細胞による染色体異常試験を加えた 3 種とし、米国ではマウスリンフォーマ試験 (MLA) を加えた 3 種とし、欧州では哺乳類培養細胞による染色体異常試験と遺伝子突然変異試験を加えた 4 種としている。

専門家会議での論議の過程で、欧州行政サイドから、これまで 4 試験をセットで行ってきたが、最近の調査では哺乳類培養細胞による遺伝子突然変異試験には付加価値がほとんどなく、本邦の 3 試験のセットを支持するとの意見が多かったとの報告があった。このことから 3 極はいずれも 3 試験とすることで一致した。つまり、細菌を用いる復帰変異試験とげっ歯類を用いる細胞遺伝学的試験 (染色体異常あるいは小核) の 2 つを組み入れることでは異論はなく、残りの 1 つを哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験とするか MLA とするかが論議の対象となった。

本邦で行われた MLA 共同研究の成果を基に検討したところ、両試験は遺伝毒性物質の検出においてほぼ同等と見なし得ると結論された。ただし、MLA では検出できない染色体異常誘発物質が 20% 程度あったが、これらについては 24 時間の連続処理を行うことによって概ね検出できることが判明した。そのため、通常の 3～4 時間処理による結果が陰性の場合には、24 時間の連続処理を行うべきであることを提案した。尚、24 時間連続処理の妥当性についてはさらに欧米業界側で検討をすることとなった。

1996 年 3 月の専門家会議の直前に FDA は新たに posi-

tion paper を提出し、3 試験では必ずしもカバーできない場合について詳細に記載すべきであるという提案がなされた。しかし、3 試験では不十分でありその他の試験が必要であるとの考え方があまりにも強調されたため、この点を中心に論議が行われた。その結果、FDA の基本も 3 試験にあり、あくまでも 3 試験でカバーできない場合を明示することにあることが明らかになった。この点を明確に示すための作業が行われ、かなり大きな内容の変更を行って、Draft 6 が作成された。4 月末にワシントンで行われる専門家会議でさらに検討を行って、Step-2 への合意を目指すこととした。

会議名：遺伝毒性影響のヒトモニタリング手法の進展に関する調査

出席者：変異遺伝部 祖父尼俊雄

開催場所、時期：プラハ (チェコ) およびマンチェスター (イギリス)、1995 年 8 月 19 日～9 月 6 日

主要日程：(i) 1995 年 8 月 20 日～28 日、Dr. R. J. Sram (Laboratory of Genetic Ecotoxicology, Institute of Experimental Medicine, Academy of Science of Czech Republic) を訪問し、チェイノブル事故に関する研究を含めた東欧における環境影響のヒト集団へのモニタリングの現状について意見交換をした。(ii) 1995 年 8 月 30 日～31 日、Dr. J. Ashby (Central Toxicology Laboratory, ZENECA) を訪問し、欧州におけるヒトモニタリング手法の現状と環境生態系への影響をモニタリングするための新しい手法について意見交換を行った。(iii) 1995 年 9 月 1 日～4 日、Dr. D. Kirkland (Molecular Toxicology Laboratory, CORNING Hazleton) を訪問し、ヒト集団における染色体異常を検出する Fluorescent In Situ Hybridization (FISH) 手法の新たな展開について意見交換を行った。

調査内容：欧州において行われている放射線や環境化学物質のヒト集団への遺伝的影響のモニタリングについて、最近の新しい手法を適用した研究の現状を調査した。(i) ヒト集団における環境汚染の影響については、それに暴露されたレベルを推定する必要がある。そのために血液や尿における DNA 付加体、ヘモグロビンあるいはアルブミン付加体の測定が重要な情報を提供する。遺伝的影響としては染色体異常あるいは小核、*hprt* をマーカーとした遺伝子突然変異が主要となるが、前者では染色体ペインティング法がより客観的なデータを提供する。特に、FISH によるヒト精子における異数性の検出法はヒト集団における生殖細胞レベルでの影響を検討するものとして注目される。いずれの臓器にも適用でき、しかも 1 個の細胞での DNA 鎖切断が検出できるいわゆるコメットアッセイは遺伝的影響の初期損傷を検出する手法として期待される。(ii) 染色

体ペインティング法によるヒト一般集団における自然誘発染色体異常の出現頻度は年齢に依存して増加し、特に50歳以上から安定型異常頻度が明らかに高い人が増加する傾向がある。また、喫煙の影響がこれに付加しており、環境変異原への被曝集団での調査ではこの2つの因子を十分に配慮する必要がある。環境生態系への影響をモニタリングするための新しい手法として、*Polychaeta* (多毛類) の1種を用いた染色体異常の検出系の確立が試みられており、代謝活性化を必要とする変異原においても染色体異常の誘発が認められ、これに関与する代謝酵素の存在が考えられている。(iii) FISHによる染色体異常の検出に関しては、特定染色体のDNAプローブを用いた染色体ペインティング法で1, 2, 3番染色体を3つの異なる蛍光色素(赤, 緑, 黄)で同時に識別する方法により効率的な染色体異常の検出が行われている。さらに、セントロメア特異的DNAプローブを染色体ペインティングと同時併用することにより多動原体染色体の識別が行われている。異数性を検出するために、特定染色体セントロメアにのみ特有なDNAプローブを用いて静止核において染色体の異数性を検出する試みが行われている。

会議名: 12th Scientific Group on Methodologies for the Safety Evaluation of Chemicals (SGOMSEC) "Susceptibility to Environmental Hazards"

出席者: 変異遺伝部 林 真

開催場所, 時期: Hanasaari Cultural Centre, Espoo, Finland, 1996年3月17日~3月22日

参加者内訳, 人数: エジプト, 米国, ロシア, ベルギー, 英国, スウェーデン, フィンランド, 日本, クロアチア, チェコ, イタリア, メキシコ, エストニアおよび中国よりSGOMSECの委員および委員以外の専門家40名が参加

会議内容: 今回の会議は、米国NIEHSのDr. C. BarrettとフィンランドFIOHのDr. H. Vainioが世話人をつとめ、"Susceptibility to Environmental Hazards"といった大きなタイトルの下に合宿で会議が行われた。講演は1題のみで、会議のほとんどの時間がコンセンサスレポートを作成するためのグループ討議・作業に費やされた。作業グループは、I. ヒト集団における感受性に関して: a) Biological Markers of Exposure; b) Biological Markers of Effect; c) Biological Markers of Susceptibility, II. 感受性およびエコシステムのバイオマーカー, およびIII. 集団および個人における感受性に関する研究の道義的, 社会的, 法的問題により構成されていた。報告者はI b)のグループに参加し、生体影響の主として集団における感受性の検出系について討議し、コンセンサスレポートの作成

に携わった。各グループで作成された原案はグループ代表者会議において調整が図られ、全体会議において討議され、大筋での合意を得た。しかし、時間的制約もあり、細部に関しては後日送付されるドラフトに文書でコメントすることになる。ヒト個人または集団における感受性を検討するための方法論の解説をはじめ、発展途上国に対する配慮および人権問題にまでおよぶコンセンサスレポートが、本会議の記録として来年には印刷される予定である。

会議名: Drug Information Association (DIA) International Workshop on "Statistical Methodology in Non-Clinical & Toxicological Studies"

出席者: 変異遺伝部 林 真

開催場所, 時期: Hotel Holiday Inn Crowne Plaza, Bruges, Belgium, 1996年3月25日~3月27日

参加者内訳, 人数: デンマーク, ドイツ, フランス, オランダ, 米国, ベルギー, 英国, スウェーデン, フィンランド, 日本, クロアチア, およびイタリアより約130名の統計学者ならびに毒性学者が参加

会議内容: ドイツハノーバ大学のHothorn教授が主催した国際ワークショップで、予想を大幅に上回る参加者を得て、盛会であった。会議のトピックスは、1. 非臨床試験における一般則, 2. がん原性研究における統計学, 3. 変異原性研究における統計学, 4. トキシコキネティクスにおける統計学, 5. 統計的手法の適用および6. 作業部会報告であった。変異原性試験の関係では英国BIBRAのDr. Lovellが*in vitro*の試験系のデータ評価における統計学的アプローチを45分の講演でレビューし、米国FDAのDr. LinとドイツSolvay PharmaのDr. Neuhaeuserは微生物を用いる突然変異試験(Ames試験)の統計学的手法について発表を行った。報告者も、*in vivo*試験系のデータ評価における統計学的手法な考え方について45分の講演を行い、先年ドイツで開催されたワークショップの結論の紹介、ならびに小核試験結果の評価法に関する提案を行った。最近の動向として、ICHおよびOECDの修正ガイドライン案等で統計学的有意性より生物学的正当性が重視される傾向にあることに対して異議を唱える参加者が多く、統計学の真の有用性を周知させる必要性、および毒性と統計の専門家の共同作業の必要性が強調された。

会議名: OECDにおけるスクリーニング試験情報(SIDS)の暴露情報収集に関する国際会議

出席者: 総合評価研究室 中館正弘

開催場所, 時期: Dortmund (フランス), 1995年6月19日~20日

参加者内訳, 人数: 加盟 11 カ国, IPCS, IRPTC, CEC, BIAC, OECD 事務局等 31 名

会議内容: ドイツのドルトムントで開催された高生産量既存化学物質安全性点検計画において重要な位置を占める化学物質の暴露情報収集に関する会議に出席し, 必要となる暴露に関する情報の種類を整理し, これらの情報を如何にして収集するかの方策を議論し決定した。また, 国際的に暴露情報を収集するためには定型的なフォーマットが必要となるため, これを決定し, さらに進行中の化学物質のうち, 国際的に暴露情報を収集する必要がある 12 物質を選定してパイロットスタディを行うための枠組みを定めた。

会議名: 第 23 回 OECD 環境委員会および化学品グループの合同会議

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), 1995 年 6 月 20 日~23 日

参加者内訳, 人数: 加盟 18 カ国, IPCS, IRPTC, CEC 等 合計 165 名

会議内容: パリの OECD 本部で開催された第 23 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再登録, 試験法等の調和等に関する進捗状況の報告と 1995 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) の進捗状況が報告され承認された。

5. 化合物分類についての検討経過報告がなされ, 討議された。

6. 前回は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状況が報告され, 討議された。

会議名: 既存化学物質の安全性評価に関する IFCS (国際化学物質安全性フォーラム) 会議

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), 1995 年 10 月 23 日~24 日

参加者内訳, 人数: 10 カ国, IPCS, IRPTC, OECD, CEC 等 合計 28 名

会議内容: パリの OECD 本部で開催された標記会議に出席し, 討議を行った。

会議は, 国連環境開発会議の有害化学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の評価文書作成のための国際機関の連携のあり方について協議するために開催された。国連環境開発会議での目標である 1997 年までに新たに 200 物質, 2000 年までに 500 物質の安全性評価の達成および各国, 特に発展途上国や国際的な有害化学物質対策推進のニーズに応えるためには, 国際機関, 特に, IPCS および OECD の安全性評価活動の強化が必要となり, IPCS は Environmental Health Criteria (EHC), Health & Safety Guide, 新しい評価文書 CICAD を中心に, また, OECD は SIDS Initial Assessment Report (SIAR) をもとに評価文書の作成を行う枠組みが討議された。このような国際的な協力による安全性評価は重要であり, 今後も強力に推進し, その評価結果については世界中で利用できる方策を考えることで合意された。

会議名: 第 24 回 OECD 環境委員会および化学品グループの合同会議

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), 1996 年 2 月 7 日~9 日

参加者内訳, 人数: 加盟 19 カ国, IPCS, IRPTC, CEC 等 合計 148 名

会議内容: パリの OECD 本部で開催された第 24 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再登録, 試験法, 情報交換等の調和等に関する進捗状況の報告と 1996 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, 特に生物農薬の病原性, 感染性に関する試験法ガイドライン作成に着手することが承認された。

3. GLP の原則に関する改訂案が討議された。

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) の進捗状況が報告され承認された。

5. 化合物分類についての検討経過報告がなされ, 討議された。

6. 前回は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。

7. 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。

平成7年度業務概要

所長 寺尾 允 男

平成7年度は昨年示された厚生省試験研究機関の組織再編案に基づいた組織および業務の検討が厚生科学課を中心に進められている。衛生試験所も当所に直接関係のある、国立保健医療福祉研究所（仮称）に設置される研修センターおよび情報科学センターのあり方に関する討議に参加してきた。厚生省試験研究機関の再編は着実に動いている。平成7年度は衛生試験所の将来にとってきわめて重要な年であったといえる。

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研究、調査、および行政試験を行うことにある。

このような業務目的に基づき、平成7年度に行った研究の成果として発表した論文は本誌211～263ページにまとめてある。誌上発表した論文数は327編である。また、平成7年度に行った主要研究テーマは300～305ページにまとめてある。

情報化時代を迎え、平成7年度には所内コンピュータネットワークをほぼ完成し、所内各部からインターネットを通じて外部の機関との情報交換が可能となった。

国際共同研究

当所は多くの国際機関と連携し、国際共同研究を進めている。以下に主な研究を示した。

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）
3. IFCS（国際化学物質安全盛フォーラム）
4. ICH（日米欧医薬品承認審査ハーモナイゼーション国際会議）
5. エンドトキシン WHO 標準品と各国標準品の力価比較試験
6. 中国天津医薬品検査所技術プログラム

国際交流

国際交流としては、厚生省に関係する技術行政関連の国際会議への専門家の参加および外国人研修生の受け入れが主である。

本年度は海外派遣は延べ124名であったが、内訳は留学7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63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10名のほか、延べ44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ICH14名、IPCS9名、IFCS3名、OECD10名、CODEX（食品規格計画）3名、JMP（農薬合同会議）1名、JECFA（食品添加物評価会議）1名、INN（WHO国際一般名）1名、ISQA（国際品質確保会議）1名およびDRSP（医薬品規格支援プログラム）1名が含まれる。

外国人研究員、留学生の受け入れは24名であった。

関連集会

7月12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5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16～17日、秋田県衛生科学研究所・森田盛大所長を年会長として秋田県総合保健センターで開催された。情報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研究発表のほか、それぞれの分野で自由集會がもたれた。

人事異動

平成7年度における部長以上の人事異動は次の通りである。

平成8年3月1日付けで武田 寧大阪支所長が退任し、小川義之生物試験部部長が昇任した。なお、小川支所長は引き続き生物試験部長を併任する。

また、平成8年3月1日付けで豊田正武食品部第3室長が食品部長に昇任した。

総 務 部

部長 清 水 義 勝

1. 定 員

平成6年度末の定員は266名であったが、平成7年度は、遺伝子治療薬の試験体制の強化に伴う生物薬品部の定員として1名（6カ月）増員、第8次定員削減計画に基づき研究職1名、ならびに行政職(二)2名 計3名の定員削減により、平成7年度末の定員は、指定職2名、行政職(一)43名、行政職(二)19名、研究職200名、計264名となった。

2. 予 算

平成7年度の子算の概要は次のとおりである。

(1) 一般子算

予算額は、3,765,704千円で前年度に比較して3.13%の増額が図られた。

増額、減額の主な項目としては、

- ① 増員に伴う経費の増 3,361 千円
- ② 研究費の増 (研究員当積算庁費単価アップに伴う増) 1,755 千円
- ③ 標準品製造費の増 (2 品目追加に伴う増 4,350 千円, 3 品目委譲に伴う減 Δ 1,865 千円額, その他の増 22 千円) 2,507 千円
- ④ 施設管理事務経費の増 (庁舎管理費に係るペア UP 分および自動車運転手業務委託 1 名増に伴う増 7,658 千円, 自動車交換差金 2 台の増 3,400 千円, 5 試験場庁舎等警備委託新規増 2,324 千円) 13,382 千円
- ⑤ がん克服新 10 年戦略経費の減 Δ 58,544 千円
- ⑥ 受託研究費の増 31,525 千円
- ⑦ 研究情報ネットワークシステム整備費の増 (新規) 42,310 千円
- ⑧ 培養生物資源保存管理基盤整備費の増 (新規) 30,668 千円
- ⑨ 血清等製造及び検定費の増 (3 品目追加に伴う増) 7,771 千円
- ⑩ 施設整備費の増 13,458 千円

等が挙げられる。

(2) 移替予算

予算額は、165,735 千円で前年度に比較して 4.27% 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 5 課題 (照射冷凍食品等の検知法に関する研究 10,824 千円, アシアロ糖タンパク質受容体の消長を指標とした肝疾患の診断法の確立 10,481 千円, γ 線照射により誘起される食品包装材料の化学的および物理的変動と食品との相互作用に関する研究 10,983 千円, 新しい標識化合物を活用した乳癌の診断法の探索とその治療法に関する基礎的研究 8,577 千円, γ 線照射による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性の制御に関する研究 8,295 千円) 国立機関公害防止等試験研究費において 1 課題 (人を取り巻く生活環境におけるダイオキシン等およびその前駆物質の潜在的リスクアセスメント 16,622 千円) が認められた。

なお、平成 7 年度事項別予算額は別紙のとおりである。

3. 施設整備状況

平成 7 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 筑波試験場環境制御実験棟屋根等防水工事 (施設整備費 10,300 千円)
- ② 北海道試験場第一温室灌水設備設置他 4 件 (施設整備費 35,637 千円)
- ③ 伊豆試験場第一温室灌水設備設置他 5 件 (施設整備費 24,724 千円)

- ③ 和歌山試験場温室灌水設備設置他 2 件 (施設整備費 15,207 千円)
- ④ 種子島試験場温室灌水設備設置他 2 件 (施設整備費 19,247 千円)
- ⑤ 大阪支所本館梁補強工事 (各所修繕費 (特別修繕) 4,893 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「生合成ヒト二相性イソフェンインスリン水性懸濁注射液」「生合成ヒトイソフェンインスリン水性懸濁注射液」「生合成ヒト結晶性イソフェンインスリン水性懸濁注射液」の 3 品目が追加された。

この結果、当所の試験に係る国家検定品目は、5 品目から 8 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「下垂体性性腺刺激ホルモン標準品」ならびに「センノシド標準品」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 100 品目、色素試験用標準品 38 品目、計 138 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 10 年度の特定期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。

| 別表 | 平成7年度予算額 | | | | 備 考 |
|-----------------------|--------------|--------------|---------------------------|--|---|
| | 平成6年度 (A) | 平成7年度 (B) | 対前年度差 引増△減額 (B)-(A) | | |
| | (千円) | (千円) | (千円) | | |
| (組織)厚生本省試験研究機関 | 3,651,467 | 3,765,704 | 114,237 | | |
| (項)厚生本省試験研究所 | 3,449,093 | 3,542,101 | 93,006 | | |
| 国立衛生試験所に必要な経費 | 3,449,093 | 3,542,101 | 93,006 | | |
| 既定定員に伴う経費 | 2,251,678 | 2,281,659 | 29,961 | | |
| 人件費 | 2,251,678 | 2,281,659 | 29,961 | | |
| 増員要求に伴う経費 | 0 | 3,361 | 3,361 | | |
| 人件費 | 0 | 2,606 | 2,606 | | |
| 人当経費 | 0 | 52 | 52 | | |
| 研究費 | 0 | 703 | 703 | | |
| 経常事務費 | 300,158 | 300,959 | 801 | | |
| 人当経費 | 7,675 | 7,612 | △ 63 | | |
| 一般事務経費 | 46,178 | 45,825 | △ 353 | | |
| 研究費 | 237,669 | 239,424 | 1,755 | | |
| 官庁会計事務データ通信システムに必要な経費 | 8,636 | 8,096 | △ 538 | | |
| 特別研究費 | 16,364 | 16,396 | 32 | | 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 (9,130千円) 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 (7,266千円) |
| 標準品製造費 | 45,736 | 48,243 | 2,507 | | |
| 安全性生物試験研究センター運営費 | 204,448 | 204,507 | 59 | | |
| 薬用植物栽培試験場運営費 | 103,598 | 103,423 | △ 175 | | |
| 情報活動運営費 | 42,196 | 42,237 | 41 | | |
| 施設管理事務経費 | 69,964 | 82,880 | 12,916 | | |
| 対ガン新10カ年総合戦略経費 | 58,544 | 0 | △ 58,544 | | |
| 受託研究費 | 135,929 | 167,454 | 31,525 | | 1. バイオテクノロジー応用医薬品の評価技術の開発 (7,000千円) 2. 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 (12,500千円) 3. 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 (27,700千円) 4. 糖鎖関与疾患の発症機構の解明 (3,000千円) 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 (15,000千円) 6. 遺伝子治療用ベクターの開発と評価技術の確立 (5,250千円) 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 (13,870千円) 8. 高機能を有する医用材料の創製・改良・修飾・及び周辺技術に関する研究 (8,000千円) 9. 医用材料と生体の相互作用の総合化技術の開発 (4,000千円) 10. 薬用植物の科学的研究 (13,850千円) 11. 免疫系による生体防御機構の解明と新規生体調節物質の開発 (26,000千円) 12. 神経系の機能・病態の解析と医療への応用 (14,000千円) |

| 事 項 | 平成6年度 | 平成7年度 | 対前年度差 引増△減額 (B)-(A) | 備 考 |
|---|-----------|-----------|---------------------------|---|
| | (A) | (B) | | |
| | (千円) | (千円) | (千円) | |
| | | | | 13. レセプターなどの細胞膜を介した生体調節機構の解明と医療への応用 (14,000千円) |
| | | | | 14. 代謝調節機構に及ぼす環境要因の解析 (2,060千円) |
| | | | | 15. 医療用具の滅菌保証の評価の基礎に関する研究 (1,224千円) |
| 乱用薬物基礎研究費 | 19,023 | 19,067 | 44 | 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 (19,067千円) |
| 総合化学物質安全性研究費 | 99,277 | 99,365 | 88 | 1. 安全性点検体制支援システム経費 (70,657千円) 2. 安全性試験法開発等研究費 (28,708千円) |
| 移 転 調 査 検 討 費 | 2,673 | 2,673 | 0 | |
| 共 同 利 用 型 高 額 研 究 機 器 整 備 費 | 99,505 | 99,505 | 0 | |
| 研 究 情 報 ネットワーク システム 整 備 費 | 0 | 42,310 | 42,310 | |
| 培 養 生 物 資 源 保 存 管 理 基 盤 整 備 費 | 0 | 30,668 | 30,668 | |
| (項)血清等製造及び検定費 | 109,514 | 117,285 | 7,771 | |
| 医 薬 品 の 国 家 検 定 お よ び 検 査 等 に 必 要 な 経 費 | 109,514 | 117,285 | 7,771 | |
| 一 般 事 務 経 費 | 12,896 | 12,907 | 11 | |
| 事 業 費 | 96,618 | 104,378 | 7,760 | |
| (項)厚生本省試験研究所施設費 | 92,860 | 106,318 | 13,458 | 1. 筑波試験場環境制御実験棟屋根等防水工事 (10,418千円) |
| 国立衛生試験所施設整備経費 | 92,860 | 106,318 | 13,458 | 2. 北海道試験場第一温室灌水設備設置他4件 (36,045千円) 3. 伊豆試験場第一温室灌水設備設置他5件 (25,007千円) 4. 和歌山試験場温室灌水設備設置他2件 (15,381千円) 5. 種子島試験場温室灌水設備設置他2件 (19,467千円) |
| (移替予算) | | | | |
| (組織)厚生本省試験研究機関 | 158,823 | 165,735 | 6,781 | |
| (項)国立機関原子力試験研究費 | 93,350 | 108,328 | 14,978 | |
| (項)国立機関公害防止等試験研究費 | 65,473 | 57,407 | △ 8,066 | |
| 計 | 3,810,421 | 3,931,439 | 121,018 | |

* 予算額については両年度とも当初予算額

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7年度も、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・研究を実施したが、厚生省試験研究機関の組織再編が進められている中で、

薬品部の業務も見直す時期に来ていると思われる。

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生体内の諸因子を解明して、インビボの結果とよく相関するインビトロの試験系や動物を用いた試験系を確立するための研究、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、毛髪や尿の分析による薬物使用の鑑定法の研究、ならびに毛髪への薬物の移行に関与する因子に関する研究などを行った。

長期の海外出張では、伊豆津技官は、HS財団の外国への日本人研究者派遣事業により、平成7年9月15日～平成8年3月14日まで、米国コロラド大学薬学部留学し、カーペンター教授の下でタンパク質含有医薬品の安定性評価法および安定化に関する研究を行った。なお、同技官は、同教授の招請により、引き続いて平成9年秋まで、同大学において研究を続ける予定となっている。

また、短期の海外出張については、次のとおりである。

小嶋部長は、ICH3準備会合ならびに日米欧三薬局方会議に出席するため、ベルギーおよびフランスに出張した(平成7年7月15日～24日)。

青柳室長は、大韓薬学会の第44年会(平成7年10月27～28日)において招待講演を行うため、韓国に出張した。

吉岡室長は、米国化学会主催の製剤設計とドラッグデリバリーに関する会議(平成7年10月10日～13日)において研究発表を行うため、米国に出張した。また、阿曾幸男主任研究官は、生理活性物質の放出制御に関する国際シンポジウム(平成7年7月30日～8月4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、国際厚生事業団の不正/不良医薬品対策事業に係る海外調査団の一員として、タイおよびベトナムに出張し、現地の状況を調査するとともに、両国の行政当局や試験機関の関係者と意見交換を行った(平成7年8月27日～9月9日)。

中原室長は、法中毒学における毛髪分析に関する国際会議(平成7年11月19～23日)において招待講演を行うため、アラブ首長国連邦に出張した。

業務成績

1. 特別審査試験

新薬49件、かぜ薬等1件の合わせて50件について試験した。

2. 一斉取締試験

ピンドロール徐放錠および徐放カプセル8件、ならびにニトログリセリンを含有する外用の血管拡張剤7件について試験を行った。

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32件、輸入あへん84件、合計116件)。

4. 標準品の製造

GC-MS分析用として、次の4種の重水素化体の標準品を製造した：

フェンシクリジン-d5 (5g)、メチレンジオキシアンフェタミン-d3 (5g)、メチレンジオキシメタンフェタミン-d3 (5g)、リゼルギン酸ジエチルアミド-d10 (1g)。

5. 国際協力

国際厚生事業団の第6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。

国際協力事業団の中国天津医薬品検査技術協力プロジェクトの第3年度(平成7年度)の研修員として平成7年6月26日に来日した天津市薬品検査所の唐素芳薬師は、国立衛生試験所(薬品部)における6ヵ月間の医薬品安定性に関する研修を終えて、平成7年12月24日帰国した。

青柳室長は、同プロジェクトの短期派遣専門家として、平成7年6月1日～7月31日まで同薬品検査所に出張し、バイオアベイラビリティに関する現地指導に当たった。また、石橋室長は、同プロジェクトの第2回中日薬品分析セミナーの講師として、平成7年11月5日～12日まで同薬品検査所に出張し、不正医薬品の鑑別試験法について講演を行うとともに、中国の医薬品分析の関係者と意見交換を行った。

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

カルシウム拮抗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)。

キャピラリー電気泳動を用いた生薬配合感冒薬中の有効成分の分析法を確立した。

熱帯病治療薬の開発のため、抗マラリア作用を有する物質の検索を行った。また、抗マラリア薬および駆虫薬の規格基準の作成、ならびにこの規格基準に基づいた製剤の品

質試験を行った(厚生科学研究費補助金)。

薬事法指定検査機関精度管理要項(案)ならびに試験検査実施に関する管理運営の規準(案)を作成した(薬務局監視指導課委託研究費)。

平成7年度は、駆虫薬について、薄層クロマトグラフ法を用いた不正医薬品の鑑別試験法を開発した(国際厚生事業団技術移転振興対策事業費)。

2. 日本薬局方の規格および試験方法に関する研究

日本薬局方の中で用いる試薬・試液の名称を、IUPACの化合物命名法に準拠した名称に改めるための検討を行った。この名称の変更は、急いで行くと混乱を起こすおそれがあるので、第十三改正〔試薬・試液の中だけの変更〕と第十四改正〔日本薬局方全体にわたる変更〕の2段階で実行されることになっている(厚生科学研究費補助金)。

第十三改正日本薬局方において新たに赤外吸収スペクトルによる確認試験(参照スペクトル法)が採用された82の各条品目について、赤外吸収スペクトルを測定し、参照スペクトルを作成した。

「液体クロマトグラフ法」ならびに「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」を有害試薬である水銀を用いないクリーンな試験法に改めるため、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。これらの改正案は、日本薬局方調査会一般試験法委員会において審議の結果、第十三改正日本薬局方に収載された。

日本薬局方において用いられる計量単位を国際単位系(SI単位系)に基づくものに改めるための検討を行った。第十三改正においては、この検討の結果に基づいて、SI単位系への全面的移行が行われた。

3. 医薬品の有効性、安全性に関する薬剤学的研究

水に浸漬したときの湿潤強度が異なる2種のアセトアミノフェン徐放顆粒を調製し、これを試料に用いて、徐放性顆粒からの薬物の放出に及ぼすヒト消化管内の機械的破壊力の影響について検討した。その結果、消化管内の破壊力は食事によって増大し、空腹時の投与では消化管内で壊れない顆粒が、食後の投与では破壊され、放出速度が増大することを明らかにした(HS財団受託研究費)。

4. 医薬品の物理・化学的安定性に関する研究

マトリキシング法によって推定される医薬品製剤の有効期間の特徴をシミュレーションを行って明らかにするとともに、包装および処方間の変動について有意差検定を行った場合の検出力と有意水準との関係を明らかにした(HS財団国際共同研究費)。

凍結乾燥製剤中のタンパク質分子の運動性が、スピンスピン緩和時間を指標として測定できることを、牛血清アルブミンおよび γ -グロブリンをモデルとして明らかにし

た。また、その測定結果から、タンパク質の変性速度が分子の運動性と強く関連していることが示唆された(創薬科学総合研究費)。

乳酸脱水素酵素を凍結乾燥する際に、ショ糖などの糖類とポリエチレングリコールなどの両親媒性物質とを組み合わせることで、構成成分の結晶化が抑制されて、安定性が著しく増大することが明らかとなった。

ポリビニルアルコール、ゼラチン誘導体などの高分子から調製したハイドロゲルについて、ゲル中での水分子の拡散速度をNMRスピネコー法によって測定できることを明らかにした(HS財団受託研究費)。

γ 線を照射したポリ乳酸マイクロスフェアは、低照射量では二相性の薬物放出パターンを示すが、高照射量では一相性のパターンを示すことが分かった。また、 γ 線の照射量を調節することによって、初期の薬物放出速度を制御できることが明らかとなった(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

トリアゾラムを投与したラットから得られた毛髪を試料に用い、毛髪中のトリアゾラムとその主代謝物の定量法を確立した。また、この定量法を用いて、トリアゾラムを服用したヒトの頭髪から親化合物や主代謝物を検出し、診断に役立てることができた(厚生科学研究費補助金)。

32種の覚せい剤系薬物の毛髪への取り込みに及ぼす化学構造因子の影響について検討した結果、毛髪への取り込みにプラスに働く構造因子は、①窒素の炭素側鎖の長さ、②ベンゼン環やフラン環などの芳香環、③芳香環上のメチレンジオキシ基やメトキシ基などであり、マイナスに働く構造因子は、①フェノール性およびアルコール性の水酸基、②シアノ基、③窒素-アシル結合などであることを明らかにした。

バルビツール酸系向精神薬など8種の薬物について、呈色反応ならびにTLC、GC、HPLCおよびGC-MSにより分析し、それらの測定結果に基づいて、分析マニュアルを作成した(薬務局麻薬課委託研究費)。

覚せい剤による急性中毒の診断に役立てるため、動物に中毒量の覚せい剤を投与して、その尿、血液、毛髪中の覚せい剤およびその代謝物を定量し、中毒状態における薬物動態について検討した。

生物薬品部

部長 早川 堯 夫

概要

遺伝子治療に関連して、臨床研究の開始、拡大、治療薬の実用化など大きな動きが始まった。さらに新たな課題として細胞治療薬の実用化も視野におさめる必要が生じてき

た。10数年前のバイオ医薬品登場時点にみられたような事態の進展と広がり大きさが予感される。遺伝子治療薬、細胞治療薬いずれも、遺伝子操作、細胞操作、細胞培養といったバイオ医薬品の場合にも必須であった基本的要素を基礎にさらに複雑に、緻密かつ高度に組み上げて得られる医薬品である。したがってまずは、この10数年間のバイオ医薬品の特性・品質・安全性評価に関連して培い蓄積してきたコンセプトやデータを貴重な礎として、これらをいかに多面的、多重的に組み合わせ活用するかが事態への当面の対応策の鍵となると考えられる。しかし同時に、新局面への本格的対応を早急に開始する必要にも迫られている。これには先端科学に関する能力と社会科学的発想の融合が必要であろう。バイオ医薬品の品質確保に関する国際調和も順調に進んだ。その中でわが国の生物薬品評価の中核的な立場として仮に得た「名」が、「実」を伴うものであるための努力の継続とさらなる飛躍が今後の課題である。生命科学研究が医薬品に直結する、そうした時代が求める研究内容は、高度化と多様化という、一つの研究機能が同時に果たすには容易ではない、相異なるベクトルをもつものである。しかしそうであっても、将来への展望を切り拓き、前に進むためには、相異なるベクトルを両立、共存させる在り方を模索するしかないのかも知れない。質の高い基礎研究の遂行能力を含めた研究機能の構築と研究活動の一層の充実をどのように図っていくのか、課題は少なくない。

平成8年度の主な研究業務としては、生物薬品の特性・品質評価技術の開発に関する研究、医薬品の有効性・安全性に関する生物化学的研究、生体内活性物質の作用機序と細胞機能に関する研究、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、診断用医薬品の評価技術および関連基礎研究、などを行った。

人事面では、平成8年4月1日付けで渡部明子さんが採用され第三室に配置された。山本雅幸氏が平成8年4月1日付けでHS財団流動研究員として新たに派遣された。協力研究員として韓国国立保健院生物工学科長の閔 洪基 (Min Hongki) 氏を平成7年11月1日～平成8年1月31日の間受け入れた。国際協力事業団の天津医薬品検査技術協力プロジェクト中期研修生として天津市薬品検査所生化学室主任の李海生氏を平成7年5月より、同所主管薬師の黄 哲蘇氏を平成8年2月よりそれぞれ約3カ月受け入れた。

短期海外出張は以下の通りであった。早川部長：ICH-3に向けてのバイオ医薬品の品質分野の専門家準備会合および生物薬品のウイルス安全性とウイルスクリアランスの評価に関する国際科学会議出席 (米国、平成7年6月11日～6月21日)、ICH-3に向けてのバイオ医薬品の品質分野の専門家準備会合出席 (フランス、平成7年9月8日～9

月16日)；山口室長：ICH-3に向けてのバイオ医薬品の品質分野の専門家準備会合および生物薬品のウイルス安全性とウイルスクリアランスの評価に関する国際科学会議出席 (米国、平成7年6月11日～6月21日)；川西室長、ICH-3に向けてのバイオ医薬品の品質分野の専門家準備会合出席 (フランス、平成7年9月8日～9月16日)。

業務成績

1. 特別審査試験

新薬14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)、治験薬GMP、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)、厚生省HIV遺伝子治療研究作業部会/文部省遺伝子治療臨床研究 (HIV) 審査ワーキンググループ (厚生科学課/文部省研究助成課)、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) 合成基質を用いたトロンピン定量法を市販製剤に適用し、従来の日局定量法に代わりうる、簡便で信頼性の高い活性測定法であることを明らかにした。

ii) シアル酸含量の異なる組換え型ヒトエリスロポエチン (r-hEPO) を用いて、生物活性とシアル酸含量の関係について検討したところ、至適シアル酸含量は、12.1～12.4 mol/mol EPO 付近であることがわかった。シアル酸含量の低い分画では、 $\alpha 2,6$ -sialyltransferase により最大1.2 mol/mol のシアル酸の導入と生物活性の上昇が認められた (HS財団受託研究費)。

iii) r-hEPO 製剤の糖鎖部分の品質評価法の確立を目的として、8-aminonaphthalene-1,3,6-trisulphonic acid (ANTS) 標識糖鎖の蛍光体支援糖質電気泳動法 (FACE法) および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3種のEPOの糖鎖のパターンを解析し、FACE法はシアロ糖鎖とアシアロ糖鎖を同時に、HPAEC法はシアロ糖鎖について解析でき、いずれの方法もEPO糖鎖の分子多様性を解析する方法として有用であることがわかった (HS財団受託研究費)。

iv) 昨年度樹立したM-CSFレセプター高発現細胞株を用い、高発現細胞の増殖、細胞死、分化に対するM-CSFの影響および高発現細胞の特性を解析したところ、M-CSFは高発現細胞の増殖、分化をわずかに促進する傾向があること、高発現細胞は親株細胞に比べてTPAによ

る分化に強い感受性を示すことが明らかとなった (HS 財団受託研究費)。

v) 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、トロンボモジュリンを取り上げ共通の力価測定法の設定に関する基礎的検討を行った。その結果、2つの測定法の候補が適用可能であること確認した (HS 財団受託研究費)。

2. 医薬品の有効性と安全性に関する生物化学的研究

i) 血栓溶解剤による血小板活性化や血管再閉塞には、本剤により生成したプラスミンが関与しているが、このプラスミンの血小板膜上の作用部位は、トロンビンレセプターとは異なるプラスミン特異的なレセプターであることを明らかにした (HS 財団受託研究費)。

ii) 創薬研究の基盤技術として細胞内生化学現象の画像化法の開発を行い、初代培養肝細胞における細胞内貯蔵部位からのカルシウムイオンの遊離、心室筋細胞内で生じるカルシウムスパーク現象、血管壁組織中の血管内皮細胞内カルシウムイオンの画像化に成功した (HS 財団創薬科学総合研究事業)。

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) G タンパク質への作用を介してカルシウムイオン濃度上昇へ影響する物質の検索法を考案した (環境庁公害予算)。

ii) 初代培養肝細胞において、各種刺激で生じるカルシウムウェーブの空間的パターンとカルシウムイオン動態に関係する細胞内小器官、各種機能タンパク質等の細胞内局在との関係を明らかにした (文部省科学研究費)。

iii) ヒト赤白血病細胞 K562 株を用いて赤芽球分化過程におけるヘモグロビン合成調節機構および鉄動態について解析し、トランスフェリン鉄がヘム合成を調節していること、またヘムは、トランスフェリン受容体発現量を減少させることを介して Hb 合成を抑制することが示された (厚生科学研究費補助金)。

iv) 病態時における生理活性ペプチドの変動に関する研究として、病態ラットの心臓、腸、および神経におけるサブスタンス P の分布と変動を検討した。

v) 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研究の一環として、カリクリン A による活性酸素生成の阻害および阻害からの回復に伴い、リン酸化の状態が変化する 67 kDa リン酸化タンパク質の存在を明らかにした。

vi) ホルモン剤の作用発現に関与する諸因子に関する研究の一環として、ハービマイシン A を用いた検討により、初代培養ラット肝細胞におけるグルココルチコイド受容体の消長にチロシンキナーゼが関与することを明らかにした。

vii) 食細胞の活性酸素産生系の調節因子の解明と機能分化に関わる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に対する G-CSF の促進作用について解析を行い、G-CSF 添加により活性酸素産生系の細胞質因子 p67 の発現が亢進することを見いだした (HS 財団受託研究費)。

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) フォトニクス技術を用いて、神経細胞死に関わるとされる細胞内カルシウムイオン、pH を培養海馬ニューロンにおいて高分解能画像化し、虚血類似状態における変化を検討した (HS 財団受託研究費)。

5. 診断用医薬品に関する基礎的研究

i) 精巣診断薬に関する研究として、赤血球からの鉄遊離の挙動とトランスフェリンおよびフェリチンとの相互作用を検討した。

ii) 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として、HGFmRNA のプローブの標識化を検討した。

iii) アシアロ糖タンパク質受容体の消長を指標とした肝疾患の診断法の開発とその応用に関する研究として、ラット肝臓よりアシアロ糖タンパク質受容体の分離を検討した (国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁)。

生 薬 部

部 長 佐 竹 元 吉

概 要

昨年度に引き続き、主として生薬の規格・試験法の基礎研究および生薬成分、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。13 改正薬局方に生薬の定量法が充実し、その測定用としても有用な国立衛生試験所グリチルリチン酸と塩酸ベルベリンの標準品が規格化された。生薬の生体応答の研究および立体異性体の理化学的および生物学的評価方法の研究を開始した。科学技術庁振興調整費によるエイズに関する治療薬の開発の基礎的な研究は、その成果を上げて終了した。中国で臨床使用されている生薬に関して薬理的検討を行ったところ、その使用の妥当性が証明された。病態動物の心筋細胞が異常な活動電位持続時間の延長を示したので、そのイオン機序を解析した。

国際的交流としてはブラジル湿潤熱帯研究センター、天津医薬品検査技術プロジェクトおよびフィリピン厚生省伝統薬局への技術援助を行った。

海外出張は JICA 天津医薬品検査技術プロジェクトの専門家として佐竹元吉部長が平成 7 年 10 月 26 日から 11 月 6 日および川原信夫研究員が平成 7 年 11 月 15 日から 11 月 30 日まで中国へ、関田節子主任研究官は、フィリピン

厚生省伝統薬局と JICA 共催による科学フォーラム「生薬の規格と品質管理」の招待講演のため平成 8 年 3 月 3 日から 3 月 12 日までマニラ市、グバオ市に出張した。川原信夫研究員はカナダのアルバータ大学での 1 年間の研究協力を終えて平成 7 年 10 月 6 日に帰国した。鈴木英世室長は平成 8 年 4 月 21 日から 27 日まで韓国保健省国立保健院との研究交流のため韓国に出張し、生薬分析に関する講演を行った。

筑波薬用植物栽培試験場主任研究官江崎勝司氏が平成 7 年 8 月 26 日から当部の併任となった。代田修氏を科学技術庁特別研究員として平成 6 年 9 月 1 日より、また、バンラデッシュの C. F. Hossain 氏をヒューマンサイエンス財団フェロー流動研究員として平成 6 年 3 月 29 日から、下村裕子氏を客員研究員として、ペルーから Dianna 氏を協力研究員として、引き続き受け入れた。ペルーの P. Bonilla Rivera 氏を科学技術庁流動研究員として、平成 8 年 1 月 15 日から平成 8 年 4 月 15 日まで受け入れた。

中国から天津医薬品検査技術プロジェクトで寿国香氏（平成 7 年 5 月 15 日から 9 か月間）、福建省中医学院の刑魯建氏（平成 7 年 4 月 1 日から 1 年間）、中国薬品生物製品検定所の肖新月氏（平成 7 年 9 月 9 日から 6 か月）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 3 件）について審査を行った。

2. 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

市場の日本薬局方生薬および製剤に関して、日本生薬連合会を中心に収集し、微生物限度値に関して調査を行った。

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

オウゴン、オウバク、オウレン、カンゾウ、センナなど 8 生薬について、HPLC 法による定量法を確立した。

国立衛生試験所標準品の製造で、支所薬品試験部と、センシドの規格設定を行った。

ii) 生薬の化学的品質評価の研究

生薬の純度試験で、従来クロロホルムなど有害試薬を用いるものがあるが、それらを用いないクリーンアナリシスを検討し、アカメガシワ、オウゴンなど 4 生薬の試験法を確立した。

iii) 生薬製剤の評価技術に関する研究

生薬の立体異性体成分の分析および肉芽組織形成に対する作用を検討してきた。分析的研究ではサイコサポニン (a, c, d) の精製法と測定法を確立した。

紫根に含まれる光学異性体成分であるシコニンおよびアルカニンの局所投与での肉芽組織形成促進時の肉芽組織中の生化学的変化を比較検討した。

2. 植物資源の医薬的利用に関する研究

i) 有用な薬理活性をもつ新たな植物の探索とその利用
生殖内分泌系に作用する天然薬物の研究として、piri-piri, mikuri の各抽出エキスがエストロゲン存在下に強い LH 基礎分泌抑制作用を示すことを明らかにすると同時に、両植物ならびに ukiyagara の各抽出エキスが FSH の基礎分泌にかかわるエストロゲンの中枢へのフィードバック調節の過程に作用することを示唆した (HS 受託研究)。

ペルー産植物生薬 *Palo de sangre* の成分検索を行い、新規天然 Diels-Alder 型付加体 5 種を単離し、構造を決定した。また、*Hericampi* の CH_2Cl_2 エキスより 2 種のキサントン系化合物を単離し、構造を決定した (HS 受託研究, 科技庁)。

中草薬である草珊瑚 *Sarcandra glabra* の成分検索を行い、新規 quinolinone 配糖体等 3 種の化合物を単離し、構造を決定した。

Lespedeza bicolor, *Dalbergia cochichinensis* の成分検索を続行し、 5α -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成分として新規化合物を含む 14 種のフラボン化合物の構造解析を行った (HS 受託研究)。

ii) 繁用生薬の成分検索とその生物活性の研究

唐当帰の子宮平滑筋収縮抑制作用の活性成分の分離を行い、新規フタライドグイマー 1 種の構造を決定した。昨年度分離した活性成分 6 種とともに活性の強度を比較したところ、いずれも非特異的なパルペリン作用でフタライドモノマーの 10~30 倍の活性を示すことが明らかになった。

生薬の滋養強壮作用を評価する方法として、精子形成障害モデルを確立し、テストステロンを指標に同方法により伝統的な強壯薬 10 種について検討した結果、6 種に精子形成促進作用を認めた (以上 HS 受託研究)。

高コレステロール食を与えることにより、血清コレステロールの上昇が観察されたマウスに、七物降下湯を経口投与したところ、高コレステロール血症抑制および治療作用が認められた (厚生科学研究・長寿)。

中国において、炎症の治療に用いられている処方構成生薬の栝楼実の 50% エタノールエキスの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および酢酸誘発 writhing に及ぼす作用を検討した。栝楼実およびこれに含まれる種子のエキスの経口投与で比較的強い抗炎症作用が認められた。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、また、鎮痛作用も認められた。さらに、これらの薬理作用発現の

活性成分は種子に存在することが示唆された。

iii) 菌類生薬の活性成分検索と化学的分類に関する研究
植物病原菌に拮抗する真菌類の化学的研究：カナダの重要な木材資源であるアスペンに寄生する植物病原菌（青変菌）に拮抗する菌類のスクリーニングより得られた真菌 *Lecytophora hoffmannii* の抗真菌活性成分検索を行い、活性本体として lecytophorin と命名した新規化合物を単離、構造決定した。

微生物代謝産物の研究：5系統の *Cromoclestista malachitea* より得た EtOAc エキスについて HIV-Protease 活性阻害を確認した。大量培養された *Cromoclestista malachitea* のジクロロメタンエキスの成分精製を行い2種の化合物を単離し、その構造を明らかにするとともに、HIV-Protease 活性阻害を確認した（科技厅エイズ研究）。

中国産紫色馬勃 *Calvatia cyathiformis* の乾燥子実体 CH_2Cl_2 エキスより2種の新規ステロイド calvatiasterol A, B を単離し、構造を決定した。calvatiasterol B と前年度に構造決定した cyathisterol は RBL-2H3 細胞からの β -hexosaminidase 放出抑制（脱顆粒抑制）活性および DNP₇-BSA 刺激に伴う LTC₄ の遊離を完全に抑制した（厚生科学研究・長寿）。

iv) 生薬資源の薬理学および電気生理学的研究
心筋症ハムスターの心室筋細胞が刺激頻度に応じて異常な活動電位延長を起こすことを見出し、関与するイオン電流をパッチクランプ法を用いて解析した（HS 受託研究）。ウサギおよびモルモットの心筋ペースメーカー細胞（洞房結節細胞）の自発活動電位波形に対するエンドセリン受容体サブタイプ刺激の効果を解析し、それに関与する各イオン電流を解析した。エンドセリン受容体脱感作に著しい種差を発見し、受容体アミノ酸配列を決定し、原因を解析した（以上 HS 創薬研究，文部省科学研究費補助金）。

v) 漢方製剤の薬学的研究
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鉤藤鈎の腎臓血流に対する作用を麻酔下のラットを用いて検討した。両者は腎臓血流に対して顕著な作用を示さなかった。

vi) 生薬の薬物動態学的研究
マウ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および腎血流に与える影響を検討した。肝血流量に対しては、いずれも影響を及ぼさなかったが、腎血流量に対しては、ラセミ体において一過性の血流量の低下が認められた。

vii) 生薬資源の保存と保護に関する研究
ウコン、カノコソウ、サフラン、ホソバオケラ、ムラサキの5品目を収載した薬用植物栽培・品質評価指針 Part 4 を作成、出版した（厚生科学研究・品質評価）。

薬用生物資源の保存と保護を目的に局方、局外生薬規格

収載生薬の国内自生地の視認調査を行った。また、植物病原菌に拮抗作用を示す真菌 *Trichoderma* spp. の適正な保存条件を検討することを目的に代謝産物の検討を行い、菌株間の相違を TLC, HPLC により明らかにした（厚生科学研究・健康地球環境）。

viii) 生薬類の DNA 鑑定に関する研究

大麻のゲノム DNA を抽出し、RAPD 分析および RFLP 分析への適用を検討した（厚生科学研究・特別）。

3. 天然有害物質の化学的研究

i) マイコトキシンの検索・分離・同定・構造決定および生物活性の検討

生薬の微生物汚染について滅菌法による成分変動とマイコトキシン生産菌への影響を検討した（科技厅・原子力）。

療 品 部

部 長 中 村 晃 忠

概 要

科学技術庁フェローとして当部に勤務していた Russell B. Poe 博士（米国）は、1年間の研究生活を無事終了して、1995年7月末に帰国した。1996年4月1日付けて、中岡竜介君が採用された。

業務成績

1. 家庭用品関係

試験計画に従って、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：2-mercaptomethylbenzimidazole, 2,5-di-tert-butyl-hydroquinone, N,N'-dimethylphenyl-p-phenylenediamine

細胞毒性試験：6-ethoxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline, poly-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline, 2,5-di-tert-amyl-hydroquinone, 2-hydroxy-4-isopropyl-2,4,6-cycloheptatriene-1-one

2. 標準化と国際調和

i) 医療用具関係国際標準化機構委員会への参加：ISO/TC194「医療用具の生物学的評価」(Stockholm, 1996.4, 中村)；ISO/TC198「ヘルスケア製品の滅菌」(東京, 1995.10, 新谷)；ISO/TC198/WG4「バイオリジカル・インジケータ」(Delft, 1996.3, 新谷)。

ii) 医療用具関係 ISO 国内委員会への参加：次の TC 国内委員会に委員として参加している：TC194「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」；TC210「ヘルスケア製品に関する一般事項」。

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」：日本の法律や施行規則，ガイドラインなどの構成をEU型のISO基準および米国型のISO基準と比較し，調和の方向性を探った。

iv) その他：第12改正薬局方・一般試験法「輸液用プラスチック容器試験法」を改めて，第13改正薬局方に一般情報「プラスチック製医薬品容器」と一般試験法「プラスチック製医薬品容器試験法」を導入する作業を分担した。動物試験を削除し細胞毒性試験を導入するなど，大幅な改訂であった；JIS T9010「ゴム製品の衛生試験法」の改訂原案「ゴム製品の生物学的安全性に関わる試験方法」の作成を完了した。当部が中心となって作業したものである。平成8年度中に正式決定される予定である。

研究業績

1. ポリウレタンの生体内変化に関する研究

中断（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

トラップ・アンド・ページ法を用いたGC/MSによって，各種の透析膜材料をガンマ線照射した時に発生する揮発性物質を同定した。これらの断片を解析することで材料のポリマーを推定できることが分かった（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

「植物の生体防御蛋白質がラテックスと植物性食品との交差抗原である」という仮説をたてて，ゴム手袋およびアンモニア・ラテックス中の分析を行った結果，リゾチム，キチナーゼ， β -1,3-グルカナーゼ，エステラーゼの活性を検出した。これらは植物生体防御に関係するものであり，仮説は妥当であると考えられる（厚生科学研究費補助金）。

4. 歯科用レジン等の安全性に関する研究

血液中の微量メチルメタクリレート（モノマー）を定量する方法を検討した。0.01 ppmレベルでも十分に定量可能な方法を開発した。この方法は骨セメントを使った人工関節挿入時のアナフィラキシーにモノマーが寄与しているかどうかを調べるために有用である（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

平成7年6月に正式に通知された「医療用具の生物試験ガイドライン」における細胞毒性試験の陰性および陽性標準対照材料を確立し，品質保証と頒布体制を整えた（人当研究費，民生科学協会研究所および食品薬品安全センターと協同）。

6. 金属材料による遅延型アレルギーに関する研究

昨年に引き続いて，金属材料の感作性リスクを評価した。チタン/ジルコニウム合金が長期間の体内埋植において，組織適合性の面でも非感作性面でも優れていることを明らか

にした。また，ピアスなどの装飾品からのニッケル溶出性の簡易検出法を追試し，その有用性を確かめた（厚生科学研究費補助金）。

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

すでに，各種ポリウレタン，シリコンなどの長期皮下埋植によるmalignant fibrous histiocytoma (MFH)の発現率が，それらの材料上での細胞間連絡協同阻害活性（換言すれば，プロモーション活性）と相関することを明らかにしてきたが，この関係はポリエチレンおよびコラーゲン表面修飾ポリエチレンでも成立することを示した。また，コラーゲン表面修飾によるプロモーション活性の低下が単に細胞接着性の向上によるものではないことを明らかにした（HS受託研究）。

8. 家庭用品による事故の原因究明に関する研究（家庭用品等試験検査費）

皮膚科医等との協同で以下の製品の原因物質を明らかにした（原因製品：原因化学物質）。

1) 自動車用芳香剤：イソパラフィン（溶剤），化学熱傷

2) 白色ブラウス（肩パッド）：ポリエステル樹脂（樹脂加工剤），刺激性接触皮膚炎

3) 幼児用半ズボン：ノニオン系界面活性剤，刺激性接触皮膚炎

4) 枕カバー：ナフトールAS，アレルギー性接触皮膚炎

5) ゴルフ革製手袋：黒色染料（構造不明），アレルギー性接触皮膚炎

6) 防さびスプレー：シリコンオイル，呼吸器系障害

9. 化学物質の感作性強度および交差感作性と化学構造に関する研究

我々が確立したプロトコルによるguinea pig maximization testで評価した種々の物質の感作性強度と化学構造の関係（構造・活性相関）を調べ，その関係は数種のパラメータで良く表現できることを明らかにした。この関係式の子測性を検証する予定である。また，チオ尿素構造を有する各種化学物質の感作性強度や交差感作性を調べるために，誘導体を合成した（家庭用品等試験検査費，毒性部と協同）。

10. 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と情報提供に関する研究

1) 接触アレルギー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ギー解説書に関して，家庭用品に関連する化学物質のうち，ゴム添加剤（老化防止剤，加硫促進剤）について，日本語版の改訂とともに，英文版を作成した。

2) 抗菌防臭加工剤の安全性に関するデータベース：抗

菌防臭加工製品についての市場調査の結果をもとに、データの更新を行った。

3) インターネットを利用して、家庭用品の安全性に関する情報の提供を行った。

11. 家庭用品に含まれる化学物質の安全性評価に関する研究

1) 防水スプレーによる急性中毒事故の防止に関する研究

防水スプレーにおいて、撥水剤としてフッ素樹脂以外にシリコン樹脂が使用される。そのため、シリコン樹脂を撥水剤として配合し、噴射粒子径、樹脂量を変化させた試作スプレーを作成した。それらの試作スプレーおよび1995年～1996年に購入した市販の防水スプレーについて、噴射粒子径(光学および空気力学的)、付着率を測定し、防水スプレーとしての安全性の評価を行う上での情報とした。

12. 医療用具の滅菌保証に関する研究

生物指標体作成に及ぼす種々の因子について検討している

13. 情報理論の応用に関する研究

医療機器(医用検体検査機器など)の出力の統計的信頼性の検証やヴァリデーションを行うための基礎として、一般的な分析機器の測定精度を予測するための理論の実験的証明を行った。この理論は既に我々が確立したもので、測定装置のベースライン揺らぎとシグナル強度から、繰り返し測定で得られる定量値の相対標準偏差を予測する。実験的証明は、液体クロマトグラフィ、キャピラリー電気泳動、蛍光分析に対して行った。

14. インプラント・データシステムの構築に関する研究

インプラント医療用具の長期成績を広くサーベイし、市販後調査に生かす体制の構築準備のために、内外の実態、試行、経験を調査した(厚生科学研究費補助金、東京女子医科大学、昭和大学、神戸海星病院と協同)。

環境衛生化学部

部長 安藤正典

概要

植岡伸光主任研究官は平成7年10月1日から厚生省大臣官房厚生科学課に併任官として赴任し、平成8年3月31日にて併任が終了した。

平成8年3月31日付で木嶋敬二第二室長が定年退官され、その後任に4月1日付で徳永裕司主任研究官が昇格した。

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り、各種空

気汚染物質の分析方法の検討ならびに存在状況の調査の研究がなされた。さらに、室内空気質の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薬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関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。さらにタール色素に関する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剤の評価などを初め、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

前年度に引き続き、東京都内3ヵ所(霞ヶ関、北の丸公園、新宿御苑)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、メタン、非メタン炭化水素および浮遊粒子状物質=SPM)、ホルムアルデヒド(霞ヶ関、北の丸)ならびに自動車交通量(霞ヶ関のみ)の常時測定を実施した(環境庁大気保全局自動車環境対策第二課)。

2) 分析法の開発

壁紙等から揮散する有機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

化粧品原料基準外原料規格(「粧外規」)の追補の作成ならびに医薬品等に使用することのできるタール色素に関する省令の改定に伴う検討を行った(厚生省薬務局審査課化粧品審査室)。

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に含まれる可能性のあるヒ素について、水道水中での形態、存在量、由来等を実態調査し、その安全性を検討した。また、水道中への混入の防止策や、極微量に存在するヒ素の除去方法を検討した。さらに、存在形態による毒性の相違について検討し、安全性向上の基礎資料を得た(生活衛生局水道整備課)。

2) 水質汚染事故に対応する監視体制に関する研究

突発性水道原水水質汚染の実態調査の資料収集とその対応マニュアルを検討し、水質汚染に対応した水質の安全性向上のための今後の基礎資料を得た。さらに、自動計測システムに関して、実際に稼働している化学物質分析測定装

置と生物を用いたセンサーの情報を収集し、これからのシステム構築のための検討を行った。

3) 水道データベース構築のため、データベースの内容についての検討を行った。

4) 水道水質の分析技術に対する精度管理に関して検討し、水質の安全性の向上のための資料とした。

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) 居住環境内における総揮発性有機化合物 (TVOC) とホルムアルデヒド (HCHO) 濃度の調査研究

地方および首都圏に建立している 31 棟余りの一般住宅を対象として、新築および改築別の TVOC と HCHO 濃度の実態調査を行い、ガイドライン設定のための基礎資料の蓄積を図った (厚生省生活衛生局企画課)。

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調査研究

東京都内の一般住宅を対象に、亜硝酸、二酸化硫黄、硝酸およびギ酸等の呼吸器疾患関連の酸性ガスの実態を年間を通して調査した。

3. 空気中の汚染物質の分析法に関する研究

1) 室内空気中の揮発性有機化合物 (VOC) の定量法の検討

sick building syndrome に関連して、Tenax-GR および加熱脱着装置を用いて VOC の定量法を検討した。

2) 室内空気中のトリス (クロロプロピル) ホスフェート (TCPP) の定量法の検討

捕集剤に Sep-Pak C18 カートリッジを、溶出溶媒にアセトンを用いて、室内空気中の TCPP の定量法を確立した (家庭用品等試験検査費)。

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に捕集剤としてポラパック N を用いた拡散型サンプラーを作成し、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) 拡散型サンプラーを用いた空気中のホルムアルデヒド濃度の測定法の検討

DPNH を含浸した市販のカートリッジが拡散型サンプラーとして実用性があるか否かについて、その基礎的検討を行った。

4) 拡散型検知管の開発

前年度開発した二酸化窒素の視覚的簡易サンプラーについて、妨害ガスの影響、保存期間、繰り返し精度を含めた評価試験を行い、実用性のあることが確認された。

4. 化粧品の品質試験法に関する研究

化粧品原料基準収載の原料の試験法のうち、四塩化炭素、ベンゼン、シアン化合物を用いない代替法について検討した (厚生科学研究補助金、東京都立衛生研究所、北里大学

理学部との共同研究)。

5. 化粧品の安全性評価ガイドラインに関する研究

化粧品原料の一種である界面活性剤の剥離皮膚への影響を防腐剤であるメチルパラベン、エチルパラベンおよびサリチル酸の皮膚透過量にて評価する方法を検討すると同時に非イオン性界面活性剤のポリエチレンオキサイド鎖の影響についても検討した (厚生科学研究補助金)。

6. 紫外線日射の波長依存性による生物作用とその防御に関する研究

紫外線の生体影響に関する基礎研究として、赤血球および三次元ヒト皮膚モデル細胞を用いて生体影響の生化学的指標の検索や紫外線吸収剤の評価に関する研究を行った (HS 財団受託研究費)。

7. 化粧品色素の安全性に関する研究

赤色 201 号中の付随色素が原因と考えられる皮膚傷害の原因物質の究明に関する研究を行った。

8. 水道水の安全性評価に関する研究

1) 人を取り巻く生活環境におけるダイオキシン等およびその前駆物質の潜在的リスクアセスメントに関する研究
ダイオキシン前駆化合物である 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether (Irgasan DP300) が、ラット肝ミクロゾームを用いた *in vitro* 系において誘導性 P450 分子種 (特に CYP2B サブファミリー) を強く阻害することを見出した。この阻害パターンは、塩素化ダイオキシン化合物とは異なっていた (国立機関公害防止等研究費、環境庁)。

2) 水道水源水域および利水過程における親水性利水障害物質の適正管理に関する研究

(a) ラット培養肝細胞を用いて、消毒副生成物であるクロロ酢酸類とブromo酢酸類の細胞毒性、ペルオキシソーム増殖作用およびシトクロム P 450 4A の誘導能を検討した。

(b) 種々のシトクロム P 450 誘導物質で処理したラット肝ミクロゾームを用いて、イソプロチオラン消毒副生成物であるクロロマロン酸ジイソプロピルによる脂質過酸化を検討した。その結果、シトクロム P 450 3A がクロロマロン酸ジイソプロピルの代謝活性化に関与していることが示唆された。

(c) イソプロチオラン消毒副生成物であるマロン酸ジイソプロピル、クロロマロン酸ジイソプロピルおよびジクロロマロン酸ジイソプロピルの変異原性をマウス・リンフォーマ試験により検討した。その結果、クロロマロン酸ジイソプロピルとジクロロマロン酸ジイソプロピルに変異原性を認めた (国立機関公害防止等研究費、環境庁)。

3) 発がん性物質による環境汚染と生体影響の定量的解析

ラット肝 P450 に及ぼすテトラクロロエチレンおよびトリクロロエチレンの影響について検討した。テトラクロロ

エチレンは CYP2B1 分子種 (誘導性) を, トリクロロエチレンは CYP2E1, CYP3A2 および CYP4A1 (常在性) 分子種を有意に誘導した. このことは, 同じ塩素化エチレン化合物でも塩素の数により変動させる P450 分子種は異なり, それぞれの毒性発現にこれら分子種が大きく関与している可能性を示唆している (厚生科学研究補助金, 厚生省).

9. 水質試験方法の開発に関する研究

1) 水道水・下水・排水のトリハロメタン生成能の測定法における妨害物質の影響を軽減する方法を検討した.

2) PFBOA 誘導体化法を用いて GC/MS によるアルデヒド類の一斉分析法の開発を行った.

3) 水道水に含まれる可能性のある化学物質として, 無機物ではアルミニウム, ホウ素, 銅, 硝酸性窒素, 亜硝酸性窒素, ウラン, ニッケル, 鉛などの測定法, 有機物では 1,1-ジクロロエタン, 1,1,1-トリクロロエタン, トリクロロエチレン, エピクロロヒドリン, スチレン, 多環芳香族炭化水素類などの一斉分析法, 農薬としてエチレンジブロマイド, 1,2-ジクロロプロパン, アトラジン, シマジン, プロパジン, オキサジアゾン, 1,3-ジクロロプロパン等の分析方法を検討した.

4) 水質汚濁性農薬 69 農薬の固相抽出による回収率, 標準液の安定性, 検量線, 測定限界等, 分析方法策定のための基礎資料を得た.

食 品 部

部長 豊田正武
前部長(副所長) 斎藤行生

概 要

平成7年度の食品衛生分野において特記すべき事は, 9月から年末にかけて, 国内外製造のミネラルウォーターの一部に異物様固形物を含有する製品が全国的に発見されたことであった. 行政と共同で直ちに異物混入の原因究明と衛生対策に関し他の省庁および機関も含めた広範な研究班が設置され, 当部は異物の鑑別法の確立および結晶性無機物質の生成条件の究明を担当することとなった.

通常業務としては, 例年通り, 食品中の有害成分の農薬, 合成抗菌剤, ホルモン剤, 環境汚染物質, 天然有害物等に関する研究を行い, また有用成分として, 抗アレルギー成分, 発癌抑制成分等の検索および生化学的追求をつづけている.

人事面では平成7年4月1日付けで斎藤行生部長は副所長に任命され, 食品部長事務取扱となった. 平成8年3月1日付けで豊田正武第三室長が食品部長に任命された. 斎藤行生部長は, FAO/WHO 合同食品規格委員会, 分析法

およびサンプリング法検討部会に出席のためハンガリーブタベストに出張 (平成7年10月2~6日) した. またタイ国食品衛生強化プロジェクト巡回指導調査のためタイ国に出張 (平成7年11月26日~12月2日) した. 豊田正武第三室長は, バイオ食品・食品添加物行政管理について講義および技術指導のため台湾に出張 (平成8年2月25日~3月2日) した. ついで, FAO/WHO 合同食品規格計画の第23回食品添加物・食品汚染物規格部会に出席のためフィリピンに出張 (平成8年3月17日~23日) した. 根本厚生技官は米国農務省天然資源研究所へ農薬分析技術の修得のため6ヶ月の予定で出張 (平成8年3月1日より) 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

ア) 残留農薬の簡易分析法の開発に関する研究

GC-MS による多成分分析, および超臨界流体抽出による分析の検討を行い, 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).

イ) 有機リン農薬の一斉分析法

有機リン農薬の残留, 加工による減衰について検討した (厚生省生活衛生局食品化学課).

ロ) 保存検体中の残留農薬調査

カプタホールおよびキャプタンの植物成分による分解の防止について検討した (厚生省生活衛生局食品化学課).

ハ) ジクロメジンおよびハルフェンプロックスの分析法

新規2種農薬について告示分析法を作成した (厚生省生活衛生局食品化学課).

ニ) 輸入農産物の分析法の評価に関する研究

機器分析による分析法のバリデーションについて検討した (厚生省生活衛生局食品保健課).

2) 雑豆中のシアン化合物

イ) 国内市販製あんについてシアン化合物の調査を行った (厚生省生活衛生局食品保健課).

3) 飲料水に関する研究

イ) ミネラルウォーターの衛生確保に関する研究

輸入ミネラルウォーターについて異物およびミネラル成分の検知を行った (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関する研究

イ) カルバドックス, スルファジミジンの試験法に関する研究

畜水産物中のカルバドックス, スルファジミジンの試験法を作成した (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の汚染実態調査研究

輸入, 国内産の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) 必須アミノ酸等による健康影響に関する研究

トリプトファン製剤中の2種不純物の生体内影響を *in*

vivo および *in vitro* で調べた（厚生省生活衛生局食品保健課）。

7) かび毒のオクラトキシン、フモニシンの食品汚染と暴露に関する研究

イ) 数種食品中のオクラトキシンの汚染実態を調査した（厚生省生活衛生局食品保健課）。

ロ) 数種食品中のフモニシンの汚染実態を調査した（ガン克服戦略研究）。

8) 未経験食品の安全性に関する研究

諸外国の未経験食品について我が国としての対処法の検討を行った（厚生省生活衛生局食品保健課）。

2. 汚染物モニタリングと情報

イ) 全国から集められたモニタリングデータは約 185 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（厚生省生活衛生局食品保健課）。

ロ) 全国 11 機関からのトータルダイエツト試料をもとに約 50 種の汚染物について摂取量調査を行った。またデータの一部は WHO に送付した（厚生省生活衛生局食品保健課）。

3. 新開発食品の評価

食品蛋白質の簡易的抗原性評価手法の開発を行った。また野菜や果実における抗アレルギー成分を検索し、評価した（HS 財団受託研究）。

4. 照射食品

照射冷凍肉について照射と非照射の鑑別法を検討した（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、第七版食品添加物公定書の作成や、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用いた食品添加物の開発とその化学的安全性評価に関する研究を行っている。本年度は、平成 7 年 5 月の食品衛生法の改正に伴う作業があり、「既存添加物名簿」、「既存添加物名簿収載品目リスト」作成や、既存天然添加物の安全性確保に関する研究への協力を行った。

合田幸広主任研究官は、ブラジルアマゾン農業研究協力計画の短期専門家として、ブラジル農牧研究公社附属東部アマゾン農林研究センターに出張した（平成 7 年 7 月 25 日～8 月 20 日）。また、第 2 回国際食用色素シンポジウムで発表のため、メキシコに出張した（平成 8 年 1 月 22 日

～29 日）。山田隆部長が FAO/WHO 合同国際食品規格委員会食品添加物汚染物質部会出席のため、フィリピンに出張した（平成 8 年 3 月 14 日～23 日）。

人事面では、合田幸広主任研究官が平成 8 年 4 月 1 日付で、食品部第 3 室長に昇任した。

業務成績

(1) 衛生研究所、厚生省指定検査機関の協力の下に、化学的合成品以外の食品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) 第七版食品添加物公定書作成の準備のため、第六版食品添加物公定書の一般試験法および各条について検討を加えた。

(3) 食品添加物公定書において、有害試薬の使用を行わないようにするための新試験法の作成を行った（規格作成費、生活衛生局食品化学課）。

(4) 鉄および銅クロロフィリンナトリウムの成分について検討を加えた（食品添加物安全性再評価費、生活衛生局食品化学課）。

(5) 既存添加物を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、および各条につき、原案および改正案を作成した。

(6) 「既存添加物名簿」作成、その英文版作成、告示後の訂正、追加の作業に協力した。

(7) 「既存添加物名簿収載品目リスト」作成のために、各既存添加物の別名・簡略名・類別名および基原・製法・本質について検討した。

(8) グレープフルーツ種子抽出物およびレモン果皮抽出物につき、その主成分および混入物質の分析を実施した（食品添加物規格基準設定費、生活衛生局食品化学課）。

(9) 市販の三種のカラギナン類の硫酸基含量と酸不溶性物質含量を分析した（食品添加物規格基準設定費、生活衛生局食品化学課）。

(10) 赤貝に不正に使用された天然着色料の分析法について検討した。

(11) 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）、医薬品添加物規格 1996 の作成（薬務局審査課）、環境測定分析統一精度管理調査（環境庁企画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）等に協力した。

(12) 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) 全国自治体の行政検査を基にした食品添加物の使用実態調査と摂取量の推定方法について検討を行った（厚生科学研究費、生活衛生局食品化学課）。

(2) 市販食用黄色5号中付随色素2種, 食用赤色102号中付随色素2種, 食用赤色2号中付随色素2種, 食用青色1号中付随色素1種の構造を決定した(一部, 三栄源食品化学研究振興財団研究費)。

(3) 食品添加物公定書中の溶媒について, クロロホルムの代替え有機溶媒の検討を行った(規格作成費, 生活衛生局食品化学課)。

(4) パプリカ色素成分の光安定性について検討し, 使用溶媒の差が安定性に大きな影響を与えること, およびシス体からトランス体への変化が見かけの安定性に影響を与えていることを示した(三栄源食品化学研究振興財団研究費)。

(5) 市販ベニコウジ色素の色素成分が各製品で異なることを明らかにし, 分析用標品を設定することが困難であることを示した(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課)。

(6) 傾斜磁場NMR等を用い, 市販ベニコウジ色素の主要色素成分の構造を研究した結果, D型アミノ酸を構造中に有する色素を見いだした(厚生科学研究費, 大臣官房厚生科学課)。

(7) マリーゴールド色素の色素成分を分析した結果, そのほとんどがジエステル化体として存在することを明らかにした(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課)。

(8) ビートレッドの規格の国際的整合性を目的として, 硝酸根の分析方法, 色素分解産物等について検討した(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課)。

2. 食品添加物等の安全性に関する研究

(1) 食肉が一酸化炭素処理されているか否かの判定法について検討を加えた。

(2) 不許可添加物であるポリソルベートのプレカラム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) GC-MS法によりチューインガム中の不許可添加物であるターシャリーブチルヒドロキノン(THC)の測定を可能とした(厚生科学研究費, 生活衛生局食品保健課)。

(4) アルギン酸ナトリウムの構成糖のグルロン酸を単離精製し, 各構成糖における呈色度を検討した(食品添加物安全性再評価費, 生活衛生局食品化学課)。

(5) 鉄および銅クロロフィリンナトリウムのHPLCによる同時分析法を検討した。市販製品中には, 複数の指標成分があり, 純度に大きな差がみられた。光過敏症誘引物質のフェオホルバイドは検出しなかった(食品添加物安全性再評価費, 生活衛生局食品化学課)。

(6) 食品添加物の1日摂取量調査研究の一環として, 硝酸塩の食品中の存在量について文献調査を行った(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課)。

(7) ステンレス製器具について新品および使用中の製品からの金属の溶出を明らかにした(食品等規格基準設定費,

生活衛生局食品保健課)。

(8) ポリエチレン中の酸化防止剤および紫外線吸収剤のHPLCによる一斉分析法を開発した(食品添加物安全性再評価等試験検査費, 生活衛生局食品化学課)。

(9) ポリスチレン製容器からの揮発性物質の溶出についてオリーブ油による溶出試験を行った。またインスタント食品用発泡ポリスチレンから食品への揮発性物質の移行を明らかにした。

(10) 木製器具中の過酸化水素について試験法の検討および市販品の調査を行い, その由来についても検討した(厚生科学研究費, 生活衛生局食品保健課)。

(11) 保冷剤含有プラスチック製品の材質, 生産国, 保冷剤の成分等を調査するとともに, 落下, 凍結等に対する物理的強度を検討した(厚生科学研究費, 生活衛生局食品保健課)。

(12) ミネラルウォーター用容器の衛生性を調べ, また混入したプラスチック様異物の主な混入原因を明らかにした(厚生科学研究費, 生活衛生局食品保健課)。

(13) 再生プラスチックの海外における利用状況, 法規制等について調査を行うとともに, 国内における利用者の意識調査を行った(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課)。

3. 遺伝子操作技術等を用いた食品添加物の開発とその化学的安全性評価技術に関する研究

(1) 植物組織培養法により産生されるビートレッドの色素成分の天然添加物との相同性を調べるため, 培養細胞(カルスおよび毛状根)の培養を開始した(HS財団受託研究費)。

(2) 色素産生細胞の培地中に重金属とともに γ ECGと γ ECを添加したときの, 誘導されるフィトケラチン類の種類について検討した(HS財団受託研究費)。

(3) ハマボウフウ培養細胞の産生するアントシアニン色素の構造を決定した(HS財団受託研究費)。

(4) パプリカ色素のモノエステル化体について検討した結果, 6員環側のみエステル化されたものも, 少量存在することを明らかにした(HS財団受託研究費)。

有機化学部

部長 宮田直樹

概要

平成7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5年度から継続中の文部省科学研究費補助金重点領域研

究「炭素クラスター」が、平成7年度で終了した。本プロジェクトにおいて有機化学部は、炭素クラスターの生物影響に関する研究を担当し、末吉祥子第2室長および中島(山越)葉子技官らが中心となり、新素材として注目されているフラーレン C60 の光増感作用に起因する赤血球溶血作用や DNA 切断作用等を明らかにした。

人事面では、科学技術庁 STA フェローとして招聘したインド医薬品中央研究所の A. パサク博士が、引き続き栗原正明室長の指導の下に生理活性物質の立体選択的合成研究を行っている。また、協力研究員として、日本大学生物資源学部農芸化学科講師西尾俊幸博士と昭和薬科大学薬学部講師小林茂樹博士を受け入れ、核磁気共鳴装置および化学計算コンピュータを利用した生理活性糖誘導體およびペプチド誘導體の合成・構造・機能解析に関する研究を行っている。

海外出張は、末吉祥子第2室長と丹野雅幸主任研究官が、平成7年12月17日より24日まで米国に出張し、ハワイ州ホノルル市で開かれた環太平洋国際化学会議に出席し、芳香族 N-ニトロソウレアの熱分解における NO とトリアゼンの選択的生成に関する研究成果を発表した。また、宮田が、平成8年2月20日より24日までスイスに出張し、ジュネーブの WHO で開かれた医薬品構造式のデータベース作成に関する検討会に出席した。また、宮田は、平成8年4月23日より28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。また、福原潔技官は、引き続き米国バージニア州のバージニア大学理学部化学科 S. ヘクト教授の下で、特別研究員として 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。

栗原正明第1室長は、厚生省試験研究機関共同利用大型機器(傾斜磁場型 600 MHz 核磁気共鳴装置)および所内共同利用機器(400 MHz および 300 MHz 核磁気共鳴装置)の管理を行った。なお、共同利用機器運用業務は、佐藤由紀子非常勤職員が行った。

平成7年度有機化学部特別講演会として、「スルフィニルエテン類の不斉環化付加反応を利用した生物活性物質のキラル合成(富山医科薬科大学薬学部教授:小泉徹博士)」、および、「免疫システムを利用した機能性タンパク質の創製(蛋白質工学研究所主任研究官:藤井郁雄博士)」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:鎖状のアリルアルコール誘導體のジオキシランによるエポキシ化反応を検討し、立体選択的にエリスロ体が得られることを明らかにした(特別研究費)。

2) 活性分子種を用いた高効率の合成技術の開発:一電子酸化剤として光学活性なバナジウム試薬を用いた炭素-炭素結合形成反応を行い、不斉誘起が起こることを明らかにした(科学技術振興調整費)。

3) 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:生体内 NO 産生型アミジン誘導體の合成を行い、化学構造と酸化的 NO 発生量の相関性を調べた(一般研究費)。

4) 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:光学活性ジオールを用いた不斉アセタール化反応における遷移状態モデルを考案し、分子力場計算とモンテカルロ法により最安定構造を検索した。その結果、エナンチオ選択性との間に良い相関があることが明らかとなった(一般研究費)。

5) 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:合成した N-ニトロソ尿素および N-ニトロソアミドの NO 発生量を測定し、その生成過程を明らかにした(文部省科学研究費)。

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:通気性フィルムを用いた簡易型 NO 定量装置を試作し、NO 供与化合物の NO 発生能を調べた(環境庁国立機関公害防止等試験研究費)。

2) 過酸化脂質の立体選択的合成と化学的性質に関する研究:脂質の過酸化により生成する 4-ヒドロキシ-2-ノネナールの合成を行った(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: C_{2v} 対称性を有する新規オリゴペプチドを設計、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:界面活性剤により水溶化した C60 を用いて可視光照射下における C60 の溶血作用を明らかにした(文部省科学研究費)。

以上の研究は、林多恵子学士(日本大学生物資源学部農芸化学科:奥忠武教授)、亀田まり、および、山崎恵美子学士(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)、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116年会(金沢)、第21回反応と合成の進歩シンポジウム(京都)、1995環太平洋国際化学会議(ハワイ)、第9回および第10回フラーレン総合シンポジウム(横浜、豊橋)、日本環境変異原学会第24回大会(大阪)、第7回生体フリーラジカル実験交流会(千葉)、第18回磁気共鳴医学会(福岡)、第27回放医研シンポジウ

ム, 12th Clinical Conference on Free Radicals (京都) 等で発表するとともに, Heterocycles, 磁気共鳴と医学, J. Adhesion Sci. and Technol., 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7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た。人事面では, 平成7年4月1日をもって赤坂玲子博士が, HS 振興財団流動研究員として採用され, 平成8年3月31日まで, 研究に従事した。

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調査研究を継続した。
 - 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て好塩基球細胞内情報伝達物質の動態に関する研究を行った (HS 振興財団創薬科学研究費)。また, 薬物過敏症の安全性評価への応用を目的として, 細胞から遊離される種々の因子の測定法の検討を行った (HS 振興財団受託研究費)。さらに, 好塩基球細胞 IgE 受容体遺伝子変換体を用いるシグナル伝達機構の解明も行った (文部省科学研究費)。
2. 薬物受容体等の構造と機能に関する研究
 - i) ヒトリンパ球培養細胞 IM-9 からのヒト成長ホルモン結合蛋白生成を, ホルポールエステルが促進することを見出し, その機構を解析した (HS 振興財団創薬科学研究費)。また, ヒト成長ホルモン結合蛋白生成における成長ホルモンの作用を解析した (文部省科学研究費)。
 - ii) オピオイド結合タンパクの遺伝子をクローニングし, 大腸菌中で組み換え蛋白を発現させた。これを精製しポリクローナル抗体を調製した (HS 振興財団受託研究費)。
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。

4. モノクローナル抗体の機能変換等に関する研究
 - i) 抗体フラグメントと金属キレート蛋白との融合蛋白を大腸菌で発現させた (国立機関原子力試験研究費)。
 - ii) 抗モルヒネ抗体の立体構造の予測をホモロジーモデリング法により行った。
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, 穀物中のセ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, *Wallemia sebi* のアレルギー原因抗原の精製および抗原性に関する解析と, *A. Fumigatus* 抗原による血清学的検討を行った。
 - iv) エストロゲン受容体と異なる受容体が関与する乳癌の診断法を開発するため, 高比放射能標識化合物を合成した (国立機関原子力試験研究費)。

代謝生化学部

部長 高橋 惇

概要

既存化学物質等の代謝試験・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。また, 本年度から HS 財団受託研究「脂質代謝を介する生体機能調節機構の解明と薬効解析・薬物開発への応用」を開始した。

人事面では, 紅林秀雄主任研究官は, 平成7年12月1日付けで薬理部へ異動し, 薬理部第三室室長に就任した。昭和33年4月, 当所公定書外医薬品部に採用されて以来, 特殊薬品部, 生物化学部, 医化学部および代謝生化学部において38年の長期にわたり, 酵素製剤の生化学的研究, 食品添加物・既存化学物質等の代謝に関する研究で, 数々の業績を挙げられた高橋昭江主任研究官は, 平成8年3月31日付けで定年退職された。HS 振興財団の流動研究員大河内江里子博士は脂質代謝の生体機能調節機構に関する研究に従事し, 優れた業績を挙げ, 平成8年3月31日付けで退所した。また, 平成8年4月1日付けで赤坂玲子技官が新規採用され, 当部第1室に配属された。

短期海外出張では鈴木和博室長が, 米国ナシュビルで開催された第9回セカンドメッセンジャーとリン蛋白質に関する国際会議に出席し, コフィリンの脱リン酸化について発表し (10月27日~11月1日), 最上知子主任研究官は米国アナハイムで開催された米国心臓学会議に出席し (11月11日~18日), 紅林秀雄主任研究官は日米科学技術に関する研究の一環として米国に出張し, NIHS, CIIT,

FDA, NCTR, SPRI を訪問し、環境汚染化学物質の毒性に関する調査・討議を行った（11月11日～22日）。

研究業績

1. 化学物質の安全性に関する代謝生化学的研究

1) 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。24ヶ月の試料の測定を終了し, 現在, 26ヶ月の回復試験の試料の測定を実施している。

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)

TCEP の吸入暴露時の安全性評価の一環として, ラットに ^{14}C -TCEP を吸入暴露した場合の体内動態試験を実施し, その結果から, 薬物速度論的諸パラメータ値を算出した。また, 吸入暴露時の試験結果と比較するため, 発がん試験に用いられた用量の ^{14}C -TCEP をラットに経口投与して体内動態試験を行っている。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) 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)

TCEP の代謝に関与する P450 分子種を予測する目的で, 各種誘導剤 (フェノバルビタール, デキサメサゾン, メチルコラントレン, アセトン, クロフィブレイト) で処理したラット肝のミクロソームを用いて検討した。フェノバルビタール処理したラット肝ミクロソームで誘導される P450 分子種で代謝されることが予測された。また, ラット肝上清における代謝では, TCEP が GSH 存在下で代謝されることが判明した。

2. 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) 白血球の活性化に関する研究 (創薬基礎研究, HS 財団研究費)

刺激応答性脱リン酸化蛋白はアクチン・PIP₂ 結合蛋白のコフィリンと同定されたが, それはオプソニン化ザイモザン, FMLP, アラキドン酸など種々の刺激に共通して, 細胞膜へ移行することが明らかになった。

2) NO の食細胞機能に対する効果に関する研究 (国立機関公害防止等試験研究費, 環境庁)

食細胞の走化性 (ケモタキシス) に対し, NO 遊離試薬は比較的高濃度 (1~10 μM) では阻害するが, 低濃度 (1~100 nM) では促進する効果を持つことを見出した。

3) 脂質代謝を介する生体機能調節機構の解明と薬効解析・薬物開発への応用 (HS 財団受託研究費)

ホスファチジルエタノールアミンのメチル化の阻害は血漿超低密度リポ蛋白 (VLDL) 粒子の分泌自体には影響せず, 個々の粒子の脂質含量を低下させることを明らかにした。

衛生微生物部

部長 三瀬 勝利

概要

本年度は当部においては, 職員の移動はなかった。菊地裕研究員は平成7年9月, 米国・中西部農業利用研究センターの J. L. Richard 博士との共同研究を終え, 同年11月より, カナダ・アルバータ大学で有害真菌の迅速検出法の研究等に従事している。なお, 平成7年6月には三瀬が総会長となり, 約300名の出席者を得て, 日本細菌学会関東支部総会をとり行った。平成7年の後半から平成8年にかけて, 清涼飲料水中の微騒動があり, 当部, 特に第三室と第二室は非常に多忙であった。

業務成績

1. 特別審査

合計5件について特別審査を行った。

2. 行政検査

清涼飲料水合計231件について, 細菌と真菌の検査を行った。

3. 規格・基準など

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 (薬務局安全課・健康政策局指導課; 千葉大学, 北里大学との共同研究), エイズ医薬品候補物質スクリーニング研究 (薬務局; HS 財団), エイズの発症を促す抗酸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), バイオテクノロジー応用食品などの安全性評価に関する研究 (生活衛生局食品保健課), 動物性加工食品の品質保証システムに関する研究, と畜場の微生物制御法確立のための基礎的研究, 卵のサルモネラ汚染に関する研究, 自動販売機の衛生管理に関する研究, 魚肉すり身製造工場の微生物汚染実態調査 (以上生活衛生局乳肉衛生課) 等が行われた。

研究業績

1. エンドトキシンに関する研究

リポド A の前駆体はサクシニル化, もしくはアセチル化によってすべてのエンドトキシン活性が十万分の一に低下した。不活化前駆体は活性型エンドトキシンによる B 細胞マイトジェン活性, およびマウスマクロファージからの TNF 産生活性に対してアンタゴニスト活性を示した。

リピド A 構造上、非還元末端グルコサミンの 3-ヒドロキシ脂肪酸水酸基の置換基が内毒素活性/アンタゴニスト活性変換を支配している事が示唆された。また、腸内細菌科のリピド A とは明らかに異なる構造を持つ *Comamonas testosteroni* の詳細なリピド A 構造を NMR 等で解析した。

2. 制限酵素に関する研究

チフス菌から分離された制限酵素 *StyD4* 遺伝子がプラスミド上にあり、チフス菌のファージ型別に影響している事を示した。

3. 微生物学的衛生管理に関する研究

大豆や豆腐における *Bacillus thuringiensis* の汚染状況、鶏卵の *Salmonella* 汚染状況、市販カット野菜の微生物汚染などを調査した。

4. セレウス菌の毒素に関する研究

嘔吐型食中毒を起こす *Bacillus cereus* の嘔吐毒を部分精製し、精製した空胞化活性物質 (セレウリド) とともにアカゲザルに経口投与し以下の結果を得た; i) セレウリドと嘔吐毒はプロテアーゼによる消化、pH および熱に対し強い抵抗性を示した。ii) 両物質をそれぞれ経口投与されたアカゲザルは強い嘔吐を起こした。これらのことからセレウリドは嘔吐毒の本体と考えられる。

5. フラーレンの安全性研究

フラーレン C60/C70 は 2 段階形質転換試験の結果、イニシエーション、プロモーション作用ともに陰性であった。

6. 真菌に関する研究

食品製造施設と徹防止対策、真菌の定量試験法における塗抹法と混釈法の比較、発芽および発育度を指標とした抗菌性活性評価法の研究等衛生学的研究がなされた。また、蛍光色素 Fluorescein diacetate (FDA) を用い、*Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* 等の胞子に対する蛍光活性を測定した。NaClなどを FDA に添加したときに、*A. niger* 生菌胞子で著効を示した。

化学物質情報部

部長 神 沼 二 真

概 要

当部は、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、蓄積されたリソースを用いた基礎研究を、並行的に展開することを目指している。本年度は全所的な研究情報ネットワーク整備の予算が認められたため、基幹ネットワークおよびシステムの強化、再構築を行った。

人事面では、4月1日付けで図書係の藤井厚美氏が庶務課に転出、その後任に上沼陽子氏が転入してきた。

支援業務 (業務成績)

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、昨年度は科技庁の省際ネットワーク (IMnet) 経由で、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たが、8月に落雷などの被害があったため、一部の基幹を光ファイバーに変更し、サーバー群を大幅に強化し、全所的な1人1台体制への準備を終えた。また、このインターネット環境を利用して、WWWサーバーとデータベース管理ソフト (Sybase) を立ち上げ、IPCSなどで作成している安全性に関する評価文書や医薬品情報の発信実験を行った。

2. 化学物質の安全性に関する国際協力

(1) 国際有害化学物質登録制度 (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録した IRPTC 法規制データベース用として、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

「LASと関連物質」に関する環境保健クライテリアが出版された。「トリフェニル錫」に関する IPCS の CICAD (国際簡潔評価文書) の作成を開始した。

2) IPCS の国際化学物質安全性カードの作成

5名の所外国内委員の協力を得て、日本分担分 16 物質の安全性カード原案を作成し、1995年3月 (カーサルトン、英国)、10月 (ブリュッセル) の検討会議に山本主任研究官が出席した。また、日本語訳カードのインターネット (WWW) による提唱を開始した。

3) GINC (Global Information Network on Chemicals) プロジェクトの推進

1995年3月にジュネーブで神沼、中田らが現在の IOMC のメンバー機関の関係者と GINC 推進を協議し、6月には山本 (都)、中野が IRPTC らと GINC ホームページの開設など技術的な協力を行った。また7月には神沼らが GINC アジアの準備として、東南アジアの関係機関を訪問し、12月には昨年を引き続き GINC のための推進会合を開催した。

4) その他の活動

1996年3月 (キャンベラ) 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。同時に行われた情報セミナー/ワークショップには中田、中野、大竹らが参加して NIHS および GINC のホームページのデモンストレーションを行った。

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

これまで開発してきた発がん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。また、これまで開発した各種のデータベースをSybaseに移し、WWWを介して検索するシステムを開発し、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

多細胞生物の生体反応で重要な役割を果たしている、受容体のデータベースと細胞内信号伝達に関する知識ベースの開発を継続しているが、本年はこれらの知識データベースをWWWを介してインターネットで提供する実験を試みた。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次元構造解析はこれまでに続き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

線虫の胚発生過程の再構成システムをパソコン（マック）上に移植している。また、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。

「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。さらに「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研究結果と比較検討した。

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。

農業の環境動態についてシュミレーションモデルによる予測の有効性について検討した。またPL法の施行をふまえて、化学品のリスクコミュニケーションのための「表示」のあり方と改善について検討した。

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、12タイトルを新規に購入し、単行本450冊を購入した。この結果、購入中の雑誌は330タイトル、管理している単行本は10,067冊となった。文献の相互貸借については、外部から1,085件の依

頼があり、外部へは1,218件を依頼している。

(2) 図書情報検索サービス

所内LANの整備に伴い、図書雑誌の登録、検索を目的とした図書館システムの開発を開始した。またCD-ROMもインハウスからの検索ができるよう、大幅な機能強化を計った。さらに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Current Contents (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113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

平成8年5月現在当センターは、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、主任研究官27、研究員10、動物飼育長1で総計60名であり、さらに技術・事務補助員14名、客員・協力・流動研究員10名、研究・実習生16名がいる。薬理部小野田欽一室長におかれては、長らくご療養中のところ平成7年6月12日薬石効なく58歳で逝去された。ここに謹んで哀悼の意を表します。後任には12月付けで代謝生化学部紅林秀雄主任研究官が採用された。変異遺伝部渡辺雅彦主任研究官、総合評価室会田喜崇主任研究官が辞職され、平成8年4月付けで毒性部に鈴木容子主任研究官、変異遺伝部に増村健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官が生活衛生局生活化学安全対策室へ平成7年5月より1年間勤務した。後任には、紅林秀雄薬理部室長が任命された。

海外出張としてセンタースタッフが延べ約50回にわたり行政関連会議(ICH, OECD, JECFA, IPCS, ICCVAM等)および各種専門学会等に派遣された。昨年度に比して大きく増加したのは、今年度に科学技術庁の海外派遣補正予算が執行されたためである。黒川の海外出張は4カ所を下記の通り。①IPCSリスクアセスメントガイドライン策定会議、WHO本部、ジュネーブ、1995年6月12～15日、②国際毒科学会(IUTOX)およびICH専門家準備会合、シェラトンホテル、シアトル、1995年6月28日～7月8日、③11th OECD Hazard Assessment Advisory Body(HAAB)、OECD本部、パリ、1995年12月5～6日、④National Toxicology Program(NTP) Workshop on Validation and Regulatory Acceptance of Alternative Toxicological Test Methods マリオットホテル、アーリ

ントン (米国), 1995年12月11~12日。

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, 安全センター長) には, 津田充寿薬理部室長と宇佐見誠薬理部研究員がトキシコキネティクスに関して, 井上達毒性部長がバイオ医薬品の安全性に関して, それぞれ米国での現状を調査し専門家との討論を行なった。

ICH に関しては, 厚生科学研究: 医薬品規制ハー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, 7名の研究協力者および8名の協力研究者として, 発がん性 (S1)・遺伝毒性 (S2)・単回および反復投与毒性 (S4)・生殖発生毒性 (S5)・バイオ医薬品安全性評価 (S6), さらには品質部門の原薬・製剤・残留溶媒の安全性評価 (Q5), 境界領域の非臨床試験と臨床試験開始のタイミング (M3) についてのガイドライン作成専門家会合に頻繁に参加・討論を行った。それらの成果は平成7年11月に横浜で開催されたICH3で発表された。今後も, 平成9年7月に予定されているICH4までに多くの討議が必要とされている。

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。センターへの予算としてOECDテストガイドラインなどの改訂・評価への応用を目指した総合化学物質安全性研究費がある。今年度からその運用は各部のテーマを考慮して重点的に配分した。それらの研究結果を積極的に学会・専門誌等に発表し, さらに数年毎に総括的報告を衛試報告に掲載することとした。一方, センターでは多くのOECDテストガイドラインについてのコメント対応を行ってきた。しかし多省庁が絡み合っただけでその方法が余りに複雑化し非効率になってきたと思われるので, 基本的に個人ではなく国としてのコメントを作成することを重視した見直しを図ることとした。センターでのコメント対応は毒性関連テストガイドラインに限ることとし, 各分野の責任者を決めた。

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員で構成される「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「化学物質専門委員会」で審議されている。しかし最近の届出資料の増大・複雑化が進みつつあることを考慮して, 評価文書の簡略化により審査の効率を高め, 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「化審法による新規化学物質の審査に関する懇談会」を開始し3回討議を行った。

GLPの調査・査察には, 医薬品関係で34カ所, のべ42名, 化審法関係で6カ所, のべ9名が赴いた。なお, 今年度から調査に関連した問題点を検討するための会合「GLP適合性調査検討会」を開始し2回討議を行った。

本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回定例的に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, 動物管理室長の7名よりなる) においてなされ議事録を作成後部長会議に報告されており, 各部・室からの最新情報の伝達が滞りなく行われている。

当センターの研究・業務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。それらの蓄積をもととして, 数年来準備が続けられてきた「化学物質のリスクアセスメントガイダンス」(厚生科学研究; 大森班) がいよいよ本年末に完成予定となったことは, 極めて意義が大きい。

毒 性 部

部 長 井 上 達

概 要

平成7年6月, 総合評価室の会田主任研究員の転出に伴う異動により第三室の広瀬明彦技官の同室へ配置替えが発令された (6月1日付)。高木篤也主任研究員は平成7年4月から6ヶ月間の厚生科学課の併任を務めた後, 9月に解除となった。また児玉幸夫主任研究員は, 平成7年5月から生活衛生局生活化学安全対策室専門官を併任した (平成8年5月20日付をもって解除)。新年度を迎え平成8年4月1日, それまで協力研究員として研究に従事していた東京大学医科学研究所分子生物学研究部特別研究員・平林容子博士を第三室の主任研究員として採用した。また外部からは, (財)佐々木研究所病理部長前川昭彦博士に客員研究員として (自, 平成7年4月), (財)実験動物中央研究所前臨床研究部精神薬理学部室長若狭芳男博士に協力研究員として (自, 平成7年4月) 引き続き協力を願っている。また, 平林主任研究員の着任に伴って, 病理部への協力研究員に東京医科歯科大学部感染免疫病理学講座より講師の菅野純博士をあらたに招聘した。尚, 平成7年1月から6ヶ月間協力研究員として在籍し, さらに1年間病理部に在籍した(財)韓国化学研究所安全性研究センター前任研究員金亨津博士は, 平成8年3月末日付にて離任した。以上, 毒性部は6室の構成で, 技術補助員などを含めた総員は, 平成

8年5月31日現在、38名となっている。

研究業務関連海外出張には、井上部長のICH 専門家会議への出席（平成7年6月28日～7月8日、シアトル；10月14日～20日、ロンドン）、OECDの代替法に関するワークショップへの出席（平成8年1月20日～26日、ストックホルム）、および非エネルギー領域（毒性学）研究交流計画によるNIEHSなどの訪問（平成8年3月2日～11日、リサーチトライアングル・パークなど）、降矢 強室長および小川幸男主任研究官の韓国化学研究所安全性研究センターにおける招待講演と技術指導（平成7年10月16日～20日、韓国）、田中 悟動物管理室長のGLPならびにQAに関する米国視察（平成7年10月15日～27日、フェニックスなど）、長谷川隆一室長のICH 専門家会議への出席（平成7年7月15日～22日、ブラッセル）、OECDの試験法改訂に関する会議への出席（平成7年10月30日～11月6日、ローマ）、その他、科学技術振興調整費による、佐井君江ならびに北嶋 聡、両技官のキーストンシンポジウムへの出席と演題の発表（それぞれ平成8年1月8日～14日、ニューメキシコ、および2月9日～14日、レイク・タホエ）、梅村隆志主任研究官のアメリカがん研究協会の特別会議への出席と演題発表（平成8年2月19日～25日、キーストン）などがある。また、鈴木幸子主任研究官は、金属に関するCOMTOXシンポジウムに参加し演題を発表した（平成7年7月10日～13日、バンクーバー）。

なお、医薬品GLPの調査のため延べ14名が国内出張し、また、海外へも1名出張した。

研究業績

1. 厚生省厚生科学研究費補助金

1) 科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の関連性に関する実験を行った。

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3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）

アルミン酸ナトリウム、塩化アルミニウム水和物、過塩素酸カリウムの経口・経皮急性毒性試験および皮膚刺激性試験を行った。

4) 実験動物を用いる急性毒性試験等の簡易法の開発（厚生省薬務局安全課）

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、フェノール、蟻酸等10検体について、経皮毒性試験を行った。

2. 厚生省生活衛生局生活化学安全対策室家庭用品試験検査費

1) 家庭用品

a) パラジクロルベンゼン

ラットにおける2年間の慢性吸入暴露を終了し、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

ラットにおける慢性毒性試験の為の2年間の経口投与を終了し、病理組織学的検討を継続中である。また、モルモットを用いるMaximization法による、皮膚感作性試験を終了した。

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) *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終了した。

f) α -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としての薬物投与を終了し、病理組織学的検査を実施中である。

g) トリアリルアミン

ラットにおける急性毒性および、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。

h) 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。

i) 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、病理組織標本を作成中である。

j) *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を終了し、病理組織学的検査を実施中である。

k) 2,2'-ジクロロジエチルエーテル

ラットにおける2年間の慢性吸入毒性試験を開始した。

1) *N*-1,3-dimethylbutyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine (DMBPPD)

ラットにおける28日間の経口反復投与を終了し、病理

組織学的検査を実施中である。

m) 2,5-Di-*tert*-amyl-hydroquinone (DAHQ)

ラットにおける28日間の経口反復投与を終了し、病理組織学的検査を実施中である。

n) Zinc salt of 2-mercaptobenzimidazole (ZMBI)

ラットにおける28日間の経口反復投与を終了し、病理組織学的検査を実施中である。

o) エテルセルソルブの急性吸入毒性試験のための暴露装置を検討した。

p) 2,5-ジ-*tert*-ブチルヒドロキノン

ラットにおける28日間強制経口投与を終了し、病理組織学検討を継続中であり、また、モルモットを用いるM&K法による皮膚感作性試験を終了した。

q) 6-エトキシ-2,2,4-トリメチル-1,2-ジヒドロキノリン

モルモットを用いるM&K法による皮膚感作性試験を実施する。

r) ポリ-2,2,4-トリメチル-1,2-ジヒドロキノリン

モルモットを用いるM&K法による皮膚感作性試験を実施する。

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ヵ月の慢性吸入暴露を終了し、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を終了した。

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-*P*-フェニレンジアミン

ラットにおける慢性・発癌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。

f) サイクロシクロヘキサンのラットにおける28日間反復投与毒性試験を終了した。

3. 厚生省生活衛生局水質試験検査費

未規制物質基準化の検討の一環として、新規の消毒副生成物のうちジプロモクロ酢酸について、急性毒性試験ならびに反復投与毒性予備試験を実施した。

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、緑茶浸出液を前投与し、肝発癌物質によるDNAの酸化的損傷ならびに細胞増殖の抑制について解析した。

5. 厚生省生活衛生局食品化学課

2,4,6-トリクロロフェニル-4'-ニトロフェニル エーテル(CNP)のイヌ肝臓での代謝と発癌との関連に関する研究

1) CNPをイヌに経口投与し、胆汁を経時的に採取し、検体と代謝を分析し、発癌の可能性を検討する。同時に、イヌ培養肝細胞による代謝試験を行う。CNPは肝腫瘍を発生させるニトロフェン類似の化合物である。イヌの肝臓において、CNPの代謝により、ニトロフェンを生成する可能性を検討した。

2) CNP関連の農薬(除草剤)のイヌを用いた亜慢性毒性試験

DNP, NIP, アラマイト, クロメトキシニルおよびフェノックスをイヌに90日間反復経口投与し、胆嚢および胆管とその上皮細胞への影響について、亜慢性毒性試験の手法により検討した。病理組織学的検査を実施中である。

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している。

7. 厚生省乱用薬物基礎研究費(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

薬物の強化効果におよぼす神経伝達物質の影響を調べる目的で、アザセトロン(5HT₂受容体アンタゴニスト)のコカイン摂取におよぼす影響について、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)

タール色素毒性研究に関する試験

1) 赤色230の(1)号および青色204号について

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

3) 赤色40号

モルモットを用いるM&K法による皮膚感作性試験を実施する。

4) だいたい色206号

モルモットを用いるM&K法による皮膚感作性試験を実施する。

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) ポリウレタン

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癌性試験における有用性を、本年度は non-genotoxic carcinogen として知られている ethylene thiourea および砒素を用いて検討した。両化合物とも、腫瘍の発生は認められなかったが、臓器特異性は非導入マウスとおなじ傾向を示した。これまでの結果から、本系統マウスは geno-toxic carcinogen のがん原性の短期検索に有用な試験系と考えられた。

10. 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

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

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終了し、亜慢性毒性試験を開始する。

3) 亜硝酸ナトリウムと赤色 3 号の相乗毒性

亜硝酸ナトリウムと赤色 3 号の相乗毒性を調べる目的で亜急性試験を開始した。

4) ペクチン分解物の発生毒性

ペクチン分解物の発生毒性を調べる目的で催奇形性試験を開始した。

11. 化学物質指定調査費（厚生省薬務局安全課）

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の一環としてインドメタシン、カフェイン、アニリン等 10 検体についてラット、マウスを用いて急性経口毒性試験を行った。

12. 麻薬等総合研究事業費（厚生省薬務局麻薬課）

13. 制剤評価（財団法人日本公定書協会、財団法人ヒューマンサイエンス財団、厚生省薬務局安全課）

1) 抗悪性腫瘍剤

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、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の各群について比較研究を行っている。

14. 特別研究「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」（平成 6 年度～平成 8 年度）

毒性指標としての生体内金属元素の無処置動物におけるデータベースを作製することを目標とする。

4 週齢の雌雄ラットを購入し、1 ヶ月毎に屠殺し、血清、肺、心、肝、腎、脾、精巣、および肝細胞分画中の金属元素濃度を測定し、6 ヶ月目、後 12 ヶ月までの正常値を集積した。

日本動物実験代替法学会第 9 回研究助成金眼粘膜刺激性

試験代替試験の評価基準となる Draize 評点の変動の解析と標準比較物質の選定について検討した。

薬 理 部

部 長 大 野 泰 雄

概 要

前年度に引き続き、神経科学および細胞機能に関する薬理学的研究、有効性・安全性評価のための試験法に関する研究、およびトキシコキネティクス (TK) に関する研究を、主に行った。行政協力の面では数多くの調査会に参画するとともに、ICH や OECD を通じた TK や毒性試験代替法等のハーモナイゼーションのための調査研究を行った。

人事面では、平成 7 年 4 月 1 日付けて 張宝旭博士がヒューマンサイエンス振興財団流動研究員として継続採用され、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。また、6 月 12 日に薬理部第 3 室の小野田欽一室長が死去し、12 月 1 日付けて 代謝生化学部の紅林秀雄主任研究官が後任の第 3 室長に就任した。また、10 月 1 日付けて 上野伸哉博士が科学技術特別研究員として採用され、薬理部第 1 室に配属された。

短期海外出張は大野泰雄部長がブラッセルで開催されたヨーロッパ化粧品工業界 (COLIPA) の会議に日本の行政サイドの代表として招請され、わが国における化粧品の安全性評価の現状、特に、眼刺激性試験代替法バリデーション結果について意見を述べた。途中、ロンドンの英国医薬品庁 (MCA) に立ち寄り、GLP に関わる諸問題について意見を交換した (11 月 27 日～12 月 2 日)。また、ストックホルムで開催された OECD の「毒性試験代替法ハーモナイゼーションおよびその受け入れ基準に関するワークショップ」に出席し、眼刺激性、皮膚腐食/刺激性、光毒性等の代替法を用いた評価ストラテジーの作成作業に参画した (平成 8 年 1 月 20 日～1 月 26 日)。また、スウェーデンのウプサラ市で開催された、ICH-M3 の専門家会議に出席し、臨床試験との関係において、どのようなタイミングで非臨床試験を行うべきであるかの問題について討議した (平成 8 年 3 月 31 日～4 月 6 日)。藤森親之助第 2 室長はジュネーブで開催された残留農薬の ADI 設定に関する FAO/WHO 合同会議に参画した (9 月 14 日～9 月 29 日)。新たに TK を担当することとなった後世代影響薬理室の津田充宥室長と宇佐見誠研究員は日米非エネルギー科学技術協力の一貫として米国 NIEHS, CIIT, FDA および NCTR を訪問し、医薬品の開発における毒性試験への TK 導入に関する情報交換を行った。また、それに対する GLP 適用の範囲に関する意見交換を行った。

国外の学会出張としては、井上和秀第1室長、中澤憲一主任研究官、および小泉修一技官はサンジェゴで開催された北米神経科学学会に参加し、ATP受容体の薬理に関する報告をおこなった。また、宮島敦子技官はトロントで開催されたKeystone Synpoiaに参加し、DNA複製および組み替えに関する分科会に出席した。また、国内で開催された第2回日英生理学シンポジウムと第15回国際神経化学会議において井上和秀室長が招待講演を行った。

なお、平成7年度は延べ5人が医薬品の国内GLP査察を行うとともに、新たに紅林秀雄室長、中澤憲一主任研究官、および籾内桃子主任研究官が延べ4回の査察研修を行った。

研究業績

1. 医薬品等の中枢機能に及ぼす影響に関する薬理学的研究

培養海馬神経ネットワークでのシナプス伝達に及ぼすATPの作用を検討し、海馬細胞でATPが神経伝達物質として働いていること、および、後シナプス細胞の細胞内Ca⁺⁺濃度を上昇させる事を明らかにした。また、神経機能を維持しているPC12細胞における諸種刺激による細胞内Ca⁺⁺濃度に及ぼすCa⁺⁺イオンや二価金属イオンの影響について検討し、PC12細胞において亜鉛イオンがUTP刺激によるP2u受容体反応を抑制し、ATP刺激によるP2×2受容体反応を増強する事を示した(委員長)。

2. 生体機能における情報伝達に関する薬理学的研究

癌奇形性を有する各種抗炎症薬が細胞毒性を現さない濃度でgap junctionを介した細胞間連絡を抑制する事を明らかにした(委員長)。また、細胞間連絡を抑制するインジウムとセレンが培養ラット胚において眼胞の異形成等の奇形を発生させることを示した。また、除草剤であるパラコートが細胞内Ca⁺⁺を上昇させ、興奮性アミノ酸であるグルタミン酸放出させること、また、それに関連すると思われる行動異常が認められる事を示した(環公害)。また、ATP受容体を強制発現させた哺乳動物細胞を用いて、その機能について薬理学的検討を行い、C6BU-1細胞にP2×2受容体を強制発現させた系では、ATP刺激により著明な細胞内Ca⁺⁺上昇が認められ、P2×2自身にCa⁺⁺を通す特性があることが明らかにした。一方、アフリカツメガエル卵母細胞に発現させたニコチン受容体チャンネルをドパミン、セロトニン関連化合物が抑制すること、また、その抑制がサブユニットの組み合わせに依存していることを明らかにした。

3. 医薬品等の細胞機能におよぼす影響に関する薬理学的研究

色素性乾皮症のDNA修復異常に関与する酵素の役割と機能について検討し、DNA修復異常に関与するヒトATPase Q1の出芽酵母ホモログ遺伝子SGS1/TPS1破

壊株では減数分裂において組換え頻度の低下が観察され、この遺伝子は減数分裂組換えに関与している可能性が示唆された。また、遊離肝細胞および初代培養肝細胞に対する6種の尿素系農薬およびその分解・代謝物の作用を検討し、ヘキサフルムロンの代謝物に強い肝毒性があることを示した。また、ジフェニルエーテル系農薬はイヌ肝チトクローム450分子種を増加させる事、また、ニトロフェン、クロルニトロフェン、およびクロルメトキシフェンによってCYP2B11とCYP3Aが、ピフェノクスによりCYP1A分子種が強く誘導されることを示した(厚科研)。

4. トキシコキネティクス(TK)に関する研究

生殖毒性試験においてTK試験を行う際にどの程度まで採血が可能であるかの検討を行った。また、体内でのニトロソ化反応を検討するための手段としてD-チオプロリンを合成し、その血中濃度測定法を開発した。また、甲状腺障害発現能において大きな差の認められたメルカプトベンズイミダゾールとそのメチル化体の血中濃度における差を検討するためにその分析法を確立し、単回投与によるTK試験を実施した。また、ヒトと実験動物において血中濃度が比較してあるデータを検索し、その差と化学構造との関係についての検討を始めた。

5. 有効性・安全性評価のための科学技術開発に関する研究

化粧品および化粧品原料の眼粘膜刺激性評価において動物を用いない代替法がどこまで利用できるか明らかにするためのバリデーションを実施してきた。本年度はその三次バリデーションを終了し、1~3次にわたるバリデーション結果をまとめ、代替法としての有効性と限界について総合的に評価した(厚科研)。

霊長類に近いunksを安全性・有効性試験に利用するための研究の一環として肝のチトクロームP450 3A分子種のクローニングを行い、ラット、ハムスターと相違があることを示した。また、ラット全胚培養系を用いた試験系を確立するために、培養液中に存在する胚栄養因子を同定し、その定量法を確立した。また、最適なグルコース添加量を明らかにした(委員長)。

6. 医薬品等の後世代におよぼす影響に関する薬理学的研究

食品添加物の次世代に対する影響を検討する一環としてグリセリン脂肪酸エステルについて、ラットを用いた癌奇形性試験を開始し、胎児検査を実施した。

7. その他

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として、臨床試験との関係において非臨床試験がどのようなタイミングで行われているかについての日米欧の実態を調査した。また、それらをもとにわが国としての方針を検討し、ICHの会議に対応した(厚科研)。また、ダイオキ

シン類の体内動態について文献調査を行い、消化管吸収ではあまり種差は無いが、体内からの消失にはヒトと齧歯類とでは10倍程度の差が存在することを明らかにした。

病 理 部

部 長 高 橋 道 人

概 要

平成6年5月より安原加寿雄主任研究官は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たが、平成7年5月に併任解除となった。今沢孝喜主任研究官は順天堂大学から学位(医学)を取得した。協力研究員として平成7年4月より第一室において中期肝発癌モデルの研究に従事していた勸韓国化学研究所安全性研究センター前任研究員金亨津博士は十分な業績を上げ、平成8年3月に帰国した。また、平成7年12月より1年間の予定で韓国啓明大学助教授李仁善博士が来日し、胃癌に対する化学的予防に関する研究を行っている。

高橋道人部長は第12回毒性病理学会を平成7年1月24日、25日の2日間、東京メルパルクホールにて主催した。

短期海外出張は高橋道人部長が、米国・シアトルで開催されたICH安全性分野専門家ワーキンググループに出席し、癌原性試験実施が必要となる条件について討議を行った。さらに国際毒科学会に出席した(平成7年6月28日~7月8日)。イタリア・ローマで開催されたOECD主催の亜急性・慢性毒性に関する検討会議に出席し、討議を行った(平成7年10月30日~11月6日)。フランス・パリで開催されたOECDナショナル・コーディネーター会議に出席し、毒性試験法に関する討議を行った(平成7年12月3日~12月9日)。さらに英国・オックスフォードで開催された『1996年ヨーロッパ・トキシコロジー・フォーラム学術年会』に出席し、発表および討議を行った(平成7年3月24日~3月31日)。西川秋佳室長、高田幸一室長はNIEHS(米国)で開催されたNTP technical reportにおける癌原性試験の成績に関する会議に出席し討議した。さらにCIITを訪問しセミナーを行った(平成7年12月3日~12月7日)。三森国敏室長はスイス・ジュネーブでの『FAO/WHOの第45回合同食品添加物(動物用)専門家会議(JECFA)』に出席し、討議を行った(平成7年6月5日~6月16日)。また、ドイツにおいてOECD(経済協力開発機構)主催のGLP原則改訂のための第1回専門家会合に出席し、討議を行った(平成7年11月12日~11月18日)。小野寺博志主任研究官は米国・グラスで開催された「第14回環境の人体に及ぼす影響と予防」国際シンポジウムに出席し、討議を行った(平成8年2月21日~2月27日)。豊田和弘技官は米国・キーストーンで開催

された米国癌学会主催の特別コンファレンスに出席し、討議を行った(平成8年2月18日~2月27日)。なお、医薬品GLP適合性調査には6人が延べ9ヶ所に出張した。

研究業績

1. 食品添加物、農薬、医薬品等の安全性、特に癌原性に関する研究(食品等試験検査費)

β -サイクロデキストリンおよびヒスチジンの慢性・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、パラオキシン安息香酸イソプロピル、流動パラフィン、乳酸鉄、クチナシ青色素、カロブ色素、クロロフィルおよびファフィア色素等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。

1) ハムスターの肺および脾の発癌過程に対するイソチオシアネート系化合物の抑制機序には薬物代謝酵素系への影響が関与することを明らかにした。

2) ビタミンAとチオウレアの同時投与により誘発される甲状腺腫瘍の増殖活性増強のメカニズムを追究する実験を行った結果、肝のUDP-GT活性が著しく上昇する事を明らかにした。

3) ラット胃発癌モデルにおいて、ビタミンD₃活性体が腺胃腫瘍の発生を抑制した。

4) 喫煙負荷したハムスターおよびラットの諸臓器から調製したS₉を用いて、各種発癌物質の変異原性に及ぼす影響を検索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検討中である。

2) lac I 遺伝子を導入したBig BlueマウスにDMNを投与した結果、肝臓、腎臓および肺に変異原性、気管支上皮に細胞増殖活性亢進を認めた。

3) ラットにポリウレタンシートを皮下埋植し、誘発される間葉系腫瘍(異物発癌)の発生過程について検討した結果、これらの腫瘍が多分化能を持った間葉系幹細胞に由来し、腫瘍の進展に伴って複数の分化形態を示すことが示唆された。

4) ラットの二段階肝発癌モデルを用いて、MeIQxのリスク評価に関する動物実験を開始した。

4. 自然発生病変の診断の確立に関する研究

ラットの下垂体前葉の過形成と腺腫との鑑別診断の改善を目的として、自然発生病変について細胞活性を含めた種々の関連指標を用いて検討した結果、腫瘍と細胞増殖活

性との間に必ずしも相関性のない腫瘍も存在することを見いだした。

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 誘発ハムスター肺線維症に続発する肺腫瘍について癌遺伝子変異の有無を検討した結果, k-ras コドン 13 と 61 に点突然変異を示すものが認められた。

2) DEN による二段階肝発癌モデルを用いて, ラットにピペロニルブトキサイドを反復投与し, 誘発される肝増殖性病変におけるコネクシンの変動について検討した結果, 用量依存性にコネクシン 32 の発現が抑制され, ピペロニルブトキサイドに肝腫瘍プロモーション作用があることが明らかになった。

3) 2,5-ジ-タルト-ブチルヒドロキノンにより誘発される神経毒性を病理組織学的に検討した結果, 運動神経筋接合部に原発性傷害が誘発されることを見いだした。

4) c-Ha-ras 癌遺伝子導入トランスジェニックマウスにメチルニトロソウレタンを投与し, 発現する肺腫瘍について癌遺伝子変異の有無を検討した結果, ヒトとマウスの c-Ha-ras 遺伝子のコドン 61 には突然変異は誘発されなかった。

5) ラットにニトロベンゼンと EDS を 1 回投与した結果, ニトロベンゼン群でみられたパキテン期精母細胞の壊死と EDS 群でみられた Leydig 細胞壊死がアポトーシスに起因することが明らかとなった。

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)

細胞増殖活性, DNA 付加体と発がん過程との関連性を検討するため, 細胞増殖活性および DNA 付加体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。

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)

環境汚染物質の細胞内情報伝達系への影響を調べる目的でサイクリック AMP 情報伝達系への環境汚染物質の影響を検討した。

9. 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継続し, その結果をまとめた。

10. 医薬品規制ハーモナイゼーション推進国際共同研究 (厚生科学研究補助金)

1) 16 の民間研究機関で実施された種々の医薬品についての精巢毒性試験に関して詳細な形態学的解析を行った

結果, 殆どの毒性病変は 4 週間の被験物質の投与により検出可能である事が明らかになった。

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, 用量設定および二種の動物を用いた試験の有用性について検討した。

変異遺伝部

部長 祖父尼 俊雄

概要

平成 7 年 4 月 1 日に第 3 室 (細胞バンク) に主任研究官として増井徹が採用された。第 2 室渡辺雅彦主任研究官は, 昭和 60 年 4 月より 11 年半にわたりニトロアレーン, 芳香族アミンに高感受性なサルモネラ菌株の開発など, 細菌を用いる遺伝子突然変異に関する研究に優れた業績を挙げ, 平成 7 年 9 月 30 日に退所し, 10 月 1 日より国立がんセンター研究所生化学部室長として赴任した。平成 8 年 4 月 1 日に第 2 室に研究員として増村健一が採用された。平成 8 年 4 月 1 日に第 1 室本間正充研究員および第 2 室山田雅巳研究員が主任研究官に昇格した。

平成 6 年 11 月 1 日より HS 財団流動研究員として第 1 室にて研究に従事していた中国華西医科大学張立実助教授が, 培養細胞を用いる小核試験, 遺伝子突然変異試験, FISH 法による研究を終えて, 平成 8 年 3 月 31 日に帰国した。平成 8 年 4 月 1 日より第 1 室に HS 財団流動研究員として東北大学大学院理学研究科王雪が採用された。第 2 室の鈴木任 HS 財団流動研究員は, 平成 7 年 9 月 1 日より科学技術特別研究員として採用され, 引き続き酸化障害に関する修復遺伝子の研究に従事している。

カナダ, グェルフ大学化学・生化学教授の D. Josephy 博士が, 科学技術庁短期 STA フェローとして平成 7 年 2 月 15 日より第 2 室にて変異原・発がん物質に対する個人の感受性に関する研究に従事している。

HS 振興財団の西村和子氏が協力研究員として, 平成 7 年 10 月 1 日より第 3 室にて細胞の培養技術などの研究に従事している。平成 8 年 4 月 1 日より第 3 室の非常勤職員として, 岡戸清に代わり峯岸大輔が採用された。

第 2 室山田雅巳研究員は科学技術庁長期在外研究員として, 平成 7 年 7 月 25 日より, 英国 ICRF, Clare Hall laboratories, Dr. P. Karran のもとで, 遺伝子突然変異の分子機構の研究に従事している。

短期海外出張としては, 松岡厚子主任研究官は平成 7 年 6 月 17 日~7 月 1 日にオランダで開催された第 25 回欧州環境変異原学会で発表し, フィンランド労働衛生研究所でセミナーを行い, デンマークで開催された第 2 回国際水質学会に参加した。

祖父尼俊雄部長は、平成7年7月15日～7月22日にベルギーのブルッセルおよび平成7年10月23日～10月30日に米国のワシントンにおけるICH-3準備会議での遺伝毒性専門家会議に出席した。平成7年8月19日～9月6日まで、祖父尼部長は遺伝毒性試験のヒトモニタリング手法の進展に関する調査のために、チェコのプラハおよび英国のマンチェスターを訪れた。

能美健彦第2室長は平成7年10月12日～10月22日まで、HS財団国際共同研究での一環として、フランス、ストラスブルグ、CNRS、R. Fuchs博士の研究室を訪問し、トランスリジョンDNA合成の実験を行った。

祖父尼部長、能美室長および鈴木孝昌研究員は、平成8年3月18日～3月30日にカナダのヴィクトリアで行われた米国環境変異原学会第27回大会およびトランスジェニック動物による変異原研究のサテライトシンポジウムに参加し、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。本間正充厚生技官は、平成8年3月23日～3月31日にカナダのヴィクトリアで行われた米国環境変異原学会第27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。

林真第1室長は平成8年3月17日～3月27日にフィンランドのエスポおよびベルギーのブルーージュにおいて開催された第12回化学物質安全性評価の手法に関する科学会議およびDIA主催による非臨床・毒性試験における統計手法の国際会議に出席し、発表を行った。

第3室（細胞バンク）では、細胞株の有償頒布のために分譲業務をHS財団（大阪支所）に移管した。これに伴い、主な業務として、FISH/CGH法による細胞株の識別、PCR法によるウイルス検査、正常上皮系細胞の分譲体制の確立、インターネットによる細胞株情報の公開システムの整備などに重点をおいて、マスターバンクとしての機能整備をはかっている。

第2室においては、新しく開発したYG株を国内48アンプル、国外46アンプルを供給し、エームス菌株は国内48アンプル、国外1アンプルを供給した。

研究業績

1. 食品添加物の変異原性に関する研究

6種類の天然添加物について哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験を行った（生活衛生局食品化学課）。

2. 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. 異種遺伝子導入法を用いた新しい変異原性試験系の開発に関する研究

新しいベクターである点突然変異・欠失突然変異検出用

ラムダーファージが組み込まれたトランスジェニックマウスを作製し、自然突然変異頻度ならびに γ 線およびENUによる誘発突然変異頻度を比較すると共に、DNA塩基配列の解析を行った（HS財団受託研究費）。

4. 化学物質による健康リスク評価法に関する研究

アルキル化剤に対する感受性を決定している2つのDNA修復酵素遺伝子 *ada_{ST}* と *ogt_{ST}* を破壊したサルモネラ菌株を作製した。この菌株では自然突然変異頻度が上昇すると共に、数種のアルキル化剤に対して高い感受性を示した（生活衛生局生活化学安全対策室）。

5. 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の試験プロトコルを吟味するために、染色体異常試験において短時間処理では陰性であるが長時間処理では陽性な化学物質などを取りあげ、検討を行った（労働省化学物質情報課）。

6. トランスジェニックマウスを用いた変異原性試験に関する研究

DMNによる *in vivo* 遺伝子突然変異の臓器特異性をBig Blue™マウスを用いて検討した。DMNの発がんの標的臓器である肝臓、腎臓および肺において有意に高い突然変異頻度が認められたが、非標的臓器である骨髄、膀胱、精巣では認められなかった。

7. 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について2回目の共同研究を行った。23物質について検討したところ、明らかな陽性が8（34.8%）物質、不確定が5（22.7%）物質、陰性が10（43.5%）物質あった。陰性と判断された物質の中には通常の3時間処理ではなく、24時間連続処理で陽性となるものがあつた（薬務局審査課）。

8. 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

魚類の赤血球を用いる小核試験を河川魚に適用し、指標魚の生育場所および季節による変動について検討した。海水魚についても小核赤血球誘発の季節変動について検討した。また、ウニの初期発生胚を用いる小核試験ならびに貝類を用いるDNA損傷を検出する手法について実施した（国立機関公害防止等試験研究費、環境庁）。

9. 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* 遺伝子を組み込んだプラスミドを直接ガンマ線照射し、これを大腸菌に導入して変異体を検出した。生じた突然変異の塩基配列を解析したところ、主にG:C塩基対に変異が起こっていることが明らかになった（国立機関原子力試験研究費、科学技術庁）。

10. 突然変異誘発機構の生化学的解析に関する研究

MucB, SamB, HisTag-MucB, GST-MucBの精製

ならびに変成/再生実験を行い、緩衝液中で比較的安定に存在する標品を得た(文部省科学研究費)。

11. DNAの酸化的障害に対する修飾機構に関する研究
分裂酵母と出芽酵母について8-hydroxyguanine DNA glycosylaseの活性を比較した(科学技術特別研究員研究費)。

12. 発がん・老化に対する生体防御機構に関する分子生物学的研究

大腸菌の8-hydroxyguanine DNA glycosylaseをコードする *mutM* 遺伝子の発現調節機構について検討した(科学技術特別研究員研究費)。

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 P53 遺伝子に異常をもつヒトリンパ球由来の WTK1 細胞は、染色体レベルで遺伝的に不安定であり、欠失、組み換え、転座などの変異が高頻度に誘発されることが明らかとなった。

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. 研究資源としてのヒト正常上皮細胞(ケラチノサイト)の培養系の確立と分譲システムの確立に関する研究

正常ヒト上皮細胞の初代培養系を確立するために、正常子宮組織片からの outgrowth 培養法を採用し、最適培養条件の検討、細胞増殖動態の解析、凍結保存の影響などについて検討した(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

培養細胞についての画像情報を利用できるイメージデータシステムの構築を行った。顕微鏡画像をフィルムスキャナーやイメージスキャナーを用いてデータ化し、インターネットによるアクセスを可能とした。平成7年度期末で月平均400以上のアクセス件数がある(厚生科学研究費補助金事業)。

17. 培養細胞マスターバンクの維持に必須な品質管理手法の開発に関する総合的研究

培養細胞株の高精度な品質管理のために、PCR法によるウイルスおよびマイコプラズマの効率的な検出法の開発を行った。ウイルスとしては牛下痢症ウイルス(BDV)を取りあげ、合計19種の細胞株について検査したところ、14種においてBDVが検出された。一方、マイコプラズマはすべての検査細胞株において検出されなかった(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、3名で構成されている。平成7年6月30日付で、會田喜崇主任研究官が退職し、後任として広瀬明彦技官が毒性部より異動し、着任した。

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OECD主催の「化学物質の暴露評価に関する国際会議」(平成7年6月、ドイツ)、「第23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7年10月、フランス)、「IPSC/OECD 合同の化学物質に関する評価文書作成に関する会議」および「OECD第24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8年2月、フランス)に出席した。また、広瀬明彦技官は平成8年2月3日から10日まで米国で開催された第14回「環境の人体に及ぼす影響に関する国際シンポジウム」に参加し、リスクアセスメントに関する情報交換を行った。

化審法GLPの査察には、当室から4カ所、延べ6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、1993年度から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、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7年度は、計画の4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、5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となっていたが、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、さらに審査結果のデータベースへの入力を行っているが、本年度はスクリーニング毒性124物質、高分子化合物69物質、良分解性物質37物質の計230物質についての審査が実施され、その内45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。本システムは一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16品目について、急性毒性試験22件、28日間反復投与毒性試験17件、反復投与毒性/生殖毒性併合試験11件、簡易生殖毒性試験9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854品目のスクリーニングデータを入力し、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。今後、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流涎と精巣毒性について、投与物質との構造活性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. 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、さらに染色体異常試験や小核試験などについて、予測システム構築のためのデータ入力を行い、検討を継続している(厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告)。

大 阪 支 所

支所長 小 川 義 之

厚生省所管の国立試験研究機関の重点整備・再構築計画の一環として、大阪支所の発展的改組により、「国立厚生科学基盤技術開発研究所(仮称)」を創設することとなっている。当該研究所の創設に向けて平成8年4月に、厚生省大臣官房審議官を座長として「国立厚生科学基盤技術開発研究所(仮称)のあり方に関する検討会」が発足し、概ね1年をめどに検討されることになった。本創設計画と連動して、国立衛生試験所における組織再編計画の策定と具体化も始まることとなる。

大阪支所を取り巻く最近の状況は慌ただしく、皮肉なことに、地元の大阪でも従来はあまり知られていなかった大阪支所の存在は、新研究所創設との関連でマスコミ等を通じて広く知られるようになった。現在大阪支所で行われている検定・検査、標準品製造等の業務は、見直しを含めて本所での継続が図られるよう計画立案をすることが迫られ

ている。

このような状況下にある大阪支所ではあるが、現在のところ所員はいたずらに動揺することもなく、精勤に業務に励んでいる。平成7年10月から大阪支所内の一画で開始されたHS財団によるセルバンク事業および従来から存在する公定書協会分室での標準品配布事業に携わる職員の方々とも交流し、支所全体としては若手の女性の存在が目立つ明るい雰囲気があるといえる。

本年度も大阪支所の現在の役割である検定・検査、標準品製造の業務を実施するとともに、研究面においても業務に関連する分野や将来を予測した分野での研究で成果を挙げることができた。

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、医薬品の国家検定102件、医薬品の国家検査101件、食用タール色素製品検査554件、特別行政試験1件について実施し、標準品は医薬品試験用35品目(5,528個)および色素試験用1品目(40個)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、厚生科学研究4件、食品等試験検査費3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。

研修指導は、3試験部に大阪薬科大学学生(9名,3カ月)、摂南大学薬学部学生(12名,2週間)、生物試験部に国際協力事業団研修生(1名,6カ月)、食品試験部に神戸農林水産消費技術センター研修生(1名,3カ月)などに対して行われた。

なお、平成8年3月1日付けで武田 寧前支所長が退職され、引き続き小川義之生物試験部長が支所長に就任した。また、大阪支所庶務課の人事異動は次のとおりである。

- (8.4.1付) 永堀 雅幸 庶務課長(厚生省薬務局経済課流通指導官)
- (8.4.1付) 赤川 俊彦 庶務課課長補佐, 庶務係長・業務係長併任(厚生省薬務局安全課総務係長)
- (8.4.1付) 永久保雅弘 庶務課会計係(総務部会計課予算係)
- (8.4.1付) 相場 正憲 厚生省薬務局監視指導課課長補佐に配置換え(庶務課長)
- (8.4.1付) 笠木直一郎 総務部庶務課課長補佐に配置換え(庶務課課長補佐, 庶務係長・業務係長併任)
- (8.4.1付) 吉田 健二 総務部会計課施設係(庶務課会計係)

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、エマルジ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4期官民共同プロジェクト研究事業の「高機能を有する医用材料の創製・改良・修飾および周辺技術に関する研究」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件数は前年度に比べやや減少し、ブドウ糖注射液の国家検査件数は、大幅に増加した。新規標準品としてセンノシドおよび下垂体性性腺刺激ホルモンの2品目を新たに設定した。

岡田部長、四方田室長、小松主任研究官は、環太平洋国際化学会議1995に出席し、ヒアルロン酸水溶液の高分子物性に関する研究およびリポソーム製剤の凍結乾燥に対する糖の保護効果に関する研究発表を行った(平成7年12月16~24日,ハワイ)。小松主任研究官は、第40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に関する研究発表を行った(平成8年2月10~23日,ボルチモア)。岡田部長、四方田室長、宮崎技官は、第211回ACSシンポジウムに出席し、ヒアルロン酸の特異的な水和現象、金属固体表面での分解反応に関する研究発表を行った(平成8年3月23~30日,ニューオーリンズ)。吉井技官は第8回シクロデキストリン国際シンポジウムに出席し、徐放性製剤の開発に関する研究発表を行った(平成8年3月30~4月7日,ブダペスト)。谷本室長は、ARVO年会1996に出席し、糖尿病合併症の発症とアルドース還元酵素量との関係に関する研究発表を行った(平成8年4月20~28日,フロリダ)。また、谷本室長は医薬品有効成分と中間体に関する国際会議(平成7年11月26~12月3日,フランクフルト)、前川技官は第25回米国神経科学学会(平成7年11月10~18日,サンディエゴ)に出席し、関連研究者との意見交換および情報収集を行った。

人事面では、平成8年4月1日付けで田頭洋子を非常勤職員として採用した。

業務成績

1. 国家検定

ヒトインスリン製剤が102件で、全品合格であった。

2. 国家検査

ブドウ糖注射液が100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

カルバゾクロムスルホン酸ナトリウムを含有する止血剤29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

総合電解質液など輸液製剤8検体につき、粒子径分布、浸透圧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。なお、従来、西日本地区における国内産収納あへんのモルヒネ含量試験を行ってきたが、本年よりこの業務は、薬品部に移管された。

5. 標準品製造

32品目につき、合計3,878個の標準品の製造を行った。また、新規標準品2品目を新たに設定した：センノシド、下垂体性性腺刺激ホルモン。

6. その他

日本薬局方の改正（薬務局研究開発振興課）、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

医薬品の品質管理にあたり、熱分析法で何が可能か、総合的に検証する作業を行った。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、融点または凝固点など相転移現象を解析するための示差熱測定法または示差走査熱量測定法（DSC）、個々の微量不純物を総量として把握するためのDSCによる純度解析法につき検討し、日局一般試験法へ採用のための準備作業を行った。

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、「ビタミンA定量法」改正のための予備調査を行い、改正の方向を定めた。新たに、液体クロマトグラフ法による定量法を採用するための準備を開始した。日局13においては国際単位系（SI）を採用するとの方針により、一般試験法および医薬品各条における単位の見直しを行った。また、容量分析における規定度の廃止に伴い、「容量分析用標準液」の項の全面的な見直しを行い、改正案を作成した。

i-3) 血液凝固系に係わる薬物の活性評価方法に関する研究

トロンピンは溶液状態で極めて不安定であり、このことがその活性評価における大きな変動要因となっている。適

切な活性評価法を確立するためにはトロンピンの安定化を図る必要があり、硫酸多糖によるトロンピンの安定化を試みた。多糖分子の構造単位中の硫酸基の数がトロンピンに対する安定化効果に大きく影響することを明らかにした。

i-4) 医薬品の迅速分析法の確立に関する研究

抗アレルギー薬であるトラニラスト製剤の吸光度法による簡便、迅速な定量法を確立し、薬務局監視指導課に報告した。

i-5) 不正医薬品の鑑別試験法に関する研究

技術移転振興対策事業に係わる医薬品迅速分析法の開発研究の一環として、抗マラリア薬の薄層クロマトグラフ法による鑑別試験法を確立した。

ii) 標準品の品質規格の設定に関する研究

ii-1) センノシド標準品の候補品につき、生薬部を含む5機関での共同実験による品質評価試験を行い、蛍光光度法による定量用のセンノシド標準品を確立した。

ii-2) 平成6年度に新規設定の予定であったヒト成長ホルモン標準品の品質評価試験を終了し、頒布を開始した。

ii-3) そのほか、生物試験部が担当する下垂体性性腺刺激ホルモン標準品の新規設定に協力し、別に低含量エンドキシシン標準品の設定方策につき、調査・検討した。

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

(1) 分子量約240万のヒアルロン酸が、水溶液中で固体金属と接触するとき、分子鎖が切断されることが、GPC-LALLS法による分子量測定より明らかにされた。ステンレス球を用いた実験より、この反応には表面積依存性があり、溶出した金属イオンによるものではないことが確認された。また、この反応はラジカルスクベンジャーであるマンニトールの添加により抑制されることから、ヒドロキシラジカルの関与するラジカル分解反応であるものと推察された。

(2) 示差走査熱量測定法（DSC）により、ヒアルロン酸の対イオン種の変化により、ヒアルロン酸に強く結合する不凍水量の変化はほとんど観察されないが、高分子鎖周辺に束縛される水の量（束縛水量）が増減することが明らかとなった。また、ヒアルロン酸ゲル中での物質移動も共存するカチオン種により、影響されることが明らかとなった（HS受託研究費）。

3. 分散系製剤の品質評価とその有効利用に関する研究

(1) リポソーム製剤の長期保存法として凍結乾燥法を応用する目的で、マルトースによる凍結保護作用のメカニズムにつき検討した。その結果、脂質の親水基への水和水分子が凍結乾燥過程においてマルトースと置換することで、その凍結保護効果が発現されるものと推察された。また、マルトースの存在は、膜脂質のゲル-液晶相転移温度を低下させること、脂質/マルトース/水三成分系における水分

量の低下につれ、マルトースのガラス転移温度の上昇が明らかとなり、凍結乾燥過程での水分子のマルトースへの置換には、リポソーム膜が液晶状態であり、マルトースがガラス状態であることが必須の要件になるものと推定された (HS 受託研究費)。

(2) アルコール殺菌の機構解明に関する研究

大腸菌内膜の主要な構成脂質ホスファチジルエタノールアミンとレシチンからなる混合リポソーム膜を調製し、内封した蛍光色素カルセインの保持率を指標として、共存するエタノールの膜透過性への影響につき検討した。その結果、エタノールにより誘起された指組み構造膜 (Interdigitated Structure Membrane) と通常の2分子膜が共存する膜の相分離状態において、異常に大きな膜透過性が観察された。膜の相分離状態において、相の境界領域で膜は局部的に不安定となり、物質透過性が亢進するものと推定された。

4. 創薬基盤技術の開発に関する生物化学的研究

(1) 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

ビリルビンオキシダーゼは極めて不安定であるが、ポリエチレングリコールで修飾することによって熱、pH、蛋白分解酵素などに対して強い抵抗性を獲得し、安定化されることが明らかになった (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

罹病期間10年以上の糖尿病患者における網膜症の発症は赤血球アルドース還元酵素量に依存して増加することを明らかにし、アルドース還元酵素量の測定がポリオール代謝異常に基づく糖尿病性網膜症の発症予知マーカーになりうる可能性が示唆された。

食品試験部

部長 柴田 正

概要

昨年に引き続き当部の主要業務である製品検査、輸入食品検査および色素標準品製造ならびに残留農薬の分析等に関する研究、食品添加物の安全性に関する研究業務を行っている。また第7版食品添加物公定書 (1997) の作成に協力している。

海外泰秀第1室長は国際協力事業団によるタイ国食品衛生強化プロジェクト短期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7年7月7日~10月6日)。また津村ゆかり技官は平成8年1月京都大学より「食品中の残留農薬とその反応物の同時分析法の開発および応用研究」で京都大学博士 (薬学) を授与された。

業務成績

1. 製品検査

食用タール色素 554 検体 (平成7年4月1日~平成8年3月31日) について検査を行った。不合格検体はなかった。

2. 輸出入検査

かんびん詰 (瓶詰ラッキョ、うずらの卵水煮缶詰) 2 検体の EDTACa₂Na の 2 試験項目とパスタソース 1 検体のポリソルベートの 2 試験項目を検査した。

3. 標準品製造

ファストグリーン FCF (食用緑色3号) 1 品目、450 個を製造した。

4. 研修について

農林水産省大阪食糧事務所の技官 2 名の 1 カ月研修 (平成7年6月5日~6月23日) および農林水産省神戸農林水産消費技術センター技官 1 名の 3 ヶ月研修 (平成7年10月2日~12月27日) 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 4 名の 2 週間の研修を行った。

研究業績

1. 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

a) 農作物中のベンフラカルブ、カルボスルファン、カルボフランおよび3-ヒドロキシカルボフランを同時に抽出し、GC および HPLC で測定する分別定量法を検討した。ベンフラカルブおよびカルボスルファンは試験溶液中に食品成分が共存すると、GC 測定時にカルボフランに分解するので、分解防止には試験溶液を Sep-Pak フロリジルなどで十分にクリーンアップする必要があった。

b) GC 法による玄米中の各種農薬の簡易、迅速な系統分析について検討した。玄米中有機リン系 43 種、有機窒素系 24 種、有機塩素系 14 種およびピレスロイド系 11 種、合計 92 種類の農薬について GC による系統的分析法を検討した。本法により米国、中国およびオーストラリアから輸入された玄米 246 検体について検査し、GC/MS で確認した結果、米国产 3 検体、中国産 6 検体よりマラチオンが 0.01~0.1 ppm の範囲で検出された。

c) 畜肉中の残留有機塩素系農薬および合成抗菌剤の系統的分析法ならびに合成抗菌剤の GC/MS による確認法の検討を行った。畜肉中の 7 種有機塩素系農薬および 13 種合成抗菌剤を試料からアセトニトリルで同時に抽出し、それぞれをクリーンアップした後、前者は ECD-GC、後者は UV-HPLC で測定し、スクリーニングする方法について検討した。実試料から検出された NCZ を GC/MS で確認し、TMP についても GC/MS による確認法を作成した (食品等試験検査費、生活衛生局食品化学課)。

② 残留農薬基準告示分析法に関する研究

昨年度検討したプロモブチドおよびプロモブチド脱臭素体等 15 種の化合物の一斉分析法を用いてフェナリモルとレナシルを定量し、これらにも適用可能であることを示した。穀類は 10.0 g, 果実, 野菜は 20.0 g をとり, アセトンを加え抽出した後, 酢酸エチルに転溶した。酢酸エチル溶液を脱水して濃縮し, 穀類はアセトニトリル・ヘキサン分配で脱脂した後, 抽出溶液とした。抽出溶液をフロリジルカラムで精製した後アセトンを加えて正確に 5 ml とし, FTD-GC で測定して農薬を定量した。フェナリモルとレナシルの 10 種農産物への添加回収率 (添加量: 果実・野菜は 0.1 ppm, 穀類は 0.2 ppm) は 72.8~92.2%, 検出限界は 0.01 ppm であった。

また, イネ白葉枯病殺菌剤テクロフタラムの告示分析法を検討した。登録保留基準の方法に対して, ①カラムクロマトグラフィーの溶離液として毒性が強いベンゼンの使用を避けた, ②ガスクロマトグラフィーのカラムとして, パックドカラムに替わってキャピラリーカラムを採用した, ③テクロフタラムイミドがガラスインサートに吸着する現象を見だし, 対処法を示した, の 3 点を改良した。玄米試料をアセトン抽出した後, 酢酸エチルで再抽出し, *n*-ヘキサン/アセトニトリル分配で脂質を除去し, 無水酢酸を加えて 50℃で 20 分間加熱してイミド化反応を行った。 *n*-ヘキサンでテクロフタラムイミドを抽出し, Florisil カラムに負荷した。10%酢酸エチル/*n*-ヘキサンでテクロフタラムイミドを溶出させ, キャピラリーカラム (DB-1) を装着した電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ (ECD-GC) を用いて定量した。玄米への添加回収率は, 0.2 ppm 添加でテクロフタラムは 79.2±4.3% (3 試行), テクロフタラムイミドは 79.3±3.4% (5 試行) であった。本法の検出限界は試料中 0.01 ppm である (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

イネ白葉枯病殺菌剤テクロフタラムおよび植物体中での代謝産物であるテクロフタラムイミドを分別定量する方法について検討した。

玄米試料をアセトン抽出した後, 酢酸エチルで再抽出し, *n*-ヘキサン/アセトニトリル分配で脂質を除去し, Sep-Pak Florisil カートリッジに負荷した。初めに 50% ジエチルエーテル/*n*-ヘキサンでテクロフタラムイミドを溶出させ, 次にメタノールでテクロフタラムを溶出させることによって両者を分離した。テクロフタラムイミドはキャピラリーカラム (DB-1) を装着した電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ (ECD-GC) を用いて定量した。テクロフタラムは遊離カルボン酸であるため, 無水酢酸を加えて加熱し, イミド体に変換した後に ECD-GC で定量した。

GC 分析に関しては, ピーク面積の変動に注意する必要

があった。テクロフタラムイミドのピーク面積の変動は非常に大きく, 玄米の抽出液を注入した直後に感度が高くなる傾向があった。これはテクロフタラムイミドがガラスインサートに吸着するためと考えられた。シラン処理したガラスインサートを用いた場合は, 高感度が得られたが変動幅が大きかった。未処理のガラスインサートを用いると, 約 20 回玄米抽出液を注入した後に感度が安定化した。いずれのインサートを用いても, 安定化した後にはほぼ 4% 以下の誤差で定量することができた。テクロフタラムの分析に当たっては, 標準溶液だけでなく試料抽出液も注入し, 繰り返し測定の測定値が安定化したことを確かめて分析を行う必要があると考えられた (食品等試験検査費, 生活衛生局食品化学課)。

④ 残留農薬迅速分析法の開発

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, トラルメトリン, フェンバレレート, フルシトリネート, フルバリネート, ペルメトリン, ピレトリン) の食品からの迅速分析法について検討を行った。

まず, ばれいしょ, ほうれんそう, 玄米について, 酢酸エチル/シクロヘキサン混液 (1:1, v/v) を移動相とするゲルろ過クロマトグラフィー (GPC) によるクリーンアップ効果を調べた。抽出, ミニカラムによる精製法および定量法は昨年度と同様である。10 種ピレスロイド系農薬は 70~90 ml の画分に溶出した。3 種農産物での添加回収実験では, 回収率を上げるため GPC での分取画分を 65~95 ml に設定したところ, 0.2~0.4 ppm 添加時の各農薬の回収率はシハロトリン 83.4~88.4%, シフルトリン 77.6~92.8%, シベルメトリン 81.5~88.2%, デルタメトリン 91.4~105%, トラルメトリン 90.2~118%, フェンバレレート 88.0~112%, フルシトリネート 79.5~93.6%, フルバリネート 89.3~130%, ペルメトリン 72.2~84.4%, ピレトリン 70.1~86.6% であった。ガスクロマトグラム上で定量を妨害するピークは馬鈴薯およびほうれんそうでは殆どなかったが, 玄米の場合は脱脂が不完全で夾雑ピークが存在した。

次に, りんご, ばれいしょ, オレンジ, キャベツ, ほうれんそう, 玄米の 6 種の農産物について, 上記の 10 種ピレスロイド系農薬の添加回収実験を行った。試料 (野菜および果物は 20 g 相当, 玄米 10 g は倍量の水で 2 時間以上膨潤させたもの) をアセトン抽出し, 減圧濃縮した後, 塩化ナトリウムを加え, Chem Elut CE2050 に負荷し, 酢酸エチル 300 ml で溶出した。溶出液について, 野菜および果物は GPC で精製し, 玄米は GPC あるいは Extrelut/Sep-pak C₁₈ で脱脂した。ただし GPC の分取区間は 70~140 ml (フルバリネートの 50% 以上が溶出しキノメチオネートが 100% 溶出する区間) とした。ミニカラムによる

精製は Sep-pak Silica あるいは Bond Elut SAX+PSA 次いで Sep-pak Florisil で行った。溶出液について ECD-GC で定量し、各方法での 0.2~0.4 ppm 添加時の 10 種農薬の添加回収率および精製効果を比較した。

野菜、果物での回収率は、Sep-pak Silica カラムを用いた場合、ばれいしょで 38.1~72.3%，りんごで 54.9~90.8%，オレンジで 55.6~98.3%，キャベツで 25.1~79.7%，ほうれんそうで 50.6~120.8%，Bond Elut SAX+PSA カラムを用いた場合、ばれいしょで 37.6~67.8%，りんごで 50.5~95.7%，オレンジで 52.8~95.7%，キャベツで 23.0~80.0%，ほうれんそうで 48.0~106.9% であった。Bond Elut SAX+PSA カラムではクロロフィル除去効果があったが、回収率自体は Sep-pak Silica カラムの方がやや良好であった。玄米の脱脂効果は Extrelut/Sep-pak C₁₈ 法が GPC より大であった。玄米での回収率は、GPC で脱脂を行った場合、Sep-pak Silica カラムを用いると 86.7~125.4%，Bond Elut SAX+PSA カラムを用いると 73.0~101.9%，Extrelut/Sep-pak C₁₈ 法で脱脂を行った場合、Sep-pak Silica カラムを用いると 77.9~114.2%，Bond Elut SAX+PSA カラムを用いると 87.8~104.8% であった（食品等試験検査費，生活衛生局食品化学課）。

2. 食品添加物等の安全性に関する研究

① 食品添加物の製品検査等の規格に関する試験法の作成

公定法では R-40 のみ純度試験として未反応原料，反応中間体および副生色素の規格，試験法が設定されている。まずアゾ系食用タール色素 (R-2, R-102, Y-4, Y-5) 中の副性色素および夾雑物の HPLC 法による分析法を検討した。数種の市販試料を試験したところ，R-102 の 2 種は WHO 規格以上の反応中間体を含有していた。

また，公定法のアルミニウムレーキ中のバリウム試験法は灰化した検液を硫酸バリウムとし，標準液を対象に肉眼で濁度を比較する方法である。そこで改良法として試料を硝酸に溶解し，ICP を用いて定量する方法を検討し，高感度で試験者によらない方法を確立した。

さらに，可視光線照射下における安定性を検討した。青色 2 号 (インジゴカルミン) にフェニルアラニン存在下で光照射を行うと水酸化物が生成した。分解反応機作を解明するためスーパーオキシドディスムターゼ，カタラーゼおよび一重項酸素の捕捉剤の添加を行った。その結果，好気的条件下で光照射することによりヒドロキシラジカルが生成すること，またヒドロキシラジカルはスーパーオキシドラジカルと過酸化水素との反応により生成することが明らかとなった（食品等試験検査費，生活衛生局食品化学課）。

② 食品中の添加物の分析法に関する研究

天然に存在する食品添加物の分析法作成の一環として，フェノール系酸化防止剤の電気化学検出器 (ECD) 付 HPLC による分析法を検討した。

食品中のカテキン，セサモール，フェルラ酸，モリンを同時試料調製法により調製し，かつ同一 HPLC 条件にて分析する方法を作成した（食品添加物規格基準設定費，生活衛生局食品化学課）。

③ 化学的合成品以外の食品添加物の規格基準に関する研究

化学的合成以外の食品添加物である抽出トコフェロールの規格基準作成の一環としてミックストコフェロールを逆相カラムを用いて分離定量する方法を開発した。検量線は 2~200 ng の範囲で直線関係が得られた。製剤オイル試料に無水エタノールを加えて溶かし，冷却後メンブランフィルターでろ過し，試料液とした。

この方法を用いて市販 6 種のミックストコフェロール製剤中の各トコフェロールの含有量は α : nd~38.7%， β : nd~1.6%， γ : 3.9~39.6%， δ : 6.7~73.9% であった。

また食品中のカテキン，セサモール，フェルラ酸，モリンの分離定量条件を検討し，冷菓，ふりかけ，サラダ油，ゴマ油中の含量を測定した（食品添加物規格基準設定費，生活衛生局食品化学課）。

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

農作物中の 8 種トリアジン系農薬の FTD-GC による一斉分析法の開発，GC および GC/MS による農作物中のフェノキシ酢酸系除草剤の一斉分析法の開発，食品中の指定外添加物ポリソルベートおよび *t*-ブチルヒドロキノンの分析法の開発，各検査機関の検査法についてバリデーションと内部品質管理に関わる評価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。その結果各種輸入食品中に残存する主要除草剤の系統的分析法を確立した。さらに違反件数の多い指定外添加物である乳化剤のポリソルベートおよび酸化防止剤の *t*-ブチルヒドロキシキノロン (TBHQ) の試験法を確立した。また，分析法の評価法を確立するとともに FAO/WHO 合同食品規格委員会の食品輸出入検査および認証制度部会 (CCFICS) シドニー大会 (1996.2.19~23) に参画し，食品安全確保における国際協力について調査した（厚生科学研究費補助金，生活衛生局食品保健課）。

4. 新開発食品素材の健康障害に関する研究，

ギムネマ・シルベスタの健康障害に関する研究（文献調査研究）

ギムネマ・シルベスタ (*Gymnema sylvesta* R. Br) はインド，東南アジア，中国南部，熱帯アフリカ，オーストラリアに自生しているががいも科の蔓生植物であり，

インドの伝統医学アーユルヴェーダ生薬として2000年以上前から利尿，糖尿，健胃，強壯剤として使用されてきた。含有される生理活性物質の中で，ギムネマ酸およびコンズリトールAは糖質吸収抑制作用および血糖値上昇抑制作用が報告されている。ギムネマシルベスタ葉およびその抽出物を含む健康食品は糖吸収抑制作用があるためにダイエットおよび糖尿病に予防効果を発揮するとのことで広く普及している。一方で摂取方法によっては健康障害の起こる可能性も否定できない。

ギムネマ酸の生理作用については既にかなり詳細な報告がなされているので，文献調査の結果を基にラットを用い，特にコンズリトールAについて有効量，副作用発現量および機作等に付き検討する（厚生科学研究費補助金，生活衛生局食品保健課）。

生物試験部

部長（支所長事務取扱）小川 義之

概要

研究業務としてヒューマンサイエンス振興財団による第4期官民共同プロジェクト研究（1件）ならびに第2期「創薬科学総合研究事業」（1件），健康地球研究計画推進研究事業（1件）のほか，厚生省特別研究（1件）などを中心に取り組んだ。

海外出張は，村井敏美第一室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の技術指導のために，平成7年11月16日～12月15日まで天津市医薬品検査所へ短期出張した。江馬 真第二室長は米国での国際毒性学会で可塑剤についての成績を発表した（平成7年7月2日～6日）。さらに，江馬 真第二室長と原園 景技官は米国での毒科学会第35回年会で可塑剤の代謝物についての成績を発表した（平成8年3月9日～19日）。また，天野博夫主任研究官は，米国での国際神経科学会第25年会において中枢神経系情報伝達におけるPI-3キナーゼの役割について情報交換を行った（平成7年11月10日～18日）。

海外からの研修生として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の一環として，天津市医薬品検査所から苑 慶華氏が平成7年5月8日～11月12日まで生物検定に関する研修を行った。その他の研修指導としては，例年のように大阪薬科大学学生3名（3カ月）と摂南大学薬学部学生4名（2週間）を受け入れて行った。

人事面では，平成3年より5年間その任にあられた武田 寧大阪支所長が退職され，平成8年3月1日付けで，小川 義之部長がその後任に任ぜられた（生物試験部長事務取扱併任）。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2室に配属された。

業務成績

1. 国家検定
ヒトインスリン製剤102件（生物試験，無菌試験）で，全品目とも合格であった。
2. 国家検査
ブドウ糖注射液100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）で，全品目とも合格であった。
3. 特別行政試験
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。
4. 標準品製造
エンドトキシン1,500個，胎盤性性腺刺激ホルモン100個をそれぞれ製造した。なお，下垂体性性腺刺激ホルモンを企業3社の協力を得て新規に製造した。
5. その他
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，生化学試薬およびエンドトキシン試験用水の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
WHOのエンドトキシン国際標準品のロット更新と3局が各々有するエンドトキシン標準品の国際調和を図る国際共同検定には，我が国から7機関の参加を得て行った。
2. サイトカイン産生誘導因子エンドトキシンの検出手法のシステム化に関する研究
培養マクロファージからの発熱性サイトカイン産生を主体反応とする *in vitro* 発熱性物質試験法の開発のための基礎研究として，マクロファージの反応と生体の発熱反応との相関性について検討し，両者の相関性を実証する知見を蓄積した。また，試験法の標準化を目指して，マウスのマクロファージ様細胞株の適用について検討し，株化細胞では比較的安定した成績が得られるが，エンドトキシンに対する感受性は動物から用時採取したマクロファージよりも低いことが判明した。さらに，感受性および動物種差の問題を考慮し，ヒト由来のマクロファージ細胞株の開発を進めている（ヒューマンサイエンス振興財団：受託研究費）。
3. 医薬品等の有効性，安全性に関する研究
 - (1) 可塑剤 butyl benzyl phthalate および dibutyl phthalate のラットにおける主要な代謝物の一つである mono-n-butyl phthalate (MBuP) をラットの器官形成期に投与して，その発生毒性を検討した。発生毒性（胚致死作用および催奇形性）があることが明らかになった。
 - (2) Butyltin trichloride, dibutyltin dichloride および tributyltin chloride の発生毒性の感度および発現様式は異

なることが示唆された。

(3) Di-n-butyltin dichlorideは *in vitro* における着床後のラット胚に対して胚毒性を有し、また、奇形誘発作用をも有することが明らかになった。

(4) Dibutyltin dichloride, tributyltin chloride および tetrabutyltin では発生毒性の発現様式およびその強さが異なることが示唆された。

4. ラット脱落膜反応を用いた発生毒性検出システムの検討

偽妊娠ラットの脱落膜反応を用いた胚致死作用検出法の検討に用いる化学物質として tributyltin chloride (TBT-Cl) を選定し、その発生毒性、特に胚致死作用について検討した。TBTClは妊娠初期に投与したとき着床阻害を起こすことが明らかになり、また、TBTClは着床を阻害するが、着床が成立した妊娠ラットにおいてはその後の胚の生存には影響が少ないことから、着床終了においては母体または胚のTBTClに対する感受性が高いことが示唆された(厚生省特別研究「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」での分担研究)。

5. 培養細胞の研究資源化に関する基盤的研究

評価科学領域における諸種培養細胞の研究資源化を目的として以下のような研究を行った(平成7年度厚生科学研究補助金による健康地球研究計画推進研究:薬品試験部, 勸発酵研究所, 京大分子作用制御学講座との共同研究)。

(1) 細胞分化モデル系として、血球分化モデル系(U937細胞)および神経分化モデル系(PC12細胞)を選び、それぞれの系について、細胞分化に伴って発現量が一過性に増加するストレスタンパク質(HSP)を特定した。また、U937細胞では、分化の過程においてそのようなHSPの一部が細胞質から核内に移行するという知見を得た。これらのHSPは分子シャペロンとして、細胞分化の制御に関わるタンパク質と会合し、それらの機能発現を調節しているのではないかと考えられた。

(2) 薬物などの適用に対する細胞応答の指標として特定遺伝子の発現を検出し、これを生理活性、薬効、毒性等の評価法へ応用することを目的として、数種の生体内物質について、PCR法、*in situ*ハイブリダイゼーション法などの基礎的検出法を開発した。

(3) 中枢神経系など、特殊な組織に作用する物質の研究や、既存の細胞株を利用できないような物質の生体影響評価など、特定の研究用途を指向した細胞を、機能性初代培養細胞の不死化、既存株細胞への受容体遺伝子の導入等の方法により開発し、新たな研究資源とする試みを行った。

6. ヒト正常細胞の不死化およびラットに由来する多分化能を保持する中枢神経系幹細胞の培養化

初代培養ラット神経上皮幹細胞(NS細胞)にMC24レトロウイルス処置によりmyc遺伝子を導入し、NS細胞

を不死化する試みを行った。ラット12日胚より調製した初代培養細胞を播種後の接着期にウイルス処置し、無血清培地中にて長期培養を行った。ウイルス処置を受けた細胞は、無処置のものに比較して接着性コロニーを形成する割合が著明に減少し、多くの細胞は浮遊性の細胞塊を形成しながら増殖した。少数の接着性コロニーは無処置のものと同様突起伸展性の細胞を派生したが、これらの細胞は派生後約3カ月にわたって健全な形態を保ちかつbFGF添加無血清培地中で増殖性を示した。現在、浮遊性細胞、接着性細胞の両者についてマーカー遺伝子・蛋白の発現、分化能などの性質を検討している(HS財団:創薬総合研究事業, 岡山大学医学部, 予研, 勸発酵研究所と共同研究)。

北海道薬用植物栽培試験場

場長 島山好雄

概要

創立以来30有余年にわたって行われてきた職員の宿日直が廃止され、日直は平成7年9月30日、宿直は同12月31日をもって終了した。その対策として実施された施設整備については、1. 門扉およびフェンス工事 2. 温室自動散水装置 3. 自動総合気象観測装置の中、1・2のA温室分および3は11月28日、2のB温室分は12月20日に工事完了した。

人事面では、栽培試験場行(二)研修旅行の一環として、澤井清道作業長が平成8年3月13~15日まで伊豆試験場において研修を行った。

研究業務としては、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ない、「ゲンチアナ」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」を実施した。併せて、厚生科学研究費補助金による「老人医療に用いられる生薬・漢方薬についての基礎研究」および「薬用植物種子の長期保存方法等に関する研究」を行い、各報告書を作成した。

平成8年3月18日付で当試験場育成のシャクヤク薬用品種「北宰相」が品種登録された。

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7年7月27日に下川町サンルで開催され、一般耕作者および麻薬課・道庁・麻薬取締官事務所など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の確立に関する研究
有機物施用試験の最終年（第三年次）に当たる。A：フミトップ（有機質資材）10+化成肥料5 kg/a, B：下川炭素（土壌改良剤）10+化成肥料5 kg/a, C：化成肥料10 kg/aの3区を設け、収量および収量構成要素、養分吸収量、3作後の土壌化学性などを調べた。有機質資材の連用効果は乾物生産に対しては見られない。アヘン収量は処理間の差は小さく、年次間変動が大きかった。収量構成要素に対する処理の影響もほとんど見られず、アルカロイド含量も処理間に差はなかった。

ケシの1株当り養分吸収量はN 0.8 g, P₂O₅ 0.6 g, K₂O 2.0 g, CaO 1.2 g, MgO 0.2 gであり、10,000を乗じた値が10a換算量となる。

3作後の土壌化学性については、K₂O・CaO・MgO・Humus含量およびCECを調べたが、その中、CECにおいてAがB、Cより有意に大きかった。

2. カンゾウの栽培および育種に関する研究

Glycyrrhiza glabra (line 1), *G. uralensis* (line 2, 3), *G. glabra glandulifera* (line 4)の生育特性を調べた。*G. glabra*の2系統はストロンと根がほぼ同長であるのに対し、*G. uralensis*ではストロンがよく伸長し、根長よりも大きかった。1株当りの地下部重は各400gと200gで、前者の方が2倍近い個体収量をあげうるが、T/R ratioは後者の方が大きく、生産効率が高い。各系統とも乾物率が40~50%と非常に高いのは注目し値する。

グリチルリチン含量はストロンと根の間に差がなく、4系統とも2~2.5%を示したが、日局XIIIでは2.5%以上と規定されており、今後課題を残した。

3. センキュウのマルチ試験

マルチ栽培のための栽植密度および緑色マルチの有効性の検討を行った。マルチ区は無マルチ区に比べて、株当りの親イモ重・子イモ重とも上回る推移を示した。栽植密度については、株間を15cmにするとイモ重が減少する傾向が見られた。10a当りの収量はマルチ区のそれが無マルチ区の1.2~1.4倍あり、マルチングが明かな増収効果を示した。収量は株数と個体重の2要因より成るが、株間25cmに広くすると、個体重は大きい株数の減少効果がより大きく、株間15、20cmの両区より減収となった。

筑波薬用植物栽培試験場

場 長 西 孝三郎

概 要

人事関係では、平成7年10月1日付で、根本泰行（行二）が新規採用になり、平成7年8月21日付で、江崎勝

司主任研究官が、本所の生薬部との併任となった。また、平成8年4月1日付けで高田正義庶務課長が本所の業務課長に異動になり、後任に本所の遠山中夫庶務課長補佐が就任し、滝田秀生庶務係長が薬務局麻薬課に異動になり後任に薬務局経済課の矢澤達哉が就任した。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、薬用植物の不定胚誘導系の確立を行い3ヶ年の研究を終了した。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、本年度より新たに「大量培養を指向したスケールアップ時の律速因子の解明」および「薬用植物の人為的交雑種における遺伝子の発現機構に関する研究」を開始した。また、厚生科学研究費補助金により「薬用植物種子の長期保存方法等に関する研究」、「けしがら抽出物の製法に関する研究」、「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」および「毒物等誤嚥時の初期治療薬の開発研究」に関する研究も実施した。その他、厚生省麻薬課の委託研究「けしの直接抽出法に関する研究」および「生態系農業に基づくけし栽培法の確立に関する研究」、厚生省研究開発振興課の委託研究である「薬用植物栽培・品質評価に関する栽培試験」を実施した。

平成6年11月1日から、流動研究員として「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」を行っていた佐々木和生は平成8年2月29日付けで退職し、青森大学工学部に就職した。また、海外研究員として受け入れていた韓国全南大学のDr. Jun Cheul Ahnが平成7年8月31日、科学技術庁フェローとして受け入れていたSingapore Polytechnic (Chemical Process & Biotechnology Department)のMs. Wendy Soo Ching Shuが平成8年2月6日、それぞれ研修を終わり帰国した。

平成8年4月1日付けで、中西 史研究員が「大量培養を指向したスケールアップ時における律速因子の解明」の研究を行うため(株)ヒューマンサイエンス振興財団の流動研究員として採用された。

平成8年3月6~7日、当試験場の会議室において、寺尾所長、齊藤副所長、佐竹生薬部長、福永総務部長出席のもと、平成7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、平成7年度試験研究業務報告および平成8年度試験研究計画等について討議を行った。

平成7年7月12日、昨年に引き続き「第5回薬用植物栽培技術フォーラム」を開催した。荻原幸夫名古屋大学教授、白井義数国産生薬(株)代表取締役および韓国の農村振興庁作物試験場から主任研究者Dr. Nak Sul Seongを招き、特別講演を行ったほか、神田博史広島大学助教授の講演、当所の5試験場の研究報告、高知県のミシマサイコ

の栽培および茨城県金砂郷村のミシサイコの産地化等についての講演を行った。全国から約150名の参加者があり、盛況のうちに無事終了した。

海外出張は、柴田室長が平成7年9月8日から同年9月24日まで、中国(四川省、吉林省)に出張し、生薬植物の栽培地視察、栽培・加工処理および品質に関する指導、学術交流を行った。また、下村室長は平成8年2月26日から同年3月2日まで、シンガポールに出張し、国立シンガポール工芸大学の薬草園開園式で特別講演を行い、また、当該大学のスタッフならびに学生に講義を行った。

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4381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) キバナオウギの根の生育に及ぼす栽培圃場の耕起条件の影響

直根性の生薬を高収量で生産するため、圃場の耕起条件の相違が生育・収量に及ぼす影響について栽培試験を実施した。

その結果、トレンチャーで耕うんした場合、主根長は80cmに達し、分枝根が有意に少なく、直根性の根が得られたが、他の方法ではいずれも主根長は約40cmで、分枝根も多かった。土壌硬度を比較すると、トレンチャー区がやく3kg/cm²と低く、バックホー区がこれに次ぎ、30cmまではトラクター区がこれについて低い値であった。キバナオウギの場合、6~10kg/cm²以上の硬度では根端の生育が阻害されることが推測される。また、土壌の三相分布の比較では、深さ50cmにおけるトレンチャー区とトラクター区に差がほとんど認められないことより、主根の伸長への気相部の割合の影響は少ないと考えられた。これまでの研究結果を考えあわせると、地下水水位が低く、且つ土壌のキメが細かく膨大な畑で栽培すれば、中国産市場品にみられるような直根性の生薬の生産が可能と考えられる。

2) キバナオウギの生育・収量に及ぼす土壌の種類の影響

土壌の種類がキバナオウギの根部の生育・成分および希エタノールエキス含量に及ぼす影響について検討した。砂土、赤土、黒色火山灰土(黒ボク土)および褐色森林土(筑波試験場内の土壌)を入れた、縦2m×横2m×深さ1.5m(4m³)のコンクリート枠にて比較栽培した。土壌の物理性比較の結果、気相部の割合は砂土区に比べ他の3

区で高く、また、土壌硬度は各区に有意差は認められず、先の試験結果を裏付けるものであった。希エタノールエキス含量は、砂土および黒ボク土で低い傾向が認められたが、特に黒ボク土で変異が大きく、各区に有為な差は認められなかった。また、アストラガロサイド含量は赤土および黒ボク土区が高かった。さらに、イソフラボノイド含量は、生育の良好であった砂土区および褐色土区が赤土区および黒ボク土区に比べ高い結果となった。

2. 薬用植物の組織培養に関する研究

1) 薬用植物の超低温保存に関する研究

薬用植物資源を極長期にわたって保存するために、継代培養を行っているオタネニンジン毛状根の根端を用い、簡便なガラス化法による超低温(-196℃)保存法について検討した。液体窒素中への浸漬を行わないで、全培養の期間と、ガラス化処理時間について検討した結果、1~2日間の前培養ではガラス化液処理10~12分間、3日間の前培養ではガラス化液処理8~9分間が、最も生存率が高く、上記の条件で液体窒素中に保存すると、最高50%の再生率が得られた。また、前培養培地に0.1mg/l 2,4-Dを添加すると、安定した高い生存率が得られた。再生後の毛状根は、対照群(保存未処理)と同様、良好に生育し、T-DNA、ジセンシド含量にも大きな違いは認められなかった。

ベラドンナ毛状根についてもガラス化液処理時間および温度について検討した。25℃では10分間の処理で20%の毛状根が枯死し、すべての毛状根が褐変するのに対し、0℃の処理では100%健全な生育を示し、褐変も認められなかった。また、0℃で10分間PVS2液で脱水処理後、液体窒素中に保存すると、最高50%の再生率が得られ、保存期間の長さによる生存率の低下は認められなかった。再生後の毛状根を液体培養しトロパナルカロイド生産を調べた結果、超低温保存による影響は認められなかった。

2) 薬用植物の不定胚誘導系の開発に関する研究

薬用植物の不定胚形成系を確立するため、圃場栽培しているオタネニンジンから採取した種子の種皮を取り除き、常法により殺菌後、寒天培地、25℃、暗所で無菌的に発芽させた。得られた幼植物を葉、葉柄、頂芽に分割後、1/2MS固形培地、弱光下で培養し、不定胚を誘導した。得られた不定胚を種々の培養条件下で培養し、二次不定胚形成、植物体再生、ジセンシド類含量を調べた。ジセンシド類は、HPLCで定量分析した。結果の概要は下記の通りである。

1. 1/2MS固形培地、弱光下で6週間培養し、材料とした植物組織片の種類が、体細胞不定胚形成(二次不定胚形成)とシュート再生に及ぼす効果について検討した結果、頂芽由来の不定胚(Pg)が最も二次不定胚形成能が高く、葉柄由来の不定胚(Pgb)が最もシュート再生能が高かつ

た。

2. Pgを材料に光条件の影響を調べた結果、不定胚形成数は暗所下が最も多かったが、再生シュート数は通常の照明条件下が最も多かった。

3. Pgを1/2 MS固形あるいは液体培地、暗所で6週間培養し、植え付け切片的調整方法が二次不定胚形成および生育に与える影響を調べた結果、細胞塊(10~20 mm)よりも細片(1~2 mm)を材料に液体培養した方が、生育、二次不定胚形成数ともに良好であった。

4. さらに、液体培養における光条件の効果を調べた結果、生育は暗所下の方が良好であるが、不定胚形成数はほぼ同じであった。

5. 1/2 MS液体培地、暗所下で2ヶ月間培養した不定胚中のジンセノシド含量を、圃場栽培4年の根および種子からの発芽2ヶ月後の実生と比較した。その結果、体細胞不定胚は実生よりもジンセノシド類含量が高く、より親植物の根に近いパターンを示すことが判明した。

伊豆薬用植物栽培試験場

場 長 飯 田 修

概 要

宿日直制度の廃止に向け、平成7年9月に機械警備システムの工事が完了し、10月1日より宿直が廃止された。次いで、平成8年3月に温室、ビニールハウスの自動灌水装置および気象観測装置の工事が終了したため、平成8年4月1日より日直も廃止された。宿日直制度の廃止に伴う予算措置により、クシ畑周囲の移動式フェンスの設置、源泉揚湯管の交換用ヤグラの改築、第2温室天窓自動開閉用モーターの交換を行った。

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、「ゲンノショウコ」の報告書案を作成した。厚生省麻薬課の委託研究である「生態系農業に基づくクシ栽培法の確立に関する研究」および厚生科学研究費による「薬用植物種子の長期保存方法等に関する研究」を実施した。

人的交流面では、平成8年3月11日~14日に北海道薬用植物栽培試験場沢井技官と種子島薬用植物栽培試験場関技官の研修受け入れを実施し、当場の研究活動の紹介、近隣機関の熱帯系植物の見学、伊豆半島における薬用植物の栽培地視察、自生植物調査等を行った。

平成8年3月、試験場の業務内容を紹介したカラー要覧(A3版、三折り)が作成され、来場者に配布することとした。

平成7年夏期もまた高温と降水量不足に見舞われ圃場が渴き、ミシマサイコ等一部植物の種子が得られなかった。

一方、冬期には11月末から数年来の低温が続き、構内のヤシ類の葉の褐変枯死の損傷が大きかった。

業務成績

1. 種子交換

採 種 168種 (筑波試験場へ送付)

内訳 野生植物 82種

標本植物 64種

温室植物 22種

受 入 7件 53種

分 譲 7件 34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。

平成7年10月1日~12月24日まで、東京都夢の島熱帯植物館で「薬と毒の熱帯植物」展が開催され、展示用植物の貸出し、展示パネル説明文および園芸教室「身近な薬草の育て方」等について展示協力を行った。

研究業績

1. 生態系農業に基づくク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. 同600 kg/a, III. 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)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は土壌改良資材区では7.0~8.0と高く、堆肥区では5.5~5.6であった。腐植含量は土壌改良資材区で14.0~15.0%、堆肥区で17.0~17.8%であった。本年は春先きの病害発生と強風による倒伏、さらに収穫期の干ばつにより生存個体数が激減し十分な成績が得られず、アヘン収量は最も高かった土壌改良資材区300 kg/aでも67.72 g/a、1果当たり0.26 gにすぎなかった。

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、2年生植物について系統比較試験を行った。1993年11月22日播種、1994年4月11日定植、1995年7月18、19日に20個体について調査を行った。伊豆系統は筑波系統に比べて、草丈、主茎長、節数、第一次分枝数、生葉重を除く重量が大きく、筑波系統は1株主茎数、1株総茎数および生葉重が大きく、伊豆系統は伸長型、筑波系統は分けつ型の様相を示した。2年生株においては条間60 cm、株間15 cmの栽植密度では生育が過繁茂の状態となり、その結果、1株当たり生葉重は1年生株とほとんど変わらず、2年生株の優位性が見られなかった。

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を3年生株について検討

した。供試系統は *Lycium 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, 3年目1995年5月8日に行い, 果実の収穫は1994年8月~12月にかけて毎月3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, 20 gを株元に施用し, 2, 3年目は1年目の2倍量, 3倍量とした。1株当りの果実風乾重は各系統全般に無施肥区で少ない傾向が見られたが, 施肥区間には明瞭な差は見られなかった。

4. 薬用植物種子の長期保存方法等に関する研究 (厚生科学研究費)

長期冷蔵保存したケシ種子の発芽率を調査した。1984年から毎年採種し, 5°Cの冷蔵条件下で貯蔵したケシ種子の発芽試験を行った結果, 最も古い1984年産種子の発芽率は86.0%を示し, 11年間の貯蔵でも十分な生存力があることが確認された。採種年度により発芽率に差が見られたため, 種子重量と発芽率の関係を検討したが, 一定の関係が認められなかった。

和歌山薬用植物栽培試験場

場長 野口 衛

概要

当场では, 薬用植物の栽培法, 調製加工法の生薬の品質に及ぼす影響について検討を行ってきたが, 場長と圃場作業員1名で研究業務, 圃場管理から宿日直業務までこなすのは非常に困難であった。しかし, 昨年10月1日より警備保証会社の装置が稼働し, また年度末に気象自動観測装置および標準園ならびに試験圃場の一部に自動散水装置が装備されたため, 業務が著しく軽減されることとなった。ただし, 圃場管理については, 賃金職員2名をほぼ連日入れなければならない状況は変わっていない。

施設整備面では, 標準園に残っていた網室および旧温室ポイラー室を撤去してそれぞれ気象自動観測装置, 自動散水装置の制御板を設置し, また通路および空き地に芝生を敷き, 試験圃場の一部を試作展示用標準園に作り代えてハーブを中心に植え付け, 芝生中央にガーデンテーブルセットを置き, また, ガラス室の自動散水装置設置に伴い内部を整理し, 敷き石を敷いた。さらに, 応接室 (旧場長室) に陳列棚を入れ, 当场で制作した生薬の見本や関連資料を展示し, 見学者にくつろいだ雰囲気の中で薬草に親しんでもらえるようになった。

人事面では, 野口は9月9日より9月18日まで中国四川省へ出張, 高度三千米級の山岳地帯を車で二千キロメートル以上を走破し, 自生大黃, トリカブトの調査にあたり, また国内では和歌山県薬用資源開発検討委員会の一員として, 兵庫県下の薬草園, ハーブ園5箇所を視察した。また, 山田は本年3月3日に結婚した。

業務成績

| | |
|---------|-------|
| 1. 種子交換 | |
| 採種 | 106 |
| 受入 | 10 |
| 分譲 | 5件11種 |

2. 指導業務

野口は, 2/21, 4/26, 6/23の三回にわたり, 生薬業界技術者の自主学習組織, 関西生薬勉強会で延べ約二百人に生薬分析バリテーションに関連する講義を行った。また, 9/29に御坊ロータリークラブにて, 当场の基礎的研究から新製品開発, 地域活動を含めた十年にわたる活動について講演した。

本年度は, 場の団体見学ならびに外部依頼計20回, 参加者延べ480名に薬草に関する講義, 指導を行った。また当场への薬草問い合わせ件数は年間20件で, その内訳は種苗依頼10, 栽培法8, 薬効 (用法) 1, 調製加工法・分析法その他の情報1件であった。また, 県薬事指導所, 地元生産者と共同で, 生薬を用いる新しい浴用剤の開発に着手し, さらに, 和歌山県下に設立準備中の華岡青洲記念館の薬草園設計の依頼を受け, 作業に着手した。

研究業績

1. ミシマサイコの栽培法に関する研究

当场の元研究生細田勝子は, 1996年3月, 名城大学において「品質安定化を目指した生薬生産に関する研究—柴胡について—」というタイトルで薬学博士の学位を取得した。

その主な内容は, サイコサポニンの新しい定量法を確立, 根の木部の木化の程度を数値化する新しい評価基準「木化指数」を作成し, 野生品, 栽培品における両者の関係を調べ, また根の形態, 収量, 成分含量ならびにその木化指数に及ぼす土壌の種類, 灌水, 土壌通気, 摘蕾の効果, 気象条件の影響等をモデル実験を用いて明らかにし, 品質を維持させながら収量を増大させる栽培法を確立したというものである。

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

培試験を実施し、「インドジャボク」の報告書を提出した。厚生省麻薬課の委託研究である「生態型農業に基づくけし栽培法の確立に関する研究」、厚生科学研究費補助金による「薬用生物資源の保存および保護に関する研究」等を実施した。

制度面では、宿直が9月、また日直が3月をもって廃止となった。

施設面では宿日直の廃止のため、気象観測機器の自動化、温室・ビニールハウス内の自動灌水装置、圃場灌水のための水道管の敷設、網室(189 m²:第4圃場)を設置した。また鉄骨造り樹脂フィルム温室(144 m²)の新設、車庫の老朽化に伴う改築を行った。

気象面では、梅雨の期間は6月上旬から7月上旬までであった。梅雨明け以降、少雨傾向が続き、一時期は干ばつ状況を呈し、一部栽培植物への影響も見られた。冬季は比較的低温状況が継続し、2月12日には最低気温の極値が-1.2℃となり結氷も観測され、高温を必要とする一部の植物では完全枯死・部分枯死等の影響が生じた。台風は特記するほどの襲来はなかった。

業務成績

1. 種子交換

採種 307種 (筑波試験場へ送付)

内訳 野生種 196種

栽培種 111種

露地 110種

温室 1種

受入 34件 66種

分譲 23件 58種

2. 指導業務

見学者 86件 467名以上

問い合わせ件数は37件以上あり、内訳(重複あり)は種苗の入手法5、栽培法20、植物鑑定6、薬効・用法7、その他15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(種子島における適性な栽培密度)

極暖地における適性な栽植密度を探る目的で本試験を実施した。

1993年に伊豆試験場より導入した「一貫種」で本試験場で継代栽培した1994年産種子を用い、12月22日に播種した。肥料条件は10アール当たり、基肥として化学肥料(IB化成10-10-10)46.8kg、追肥として化学肥料(同)120.0kgを4月4日に側条施肥した。

試験区は最終株間5, 10, 15, 20, 25cmとし、条間75cmとした。

収穫期の草状や果実の形態には顕著な差は認められなかった。株間が広い区は風の影響が大きく、倒伏するだけでなく、病害の発生も多く見られた。1株当たりのあへん収量は株間20cm(118mg)、15cm(106mg)、25cm(101mg)、10cm(79mg)、5cm(36mg)であった。1アール当たりの収量は5cm(75.7g)、15cm(71.1g)、10cm(69.4g)、20cm(56.9g)、25cm(35.8g)であった。この試験による1アール当たりの収量の理想値は10cm(102.8g)、5cm(93.8g)、15cm(92.7g)、20cm(76.8g)、25cm(52.6g)であり、収穫の手間を考慮し、病害による枯死の予防を講ずれば、株間10cmまたは15cmがよいと考えられる。

2. 薬用生物資源の保存および保護に関する研究(薬用植物の生体確認)

自生地・分布域が特定でき、その変遷を確認・伝達することが可能となること。また、地域環境を把握することにより、保存・栽培のための基礎資料となること。以上のことから、薬用生物資源の効率的な保存および保護を明らかにすることを目的に実施した。

最近10年間について、種子交換のため従来より実施している採種の際の記録、写真撮影時の記録、同好会誌その他の文献等より抽出した。

局方生薬34種(基原植物39種)、局方外生薬23種(局外生規規定のもので、その基原植物29種)について調査できた。

既存の生育地の状況を把握することにより、今後の植物の生育環境の変化が、分布や存亡に重大な影響を与えることが予測できる。生存が困難となり減少する種(ハマボウフウ、コウホネ、ヒシ、カギカズラ)。開発行為等による裸地へ侵入または適応する種(チガヤ、テリハノイバラ、アカメガシワ)。農耕地・山林の荒廃の結果、繁殖・生育が旺盛となる種(ハマスゲ、チガヤ、ヨモギ、スイカズラ、タラノキ、クズ)。栽培されていたものが逸出し、野生化する種(オウレン、ツルドクダミ、クコ、マダケ、クヌギ、ハス)などの例が見られ、また想定された。

3. 薬用資源植物等の長期保存法等に関する研究

来歴情報、遺伝学的特性、発芽・生育特性等を明らかにするとともに、種子の貯蔵条件を明らかにすることにより、種子の長期保存の可否、発芽率向上のための技術確立等が可能となる。

種子島試験場で保存している植物のうち約1200件について、導入に関するデータ、生薬名、用途、保存形態、生育特性、保存場所等を記述したデータシートを作成した。発芽に関する試験研究用種子として、野生種34種、露地栽培種24種を筑波試験場へ送付した。

平成7年度所外研究員等受け入れ名簿

平成8年3月31日

(客員研究員) 9名

| 氏名 | 所属 | 受入部 | 入所 | 退所 | 性別 | 備考 |
|-------|------------------|---------|---------|---------|----|----|
| 真下 悟 | 東海大学教授 | 薬品部 | 5. 6.21 | 7. 6.20 | 男 | |
| 大島 輝夫 | 化学品安全管理研究所 | 化学物質情報部 | 5.11.15 | 7.11.14 | 男 | |
| 岡本 季彦 | ㈱結核予防会・八王子血液センター | 衛生微生物部 | 2. 5. 1 | | 男 | |
| 熊田 秀文 | 神奈川歯科大学 | 衛生微生物部 | 4.10.22 | | 男 | |
| 下村 裕子 | 東京薬科大学名誉教授 | 生薬部 | 4.10. 1 | | 女 | |
| 一戸 正勝 | 東京家政大学助教授 | 衛生微生物部 | 7. 4. 1 | | 男 | |
| 大幡 久之 | 昭和大学薬学部助教授 | 病理部 | 6. 6.17 | 7. 5.14 | 男 | |
| 林 裕造 | 北里大学薬学部客員教授 | 総合評価研究室 | 7. 4. 1 | | 男 | |
| 前川 昭彦 | ㈱佐々木研究所病理部長 | 毒性部 | 7. 4. 1 | | 男 | |

(協力研究員) 9名

| 氏名 | 所属 | 受入部 | 入所 | 退所 | 性別 | 備考 |
|-------------|------------------|--------|---------|---------|----|----|
| F. J. Diana | サンマルコス大学 | 生薬部 | 4. 4. 1 | 8. 3.31 | 女 | |
| 西尾 俊幸 | 日本大学農獣医学部講師 | 有機化学部 | 6.12. 1 | | 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 | 7.11.30 | 男 | |
| 安 相得 | 江原大学校副教授 | 北海道試験場 | 6. 9. 1 | 7. 8.31 | 男 | |
| 若狭 芳男 | ㈱実験動物中央研究所前臨床研究部 | 毒性部 | 7. 4. 1 | | 男 | |
| 平林 容子 | 東京大学医科学研究所 | 毒性部 | 7.10. 1 | 8. 3.31 | 女 | |
| 西村 和子 | ㈱ヒューマンサイエンス振興財団 | 変異遺伝部 | 7.10. 1 | | 女 | |
| 関 洪基 | 韓国国立保健院 | 生物薬品部 | 7.11. 1 | 8. 1.31 | 男 | |
| 李 仁善 | 啓明大学校助教授 | 病理部 | 7.12. 1 | | 女 | |

(流動研究員) 15名

| 氏名 | 所属 | 受入部 | 入所 | 退所 | 性別 | 備考 |
|---------------|-----------------|--------|---------|----------|----|----|
| 鈴木 任 | ㈱ヒューマンサイエンス振興財団 | 変異遺伝部 | 4. 7. 1 | 7. 6. 30 | 男 | |
| 佐々木 和生 | ㈱ヒューマンサイエンス振興財団 | 筑波試験場 | 6.11. 1 | 8. 2. 28 | 男 | |
| 赤坂 玲子 | ㈱ヒューマンサイエンス振興財団 | 機能生化学部 | 7. 4. 1 | 8. 3. 31 | 女 | |
| 大河内 江里子 | ㈱ヒューマンサイエンス振興財団 | 代謝生化学部 | 7. 4. 1 | 8. 3. 31 | 女 | |
| 張 宝旭 | ㈱ヒューマンサイエンス振興財団 | 薬理部 | 5. 7. 1 | 8. 3. 31 | 男 | |
| 春日井 勲 | ㈱ヒューマンサイエンス振興財団 | 生物薬品部 | 5. 8. 1 | | 男 | |
| 中岡 竜介 | ㈱ヒューマンサイエンス振興財団 | 療品部 | 6. 4. 1 | 8. 3. 31 | 男 | |
| 小木美恵子 | ㈱ヒューマンサイエンス振興財団 | 生物薬品部 | 6.11. 1 | | 女 | |
| 張 立実 | ㈱ヒューマンサイエンス振興財団 | 変異遺伝部 | 6.11. 1 | 8. 3. 31 | 男 | |
| Petr Gruz | ㈱ヒューマンサイエンス振興財団 | 変異遺伝部 | 5. 8. 1 | | 男 | |
| A. F. A. Alim | ㈱ヒューマンサイエンス振興財団 | 生物薬品部 | 7. 2.20 | | 男 | |
| C. f. Hossain | ㈱ヒューマンサイエンス振興財団 | 生薬部 | 7. 4. 1 | | 男 | |
| 李 海生 | 国際協力事業団 | 生物薬品部 | 7. 5.15 | 7. 8. 3 | 男 | |
| 范 庆华 | 国際協力事業団 | 支所生物試験 | 7. 5.15 | 7.11. 9 | 男 | |
| 寿 国香 | 国際協力事業団 | 生薬部 | 7. 5.15 | 8. 2. 2 | 男 | |

(科学技術特別研究員) 4名

| 氏名 | 所属 | 受入部 | 入所 | 退所 | 性別 | 備考 |
|-------|--------|-------|---------|----|----|----|
| 金 秀良 | 新技術事業団 | 変異遺伝部 | 5.10. 1 | | 男 | |
| 代田 修 | 新技術事業団 | 生薬部 | 6. 9. 1 | | 男 | |
| 鈴木 任 | 新技術事業団 | 変異遺伝部 | 7. 9. 1 | | 男 | |
| 上野 伸哉 | 新技術事業団 | 薬理部 | 7.10. 1 | | 男 | |

(科学技術庁フェロー) 9名

| 氏 名 | 国 籍 | 所 属 | 受 入 部 | 入 所 | 退 所 | 性別 |
|------------------|-------|--|--------|----------|----------|----|
| A. K. Pathak | インド | Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants | 有機化学部 | 7. 2. 1 | | 男 |
| W. S. C. Shu | マレーシア | | 筑波試験場 | 7. 2. 7 | 8. 2. 6 | 女 |
| R. B. Poe | 米国 | | 療 品 部 | 6. 8. 1 | 7. 7. 31 | 男 |
| Hyoung-Chin-Kim | 韓国 | 韓国化学研究所安全性研究センター | 病 理 部 | 7.12. 1 | 8. 2. 29 | 男 |
| Jong-Chul Park | 韓国 | | 衛生微生物部 | 8. 1. 4 | 8. 3. 30 | 男 |
| Pablo Bonilla | ペルー | Organic Chemistry Institute | 生 薬 部 | 8. 1. 15 | | 男 |
| Rivera | | Applied to Pharmacy | | | | |
| David Josephy | カナダ | Dept. of Chemistry and Biochemistry University of Guelph | 変異遺伝部 | 8. 2. 16 | | 男 |
| Ahmed Abdou Said | エジプト | ZAGAZIGU University | 生物薬品部 | 8. 3. 4 | | 男 |
| Frans Sluyter | オランダ | University of Paris | 薬 理 部 | 8. 3. 4 | | 男 |

(研究生) 37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 | 3.11. 1 | 7.10.31 | 女 | |
| 天 野 富美夫 | 国立予防衛生研究所 | 機能生化学部 | 4. 8.11 | | 男 | |
| Jong-Chul Park | 東京農工大学 | 衛生微生物部 | 6. 9. 5 | 8. 1. 3 | 男 | |
| 杉 山 玲 子 | 財団法人日本公定書協会 | 生 薬 部 | 7. 4. 3 | 8. 3. 31 | 女 | |
| 邢 魯 建 | 福建中医学院 | 生 薬 部 | 7. 4. 1 | 8. 3. 31 | 男 | |
| 安 住 聡 子 | 昭和女子大学 | 衛生微生物部 | 5. 4. 26 | | 女 | |
| 岡 本 章 子 | 東京農業大学 | 変異遺伝部 | 5. 7. 14 | 7. 7. 13 | 女 | |
| 池 崎 信一郎 | 静岡県立大学大学院 | 病 理 部 | 5.11. 1 | 7.10.31 | 男 | |
| 小 林 浩 | 岡山大学院薬学研究所 | 変異遺伝部 | 6.10. 4 | 7. 9. 30 | 男 | |
| 伊 藤 俊 明 | 徳島大学 | 変異遺伝部 | 6.11. 7 | | 男 | |
| 出 川 宏 規 | 順天堂大学 | 療 品 部 | 6. 5. 10 | 8. 3. 31 | 男 | |
| 杉 村 真 二 | 神戸大学 | 衛生微生物部 | 7. 2. 13 | 7. 6. 16 | 男 | |
| 太 田 利 子 | 相模女子大学 | 衛生微生物部 | 6.12. 1 | | 女 | |
| 加 藤 仁 美 | 昭和薬科大学大学院 | 衛生微生物部 | 7. 4. 1 | | 女 | |
| 伊 東 華奈子 | 明治薬科大学 | 薬 理 部 | 6. 6. 6 | 8. 3. 31 | 女 | |
| 笥 華 子 | 財団法人日本公定書協会 | 支所薬品試験部 | 4.12. 7 | 8. 3. 31 | 女 | |
| 村 井 真 実 | 財団法人日本公定書協会 | 支所薬品試験部 | 5. 4. 1 | 8. 3. 31 | 女 | |
| 高 畑 知 子 | 財団法人日本公定書協会 | 支所薬品試験部 | 5.12.28 | 8. 3. 31 | 女 | |
| Jun-Cheul Ahn | 日本女子大学 | 筑波試験場 | 6. 9. 1 | 7. 8. 31 | 男 | |
| 吉 田 良 | 日本大学 | 食品添加物部 | 7. 4. 10 | 7. 6. 30 | 男 | |
| 木 内 猛 仁 | 昭和大学 | 生物薬品部 | 7. 4. 10 | | 男 | |
| Mrs. VIBHA PATHAK | Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants | 生 薬 部 | 7. 5. 1 | | 女 | |
| 竹 川 潔 | 名古屋市立大学 | 病 理 部 | 7. 5. 8 | | 男 | |
| 田中丸 善 洋 | 岐阜大学 | 病 理 部 | 7. 5. 15 | | 男 | |
| 荒 卷 敦 史 | 農林水産省農薬検査所 | 毒 性 部 | 7. 5. 15 | 7. 8. 14 | 男 | |
| 大 幡 久 之 | 昭和大学 | 生物薬品部 | 7. 5. 15 | | 男 | |
| 正 田 俊 之 | 大阪府立大学 | 病 理 部 | 7. 6. 5 | | 男 | |
| 鈴 木 任 | 名古屋市立大学 | 変異遺伝部 | 7. 7. 1 | 7. 8. 31 | 男 | |
| 川 口 公 明 | 神奈川県警察科学捜査研究所 | 代謝生化学部 | 7. 8. 7 | 8. 3. 31 | 男 | |
| 駒 井 奥太郎 | 財団法人東京顕微鏡院 | 環境衛生化学部 | 7. 8. 31 | 7. 8. 31 | 男 | |
| 村 田 和 宏 | 東京農林水産消費技術センター | 衛生微生物部 | 7. 9. 1 | 7.11.30 | 男 | |
| 肖 新 月 | 中国薬品生物製品検査所 | 生 薬 部 | 7. 9. 1 | 8. 3. 31 | 女 | |
| 尾 崎 正 康 | 東北薬科大学 | 変異遺伝部 | 7.10. 1 | | 男 | |
| 小 菅 旬 子 | 麻布大学 | 衛生微生物部 | 7.10. 4 | | 女 | |
| 岡 和 子 | 広島市衛生研究所 | 環境衛生化学部 | 7.10. 5 | 7.10.31 | 女 | |
| 西 沢 幸 夫 | 食糧庁 | 食 品 部 | 7.11. 6 | 7.12.22 | 男 | |
| 伊 藤 理 恵 | 東邦大学 | 薬 理 部 | 7. 9. 20 | | 女 | |

(実習生) 36名

| 氏名 | 所属 | 受入部 | 入所 | 退所 | 性別 | 備考 |
|-------|----------------|---------|---------|---------|----|----|
| 小田真琴 | 昭和女子大学 | 食品添加物部 | 7. 2.21 | 8. 1.31 | 女 | |
| 花田真希子 | 昭和女子大学 | 食品添加物部 | 7. 4. 1 | | 女 | |
| 三浦麻記子 | 日本大学 | 食品添加物部 | 7. 4. 1 | 8. 2.29 | 女 | |
| 嶋崎伊津美 | 日本大学 | 食品添加物部 | 7. 4. 1 | 8. 3. 1 | 女 | |
| 甲斐幸恵 | 昭和女子大学 | 毒性部 | 7. 4. 1 | | 女 | |
| 矢野晶子 | 昭和女子大学 | 食品部 | 7. 4. 1 | 8. 3.31 | 女 | |
| 中村裕道 | 日本大学 | 食品添加物部 | 7. 4. 1 | 8. 3.31 | 男 | |
| 柴田博 | 日本大学 | 食品添加物部 | 7. 4. 1 | 8. 3.31 | 男 | |
| 林多恵子 | 日本大学 | 有機化学部 | 7. 4. 1 | 8. 3.31 | 女 | |
| 山田友里子 | 北里大学 | 環境衛生化学部 | 7. 4. 1 | 8. 3.31 | 女 | |
| 西川弘秋 | 北里大学 | 薬品部 | 7. 4. 1 | 8. 3.31 | 男 | |
| 落合真一 | 北里大学 | 食品添加物部 | 7. 4.10 | 8. 3.23 | 男 | |
| 狩谷真里 | 北里大学 | 食品部 | 7. 4.10 | 8. 3.23 | 女 | |
| 木村知世 | 北里大学 | 衛生微生物部 | 7. 4.10 | 8. 3.23 | 女 | |
| 田中恵子 | 昭和女子大学 | 食品部 | 7. 4.17 | 8. 1.31 | 女 | |
| 星野香織 | 昭和女子大学 | 食品部 | 7. 4.17 | 8. 1.31 | 女 | |
| 田中賢一 | 昭和大学 | 薬理部 | 7. 4.28 | 7.11.13 | 男 | |
| 石崎悟 | 昭和大学 | 生物薬品部 | 7. 5. 1 | 7.12.31 | 男 | |
| 伊住慶子 | 実践女子大学 | 食品部 | 7. 5. 8 | 8. 2.28 | 女 | |
| 北村真弓 | 実践女子大学 | 食品部 | 7. 5. 8 | 8. 2.28 | 女 | |
| 植木銘衣子 | 共立薬科大学 | 食品部 | 7. 5.15 | 7.12.22 | 女 | |
| 永石恵子 | 共立薬科大学 | 代謝性化学部 | 7. 5.15 | 7.12.22 | 女 | |
| 西川佐和子 | 共立薬科大学 | 環境衛生化学部 | 7. 5.15 | 7.12.31 | 女 | |
| 尾前恵美子 | 共立薬科大学 | 環境衛生化学部 | 7. 5.15 | 7.12.31 | 女 | |
| 北野聡 | 日本大学 | 環境衛生化学部 | 7. 5.15 | 8. 2.25 | 男 | |
| 原卓也 | 日本大学 | 環境衛生化学部 | 7. 5.15 | 8. 2.25 | 男 | |
| 松浦鎮男 | 日本大学 | 環境衛生化学部 | 7. 5.15 | 8. 2.25 | 男 | |
| 大屋僚子 | 共立薬科大学 | 食品添加物部 | 7. 5.15 | 7.12.28 | 女 | |
| 堀江斉 | 中央大学 | 化学物質情報部 | 7. 5.26 | 8. 3.31 | 男 | |
| 赤尾朋美 | 中央大学 | 化学物質情報部 | 7. 5.26 | 8. 3.31 | 女 | |
| 亀田まり | 東京理科大学 | 有機化学部 | 7. 5.29 | 8. 3.31 | 女 | |
| 山崎恵美子 | 東京理科大学 | 有機化学部 | 7. 5.29 | 8. 3.31 | 女 | |
| 山上毅 | 東京農業大学 | 化学物質情報部 | 7. 6.14 | 8. 3.31 | 男 | |
| 加藤千昌 | 麻布大学 | 食品添加物部 | 7. 8.28 | 8. 3.31 | 女 | |
| 伊藤理恵乃 | 東邦大学 | 薬理部 | 7. 9.20 | 8. 3.31 | 女 | |
| 田頭洋子 | 大阪ハイテクノロジー専門学校 | 支所薬品試験部 | 7. 8. 8 | 8. 1.31 | 女 | |

Shameem, M., Katori, N., Aoyagi, N. and Kojima, S.: **Oral solid controlled release dosage forms: Role of GI-mechanical destructive forces and colonic release in drug absorption under fasted and fed conditions in humans**

Pharm. Res., 12, 1049~1054 (1995)

製剤設計を適切かつ効率的に行うには、放出に及ぼす消化管内要因を解明し、予測性の優れた *in vitro* 試験システムを構築することが必要である。そこで、浸食性が異なる2種のアセトアミノフェン徐放錠を調製し、放出に及ぼす消化管内機械的刺激の影響、結腸での放出性を検討した。デコンボルション法で求めた両製剤の *in vivo* 放出速度は、錠剤が消化管下部に到達する4~5時間以降急速に減少し、結腸では放出性が著しく低下することが判明した。*in vivo* 放出速度を比較するとき、非浸食性A錠に比べ浸食性B錠の放出速度は個人間変動が大きく、A錠と同程度の放出速度を示す被験者もいれば非常に速やかな放出を示す被験者もいた。B錠が消化管内で磨耗を受け放出が促進されたものと思われる。また、放出挙動には再現性があり、絶食時で速やかな放出を示した被験者は食後投与でも速やかな放出を示す傾向がみられ、製剤に作用する消化管内磨耗力には個人差があることが強く示唆された。胃酸度と同様、消化管内磨耗力の個人差についても考慮し、*in vitro* 試験システムの構築を図ることが重要と思われる。

Keywords: controlled release dosage forms, frictional force, colonic release

香取典子, 青柳伸男, 小嶋茂雄: **含量均一性および重量偏差試験の判定基準についての考察**

薬剤学, 55, 139~147 (1995)

日本薬局方の含量均一性および重量偏差試験の統計学的な背景を述べ、現行の試験法の特徴を明らかにすると共に、より良い試験法とはなにかについて考察した。

Keywords: content uniformity test, weight variation test, Japanese Pharmacopoeia

Yoshioka, S., Aso, Y., Otsuka, T. and Kojima, S.: **The effect of γ -irradiation on drug release from poly (lactide) microspheres**

Radiat. Phys. Chem., 46, 281~285 (1995)

γ 線照射したポリ乳酸マイクロスフェアの物理化学的特性を測定し、薬物放出性に及ぼす γ 線照射の影響を検討した。 γ 線照射(5~100 kGy)を行うと、線量に依存してポリ乳酸の平均分子量は減少し、末端カルボン酸量が増加することから、 γ 線照射によって加水分解を伴う高分子の分解が引き起こされることが明らかになった。25 kGy以下の照射によって起こる高分子の分解はガラス転移温度(Tg)や初期放出速度の変化を伴わないが、100 kGyの照射では初期放出速度が有意に増大し、また後半に速度が急激に上昇する二相性の放出曲線を示した。 γ 線照射はTgが放出溶液の温度(37°C)以下になるのに要する時間を短縮し、その時点から放出速度を急激に上昇させ、後半の速い放出をもたらすことが明らかになった。Tgが37°Cに低下する時点までに薬物放出が完了するように設計されたマイクロスフェアの場合には、25 kGy以下の照射であれば放出速度を変化させず滅菌操作を行うことができることが示された。

Keywords: γ -irradiation, microspheres, release rate

Otsuka, T., Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: **Water mobility in aqueous solutions of macromolecular pharmaceutical excipients measured by oxygen-17 nuclear magnetic resonance**

Chem. Pharm. Bull., 43, 1221~1223 (1995)

医薬品添加剤として用いられる水溶性高分子に会合した水分子のダイナミックスを¹⁷O-NMRで検討した。ポリエチレングリコール(PEG)、ポリビニルピロリドン(PVP)およびゼラチンの各水溶液中で観測された水分子のスピン-格子緩和時間(T₁)は0.12 g/g H₂O以下の高分子濃度では、交換の速い等方性二相モデルで表すことができた。ここで高分子が水分子のT₁を減少させる作用はPEG<ゼラチン<PVPの順であった。高分子濃度が0.12 g/g以上になると、PVPおよびゼラチンでは等方性二相モデルに当てはまらなくなることが示された。また、PEG水溶液の水分子のT₁はPEGの分子量に依存しないことが示され、高分子の周辺のマイクロ粘度は、分子量に依存するマクロ粘度とは異なり、高分子単位と水分子との相互作用によって決定されることが明らかになった。いずれの高分子においても、水分子のT₁の低下の度合いは温度の上昇と共に減少した。ゼラチンは温度変化に伴って水分子のT₁を最も大きく変化させることから、高温におけるゼラチン分子の構造変化が示唆された。

Keywords: macromolecular excipient, ¹⁷O-NMR, water mobility

Yoshioka, S., Aso, Y., Otsuka, T. and Kojima, S.: **Water mobility in poly (ethylene glycol)-, poly (vinylpyrrolidone)-, and gelatin-water systems, as indicated by dielectric relaxation time, spin-lattice relaxation time, and water activity**

J. Pharm. Sci., 84, 1072~1077 (1995)

医薬品添加剤と共存する水分子のダイナミックスを明らかにするために、PEG-, PVP-およびゼラチン-水系に存在する水分子の運動性を誘電緩和スペクトル、¹⁷O-NMR緩和スペクトルおよび水分活性によって測定した。誘電緩和スペクトルから、いずれの高分子系においても、10⁹Hz以上の周波数に緩和を示すようなバルク水に近い高い運動性をもつ水分子が存在し、その誘電緩和時間は高分子濃度の上昇と共に増大することが明らかになった。また、PVP-およびゼラチン-水系では、10⁹Hz以下で緩和を示す水分子、すなわち高分子との会合によって運動性を束縛された“結合水”が存在することが示された。誘電緩和スペクトル法では運動性の高い水分子と結合水を分離して、それぞれの運動性を測定できるのに対して、NMR緩和スペクトル法では両者の平均運動性が測定できることが示された。これらの高分子-水系における水分子のスピン-格子緩和時間の濃度依存性は等方性二相モデルから乖離したが、これは高分子濃度の変化によって運動性の高い水分子の緩和時間が変化するためであることが誘電緩和スペクトルから明らかになった。ゼラチン-水系において高分子濃度変化にともなう水分子の誘電緩和時間の変化は、PEGおよびPVP系と比較して小さいことが示され、高分子濃度変化にともなう水分活性の変化が小さいことと一致した。水分活性は運動性の高い水分子の運動性の指標として有用であるが、結合水のダイナミックスに関する情報は得られないことが明らかに示された。

Keywords: water mobility, dielectric relaxation time, spin-lattice relaxation time

Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: **Drug release from poly (dl-lactide) microspheres controlled by γ -irradiation**

J. Controlled Release, **37**, 263~267 (1995)

ポリ (dl) 乳酸マイクロスフェアからの薬物放出速度を制御する方法として、 γ 線照射の有用性を考察した。 γ 線照射によって誘起される高分子分解の現象を利用して、マイクロスフェアの表面積や粒子径などの物理化学的特性を変化させることなく、高分子の分子量を変化させ、薬物放出速度を支配する重要な要因であるガラス転移温度 (Tg) を調節する方法を検討した。マイクロスフェアからの初期放出速度は、 γ 線照射によって Tg が低下するにつれて増大することが示された。Tg の低下は照射線量に依存することから、線量を調節することによって初期放出速度を制御できることが明らかになった。比較的低い線量を照射したマイクロスフェアは、初期に遅く、後半に速い二相性の放出曲線を示したが、線量を調節することによって、初期の遅い放出の持続時間を制御することができた。

Keywords : γ -irradiation, microspheres, controlled release

Izutsu, K., Yoshioka, S. and Kojima, S.: **Increased stabilizing effects of amphiphilic excipients on freeze-drying of lactate dehydrogenase (LDH) by dispersion into sugar matrices**

Pharm. Res. **12**, 838~843 (1995)

タンパク質凍結乾燥時の失活抑制方法を検討する目的で、乳酸脱水素酵素 (LDH) をモデルタンパク質として用いた検討を行った。タンパク質安定化メカニズムの異なる添加剤であるショ糖など糖類と、ポリエチレングリコール (PEG) など両親媒性物質や非イオン性界面活性剤を組み合わるることにより、凍結乾燥後の残存活性の顕著な増加がみられた。一方、PEG の結晶化を抑制しないマンニトールの共存では酵素活性保持はみられなかった。粉末 X 線回折および熱分析により検討した PEG の結晶性はショ糖の共存により抑制されたことから、添加剤組み合わせの効果は構成成分の結晶化抑制によりタンパク質と添加剤間の分子間相互作用が維持されること、および凍結乾燥品中における構成成分の融解 (microscopically liquid) による失活が抑制されることによると考察された。

Keywords : freeze-drying, amphiphilic excipients, stabilization

Izutsu, K., Yoshioka, S. and Kojima, S.: **Effect of cryoprotectants on the eutectic crystallization of NaCl in frozen solutions studied by differential scanning calorimetry (DSC) and broad-line pulsed NMR**

Chem. Pharm. Bull., **43**, 1804~1806 (1995)

凍結溶液中における塩化ナトリウムの共晶形成に対する各種糖類と高分子の影響を熱分析およびパルス NMR 装置を用いて検討した。実験に用いた糖類とデキストランやポリエチレングリコール (PEG) などの高分子物質はいずれも塩化ナトリウム結晶化を抑制したが、結晶化の抑制は低分子量の添加剤ほど低濃度から観察された。広幅パルス NMR で測定した液相プロトン量から求めた各温度での水および溶質分子の運動性は、共晶融解やアモルファス相の形成、ガラス転移などによる変化を示し、熱分析とともに凍結溶液中の分子挙動検討に有用であることが示された。

Keywords : cryoprotectant, eutectic crystallization, thermal analysis

石橋無味雄, 小嶋茂雄: **第十二改正日本薬局方における有害試薬使用調査**

医薬品研究, **27**(2), 64~67 (1996)

日本薬局方 (JP) は、「人および環境に有害な試薬を用いた試験法の廃止など、人および環境への影響に配慮した試験法となるよう努める」としている。この姿勢により水銀を用いた試験法の見直しなどが行われてきた。そこで JP 13 に向け、更に試験法のクリーン化を進めるため、有害試薬を使用している試験項目の調査を行った。調査対象は、ヒ素、セレン、カドミウム、スズ、鉛、水銀、クロム、シアン、ベンゼン、四塩化炭素、クロロホルム、1,2-ジクロロエタン、ジクロロメタン、アセトニトリル、トリクロロエチレン、ジオキサンを用いる試験法とした。これらの物質を選定した根拠は、環境汚染物質であること、文献から毒性が強いことが示唆されることによる。調査の結果、無機試薬は多くの各条で使用され、有機溶媒はクロロホルム、ジオキサンなどの使用頻度が高かった。しかし、ベンゼンについては使用されていない。なお、JP において水銀、シアン、ベンゼンおよび四塩化炭素は、試験に用いないことに定められているが、その他の物質の使用については、それらを用いる試験法の必要性などについて慎重な検討を行ったうえで決定する必要がある、ガイドラインの検討を提案した。

Keywords : JP, reagent, abrogate

石橋無味雄, 小嶋茂雄: **第十二改正日本薬局方における有害試薬使用の調査 その2—医薬品各条で用いられている有害有機溶媒の調査, 残留溶媒試験法の検討およびケトン・イソプロパノール・第三ブタノール試験法改正の検討—**

医薬品研究, **27**(3), 119~131 (1996)

ベンゼン、四塩化炭素、クロロホルム、1,2-ジクロロエタン、ジクロロメタン、アセトニトリル、トリクロロエチレン、ジオキサンなど医薬品の製造に用いられる有機溶媒の医薬品 (原薬および製剤) 中への残留をヘッドスペースガスクロマトグラフ法および通常ガスクロマトグラフ法により定量する方法を検討し、日本薬局方調査会に提案する試験法を開発した。また本試験法については米国薬局方および欧州薬局方と整合を行い、ほぼ同様の試験法として用いることができた。

さらに JP 12 の一般試験法の中で、有害試薬である水銀 (硫酸第二水銀試液) を使用する試験法であることが昨年度の調査により判明した「ケトン・イソプロパノール・第三ブタノール試験法」を、水銀を使用しないガスクロマトグラフ法による分析方法に改めるための検討を行い、日本薬局方調査会に提案する試験法を開発した。本法は、エタノール中のメタノールも同時に試験することもできるので、水銀を用いない方法であるだけでなく、試験の簡略化と迅速化にも有用である。

Keywords : JP, ovi, reagent

Nakahara, Y., Takahashi, K. and Kikura, R.: **Hair analysis for drug abuse X. Effect of physicochemical properties of drugs on the incorporation rates into hair**

Biol. Pharm. Bull., **18**, 1223~1227 (1995)

毛髪への薬物の取込メカニズムを明らかにする目的で、毛髪への薬物取込率 (ICR) とメラニン親和性、脂溶性および膜透過性を比較した。20 種類の依存性薬物を用いて、血漿中濃度時間曲線下面積 (AUC) に対する毛髪中濃度の比に基づくそれらの ICR を求めた結果、コカインが最

高ICR値を示し, tetrahydrocannabinolic acidが最小ICR値を示し, その差は3600倍にも及んだ。定法に従って求めたメラニン親和性の測定値はコカインが最大で, 次いでbenzphetamine, phencyclidineであり, 20種の薬物のICR値とメラニン親和性との相関係数は0.947であった。また, HPLC法による脂溶性の測定値とメラニン親和性との相関係数は非常に低い値(0.201)であった。しかし, 脂溶性とメラニン親和性の積とICR値とは高い相関(0.979)を示した。さらに, 塩基性薬物のICR値は中性および酸性薬物のそれより明らかに高い値を示し, この現象は血液(pH7.4)と毛母細胞(酸性)間のpH勾配に基づく薬物膜透過性と強く関係があることが示された。
Keywords: disposition in hair, melanin affinity, lipophilicity

Kikura, R. and Nakahara, Y.: **Hair analysis for drug abuse XI. Disposition of benzphetamine and its metabolites into hair and comparison of benzphetamine use and methamphetamine use by hair analysis**

Biol. Pharm. Bull., 18, 1696~1699 (1995)

Benzphetamine (BZP) とその代謝物(脱メチル体(nor-BZP), 水酸化体(OHnorBZP), 脱ベンジル体(MA), amphetamine (AP)) のラット血中から毛髪への取込傾向を調べる目的のために, まずGC/MS法を用いて, 血漿, 尿および毛髪中のそれらの薬物の同時定量分析法を開発した。BZPを投与したラットの血漿中濃度時間曲線下面積(AUC)に対する毛髪中濃度の比に基づく毛髪への薬物取込率(ICR)を求めた結果, BZP:MA:AP:norBZP:OHnorBZP=3.0:0.6:0.2:0.1:0.1であった。この事実はBZPが圧倒的に血中から毛髪への取込傾向が高いことを示した。本法をBZPを1日1回30mg, 5日間使用した2人のヒトの頭髪と陰毛に適用したところ, BZP, MA, AP, norBZPがそれぞれ0.10~0.20, 0.13~0.18, trace~0.15, 0.32 ng/mg検出された。この結果から, 毛髪を用いれば, 覚醒剤(MA)使用者と医薬品のBZP使用者を識別できることが示された。

Keywords: hair analysis, benzphetamine, disposition in hair

Sakamoto, T.*, Tanaka, A.* and Nakahara, Y.: **Hair analysis for drugs of abuse XII. Determination of PCP and its major metabolites, PCHP and PPC, in rat hair after administration of PCP**

J. Anal. Toxicol., 20, 124~130 (1996)

過去のPCPの使用を毛髪を用いて証明するために, ラット毛髪中のPCPとその代謝物, 4-phenyl-4-piperidino-cyclohexanol (PPC) および1-(1-phenylcyclohexyl)-4-hydroxypiperidine (PCHP) のGC/MSによる同時検出法を検討した。3匹の有色ラットにPCPを0.05~0.5 mg/kgを1日1回, 10日間腹腔内投与し, 4週間後に新しく生えた毛髪部分を採取した。毛髪試料を洗浄後, 内部標準物質としてPCP, PPCそしてPCHPのそれぞれの重水素標識体を添加した毛髪をmethanol-5 N HCl (20:1)にて1時間超音波下にて抽出した後, Bond Elut Certifyにて常法に従い精製し, シリル誘導体化し, GC/MSにより分析を行った。PCP, PPCおよびPCHPは0.1 mg/kg以上の投与量で同時に検出され, PCPに関しては0.05 mg/kg以上の投与量においてもラットの毛髪中から明確に検出された。血漿中濃度時間曲線下面積(AUC)から見ても, ラットの毛髪中のPCP濃度は非常に高いもので

あった。PCPおよびPCHPの毛髪への移行率([毛髪中薬物濃度]/[AUC])はそれぞれ2.29および1.65を示し, 非常に高い毛髪移行性を示すことを確認した。この結果は, 毛髪がPCPの能動的な使用を確認するために有用な試料となり得ることを示唆した。

Keywords: hair analysis, phencyclidine, disposition in hair

* 昭和薬科大学

中原雄二, 高橋一徳, 木倉瑠理: **ガスクロマトグラフィー/質量分析法による毛髪試料中のヘロイン代謝物の定量とヘロイン使用証明への応用**
分析化学, 44, 101~110 (1995)

ヘロイン投与のラットを用いて, ヘロイン代謝物(6-アセチルモルヒネとモルヒネ)の血漿から毛髪への取込について, GC/MS法により究明し, さらにヘロインの使用証明のための生体試料としての毛髪の有用性を血漿および尿試料と比較した。DA系ラット(5週令)にヘロイン2.5および5.0 mg/kgを1日1回10日間腹腔内投与し, 血漿, 尿および毛髪中の6-アセチルモルヒネとモルヒネをトリメチルシリル誘導体化してGC/MSにより定量した。得られた血漿中濃度時間曲線下面積と毛髪中薬物濃度を比較して, 血漿から毛髪への2つの代謝物の取込率を比較した。その結果, 6-アセチルモルヒネの毛髪への取込率は, モルヒネのそれより7倍以上であった。これは6-アセチルモルヒネがモルヒネより毛髪に取り込まれ易く, 蓄積し易いことを示している。次いで, ヘロイン使用証明用生体試料としての毛髪の有用性を血液や尿試料と比較した。6-アセチルモルヒネの検出可能な時間は, 血液や尿試料ではそれぞれ3~48時間以下であるのに反し, 毛髪試料では28日後に採取した試料から明確に確認できた。さらに, ヘロイン乱用者の毛髪からは1.4年前に相当する毛髪の部位からも6-アセチルモルヒネを確認した。このことは6-アセチルモルヒネが尿や血液中で不安定であるのに比べ, 毛髪中ではかなり安定であることを示している。毛髪試料が他の生体試料に比べ, 6-アセチルモルヒネの存在量の多さと1年以上の過去に遡って検出可能であるという点に関し, ヘロインの使用証明を行う上で, 著しく有用な試料であることが明らかになった。

Keywords: hair analysis, acetylmorphine, drug abuse

Nakahara, Y., Kikura, R. and Takahashi, K.: **Effect of structural factors on incorporation of drugs into hair**

Proceedings of International Conference for Hair Analysis in Forensic Toxicology, 28~49 (1995)

血液から毛髪への薬物の取込傾向を明らかにする目的で, 毛髪への薬物取込率(ICR)に及ぼす化学構造の影響を調べた。32種のアンフェタミン系薬物をそれぞれ単独にラットに投与し, 血漿中濃度時間曲線下面積と4週令の毛髪中薬物濃度を測定し, それぞれのICRを求めた。得られたICR値と化学構造の差異を比較した結果, 以下のことが明らかになった。

1. 窒素の炭素側鎖の長さによって毛髪への薬物取込は増加する。
2. ベンゼンやフラン環は毛髪への取込にプラスに働く。
3. 水酸基は毛髪への薬物取込を低くするが, マイナスの程度は芳香環水酸基のほうが脂肪族水酸基より強く働く。
4. シアノ基のような三重結合は毛髪への薬物取込にマイナスに働く。
5. 窒素にアシル基を導入すると, 塩基性が消失し, 毛髪への薬物取込はほとんどなくなる。
6. 芳香環上のmethylenedioxy基やメトキシ基は毛髪への薬物取込

を大きく上昇させる。

これらの結果は化学構造因子が毛髪への薬物の取込傾向に大きく影響することを示唆した。

Keywords : hair analysis, amphetamine analog, disposition in hair

Nakahara, Y., Takahashi, K., Kikura, R., Mieczkowski, T.*¹, Taglioro, F.*² and Foltz, R. L.*³: **New findings of hair analysis for hallucinogens (LSD, MDA/MDMA and PCP)**

Proceedings of International Conference for Hair Analysis in Forensic Toxicology, 161~184 (1995)

主要な3種の幻覚剤であるLSD, methylenedioxyamphetamine (MDMA), phencyclidine (PCP)の毛髪分析における新しい知見を報告した。LSDの毛髪への薬物取込率(ICR)は0.3~0.4を示し、有色ラットの毛髪によく取り込まれることを見出した。LSD使用者の頭髪中には多くの場合、1 pg/mg以下であったが、数例で10 pg/mg以上の濃度を示した。MDMAのラット毛髪へのICRは0.7~0.8を示し、非常に高い取込率であった。MDMA使用者の頭髪中に高濃度のMDMAとその脱メチル代謝物が検出された。PCPは50以上の乱用薬物の中で最も高いICR値を持つ薬物であることを明らかにした。また、ラットおよびヒト毛髪中からPCPと2つの主要水酸化代謝物も同時に検出・定量した。

Keywords : LSD, phencyclidine, methylenedioxyamphetamine

*¹ Univ. of South Florida, USA

*² Institute of Forensic Medicine, Univ. of Verona, Italy

*³ Center for Human Toxicology, Univ. of Utah, USA

Sekine, H.*¹, Nagao, S. and Nakahara, Y.: **Abuse of smoking MA mixed with tobacco: V. Species differences on metabolism of N-cyanomethylmethamphetamine in rat and mouse plasma, and on behavioral effects on rat and mouse.**

Biol. Pharm. Bull., 19, 845~851 (1996)

覚醒剤のタバコ喫煙熱分解物であるN-cyanomethylmethamphetamine (CMMA), N-formylmethamphetamine (FMA), methamphetamine (MA)を単独でマウスおよびラットに腹腔内注射し、血漿中の代謝物の濃度を測定し、濃度時間曲線下面積(AUC)を求めた。CMMA投与における血漿中のFMA濃度は動物間にはっきりとした種差が認められた。CMMA投与のラットにおいては、FMAが主代謝物で、MA, amphetamine (AP), CMMA, FAPと続き、マウスにおいては、MAが主代謝物で、AP, FMA, MA, FAPと続いた。FMA投与では、ラットにおいてFMAが圧倒的に多く、マウスでは、MAが主代謝物であった。一方、CMMAからMAへの変換は大部分が非酵素的に起きることを証明した。これらの結果から、CMMAからMAへの変換は2つの経路が存在することが推定された。1つは、N-cyanomethyl基の α -水酸化体が、cyanoformaldehydeの脱離でMAとなる経路と、他の1つは、 α -水酸化体が、HCNの脱離によりFMAとなる経路である。このCMMAからFMAへの変換はマウスよりラットにおいて主代謝経路であった。

Keywords : N-cyanomethylmethamphetamine, tobacco, behavioral effect

* 埼玉県警科捜研

Kuribara, K.*¹, Sekine, H.*² and Nakahara, Y.: **Characteristics of behavioral stimulant effect of N-cyanomethylmethamphetamine, a main product of smoking methamphetamine mixed with tobacco: Evaluation by ambulatory activity in mice**

Pharmacol. Toxicol., 78, 228~234 (1996)

覚醒剤をタバコに混ぜて喫煙乱用したときに生じるN-cyanomethylmethamphetamine (CMMA)の行動興奮作用をマウスを用いて評価した。CMMAの14.2および47.2 mg/kg皮下注射ではマウスの移動量を投与量依存で増加した。3日間のインターバルでの5回投与では初回に比べ5回目では2.6倍の作用の増強が認められた。また、CMMAは覚醒剤との交叉逆耐性を示し、覚醒剤もCMMAとの交叉逆耐性を示した。ハロペリドールは覚醒剤に対すると同様にCMMAの行動興奮作用を抑制した。本研究の結果、CMMAは覚醒剤とほぼ同様な行動興奮作用を有することが明らかになった。

Keywords : N-cyanomethylmethamphetamine, behavioral stimulant effect, methamphetamine

*¹ 群馬大学医学部

*² 埼玉県警科捜研

Kuribara, K.*¹, Sekine, H.*² and Nakahara, Y.: **Effect of haloperidol on the behavioral stimulation by N-cyanomethylmethamphetamine, a main product of smoking methamphetamine mixed with tobacco**

Eur. J. Pharmacol., 321, 172~177 (1996)

覚醒剤をタバコに混ぜて喫煙乱用したときに生じるN-cyanomethylmethamphetamine (CMMA)のマウス行動興奮作用に対するハロペリドールの影響を調べた。ハロペリドールの0.01~0.3 mg/kg皮下注射により、CMMAの興奮作用を抑制するだけでなく、その逆耐性の発生も抑制した。これらCMMAの行動活性(行動興奮作用、逆耐性の誘因、ハロペリドールでの抑制効果)はすべて覚醒剤の作用と同等であった。本研究の結果はCMMAは覚醒剤様の中樞興奮作用をもち、D2ドーパミン関与のメカニズムにCMMAが関係していることを示唆した。

Keywords : N-cyanomethylmethamphetamine, behavioral sensitization, methamphetamine

*¹ 群馬大学医学部

*² 埼玉県警科捜研

森本和滋, 日高哲郎*¹, 本広繁徳*¹, 七里寛江*¹, 奥田秀毅*¹, 坂口慶貴*², 高橋 尊*², 江島 伸一*², 長南義勝*², 早川堯夫: **遺伝子組換えヒトインスリン製剤の品質管理のための定量法としての逆相高速液体クロマトグラフ法**

医薬品研究, 26, 404~412 (1995)

遺伝子組換えヒトインスリン製剤(以下rh-インスリンと略す)の定量試験をバイオアッセイ法から、操作が簡便で、精度良く、しかも経済性に優れたヒトインスリンの定量法の開発を目指し、逆相高速液体クロマトグラフ法(RP-HPLC法)について検討した。rh-インスリン製剤を加温処理、曝光処理、振とう処理、酵素処理、変性剤処理の苛酷条件下にて保存し、ヒトインスリン残存率を、60~70%に減少するように処理を行った。これら被験試料をRP-HPLC法にかけ、ヒトインスリンピークを分取し、この画分についてRP-HPLC法により求めた力価と*in vivo*バイオアッセイ法によって求めた力価とを比較したところ、RP-HPLC法で求めた力価は、バイオアッセイ法による力価とほぼ同等であった。その結果、RP-HPLC

法によるヒトインスリンの定量は、完全な生物活性を保持するヒトインスリンのみを選択的に測定できる方法であることが示され、rh-インスリン製剤の定量法として品質管理試験において有用な方法と考えられる。この成果により、rh-インスリン製剤のバイオアッセイ法に代り、より高精度で迅速に定量出来る RP-HPLC 法が、薬局方の定量法や国家検定における定量法として、有用であることが示唆された。

Keywords : recombinant human insulin, stress condition, RP-HPLC

*1 塩野義製薬(株)製造本部

*2 ノボノルディスク ファーマ(株)厚木工場 品質管理部

Kawasaki, N., Morimoto, K., Tanimoto, T. and Hayakawa, T.: **Control of hemoglobin synthesis in erythroid differentiating K562 cells. 1. Role of iron in erythroid cell heme synthesis**

Arch. Biochem. Biophys., 328, 289~294 (1996)

K562 細胞を用いて、ヘモグロビン (Hb) 合成調節に関与する因子について検討した。まず、K562 細胞を酪酸で処理すると、Hb 合成の亢進とグリコホリン A 発現量の増加が認められた。また、Hb 合成量の増加と δ -アミノレブリン酸合成酵素 (ALAS) 活性の増加は、ほぼ同時に起きること、また、トランスフェリン鉄 (FeTf) 濃度に依存することが明らかになった。さらに、Hb 合成は、培地に添加した δ -アミノレブリン酸 (ALA) 濃度に依存して亢進されること、また、Hb 合成量は、ALA 脱水酵素阻害剤スクニルアセトン (SA) によって 50% に阻害されることが示された。以上の結果から、赤芽球分化過程において ALAS がヘム合成の律速酵素であること、FeTf は ALAS 活性を調節することを介して Hb 合成全体を調節していることが示唆された。一方、エリスロポエチン (EPO) は、K562 細胞のグリコホリン A 発現量をわずかに低下させたが、Hb 合成は亢進させなかった。ヘミンは、Hb 合成を亢進させたが、グリコホリン A の発現には影響しなかった。また、ヘミン処理細胞の Hb 合成は、ALA, SA および FeTf の影響を受けなかった。このように、酪酸、ヘミンおよび EPO 処理細胞は、Hb 合成において異なる挙動を示すことが明らかとなった。

Keywords : K562 cells, δ -aminolevulinic acid synthase, diferric transferrin

Kawanishi, T., Uneyama, C., Toyoda, K., Ohno, Y., Takanaka, A. and Takahashi, M.: **Suppression of Na⁺ Influx in ATP-depleted Hepatocytes**

Life Sci., 57, 355~361 (1995)

初代培養肝細胞の ATP 合成系を阻害することにより細胞内 ATP 量を減少させた細胞において、細胞内ナトリウムイオン濃度変化を測定したところ、ATP の枯渇が著しいオリゴマイシン処置細胞等においてもナトリウムイオン濃度上昇が極めて遅い場合がみられた。そこでウアバインによってナトリウムポンプを強く阻害した細胞におけるナトリウムイオン濃度上昇について、正常細胞と ATP 枯渇細胞とを比較した所、ATP 枯渇細胞の方がナトリウムイオン上昇が遅かった。この結果から、ATP 枯渇細胞ではナトリウムイオンの細胞内流入が抑制されていることが示唆された。この抑制は細胞傷害時の細胞の防御メカニズムの一つといえるかもしれない。

Keywords : sodium, ATP-depletion, hepatocyte

Kawanishi, T., Kato, T.*, Asou, H.*, Uneyama, C.,

Toyoda, K., Momose, K.*, Takahashi, M. and Hayaishi, Y.: **Hepatocyte growth factor-induced calcium waves in hepatocytes as revealed with rapid scanning confocal microscopy**

Cell Calcium, 18, 495~504 (1995)

HGF (肝細胞増殖因子) 刺激による初代培養肝細胞の細胞内遊離カルシウムイオン濃度上昇を高速高分解に画像化すると、ホルモン性刺激同様にウェーブ状の上昇が生じることが観察された。このカルシウムウェーブの空間的パターンは細胞が同じであればホルモン性刺激の場合と同じであり、イノシトール三リン酸の上昇によって生じるカルシウムウェーブの空間的パターンは同一であることが示唆された。また、カルシウムイオン濃度上昇の大きさも、細胞個々の反応性の指標と考えられるウェーブが生じるまでの時間は、HGF 刺激とフェニレフリン刺激では細胞個々で大きく異なった。以上の結果から、ウェーブのパターンは細胞表面の受容体の局在によって決定されるのではなく、イノシトール三リン酸の生成以降のメカニズムによって決定されていることが示唆された。

Keywords : calcium wave, hepatocyte growth factor, confocal microscopy

* 昭和大学薬学部

Tanaka, H.*1, Kawanishi, T., Kato, Y.*1, Nakamura, R.*2 and Shigenobu, K.*1: **Insulated propagation of cytoplasmic Ca²⁺ oscillation into the nucleus in cardiac myocytes as revealed by rapid scanning confocal microscopy and indo-1**

Jpn. J. Pharmacol., 70, 235~242 (1996)

高速走査型共焦点レーザー顕微鏡および蛍光プローブ indo-1 を用いて単離心室筋細胞における細胞内遊離カルシウムイオン濃度を画像化した。静止レベルのカルシウムイオン濃度は細胞質領域と核領域では差はなかったが、電気刺激をすると細胞質領域に遅れて核領域が上昇し、下降についても核領域の遅れが観察され、カルシウムイオン濃度に乖離が生じた。パッチクランプによって細胞を脱分極させると、細胞質領域のカルシウムイオン濃度は上昇し、ピークに達した後減少するが、高いレベルに留まったままプラトー相を形成し、再分極させると初めて静止時のレベルまでもどった。一方核領域では脱分極によって細胞質領域に追従するように上昇し、細胞質領域のプラトー相とほぼ同じレベルまで上昇し、続いて再分極すると細胞質に遅れて下降した。また核領域を横切るカルシウムウェーブを画像化して詳細に解析すると、細胞質から核領域にウェーブが伝わる際に伝播が遅れが生じていることが明らかとなった。以上の結果から、カルシウムイオン濃度上昇時における核領域と細胞質領域のカルシウムイオン濃度の乖離は、細胞質で生じるカルシウムイオン濃度の上昇が核領域に伝わる際に核膜が障壁となって遅れが生じるためであることが示唆された。

Keywords : calcium, myocyte, confocal microscopy

*1 東邦大学薬学部

*2 (株)ニコン顕微鏡設計

Ohata, H.*, Kawanishi, T., Hisamitsu, T.*, Takahashi, M. and Momose, K.*: **Functional coupling of the Na⁺/Ca²⁺ exchanger with Ca²⁺ release from intracellular stores in cultured smooth muscle cells of guinea pig ileum**

Life Sci., 58, 1179~1187 (1996)

モルモット小腸縦走筋から得た平滑筋細胞を培養し、蛍光顕微鏡画像解析法によって細胞内遊離カルシウムイオン濃度変化を測定したところ、栄養液のナトリウムイオン濃度を減少させると、直後にカルシウムイオン濃度が大きく上昇した。この上昇は細胞外のカルシウムイオンを除いても観察されるが、複数回繰り返すと消失した。またタブシガルジンで細胞内貯蔵部のカルシウムイオンを枯渇させても消失した。以上の結果から、心筋細胞で報告されているような形質膜のナトリウムイオン/カルシウムイオン交換系と細胞内カルシウムイオン放出機構との機能的なカップリングが、平滑筋細胞でも存在することが示唆された。

Keywords : sodium, calcium, smooth muscle cell

* 昭和大学薬学部

Fukuoka, M., Kobayashi, T. and Hayakawa, T.: **Mechanism of testicular atrophy induced by di-n-butyl phthalate in rats. Part 5. testicular iron depletion and levels of ferritin, haemoglobin and transferrin in the bone marrow, liver and spleen**

J. Appl. Toxicol., 15, 379~386 (1995)

本研究は骨髄、肝臓および脾臓でのフェリチン、トランスフェリン、ヘモグロビンの代謝を研究し、血液および精巣中の鉄の減少は肝臓と脾臓でのトランスフェリンおよびヘモグロビンからの鉄の遊離に関係することを提案している。

Keywords : rat testicular atrophy, iron, transferrin, ferritin

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**

Bio. Pharm. Bull., 17, 1609~1612 (1994)

本研究はフタル酸エステルで暴露された赤血球が鉄を遊離するメカニズムを *in vivo* および *in vitro* 実験系で証明した。

Keywords : erythrocyte, iron release, hemoglobin

Uchida, E., Shimokawa, S.*¹, Takasu, H.*¹, Ikehara, M.*¹, Uesugi, S.*¹, Tomita, K.*¹, Tanaka, A., Morikawa, M.*², Nishikawa, S.*¹ and Hayakawa, T.: **Activity of artificial mutant variants of human growth hormone changes in charged residues around 62-67**

Biol. Pharm. Bull. 18(6), 797~801 (1995)

ヒト成長ホルモン (hGH) の 62~67 位における荷電アミノ酸残基がレセプターとの結合および生物活性の発現にどのような役割を演じているかについて明らかにする目的で、遺伝子工学的に 8 種類の変換体を作成し、hGH の脂肪前駆細胞に対する結合性および分化誘導活性を指標に検討した。その結果、(a) Arg64 の Tyr への変換体では受容体への結合は著明に減少したが、分化誘導活性は維持された、(b) Arg64 の Glu への変換体では受容体への結合能、分化誘導能とも減少した、(c) Glu65 あるいは Glu66 が Asp や Gln に変換した変換体では、受容体への結合能はやや減少するものの、分化誘導能はほとんど影響をうけなかった、(d) Glu65 の Pro への変換体は結合能を有するが、分化誘導能は低下した、(e) Asn63 と Arg64 の間に Ala が挿入された変換体では結合能、分化能のいずれも著明に抑制された。以上の結果から、正に荷電した Arg64 がレセプターとの結合ひいては生物活性の発現に

重要であること、その一方で、負に荷電した Glu65 や Glu66 は重要でないこと、さらには、Arg64 周辺のループ領域のコンフォメーションおよびサイズが活性発現に重要であることを明らかにした。

Keywords : human growth hormone, structure-activity relationship, preadipocyte

*¹ 大阪大学

*² 東京免疫薬理研究所

谷本 剛, 横田 橋江, 早川 堯夫: **トロンビンの合成基質を用いた定量法の確立に関する基礎的研究**
医薬品研究, 27, 132~135 (1996)

日局トロンビンの定量法の改良を目指して、トロンビンに対して特異性の高い合成基質である D-フェニルアラニルピペコリルアルギニン-*α*-ニトロアニドを用いた定量法確立のための基礎的検討を行った。その結果、本基質を用いたトロンビンの活性測定条件を決定することができた。この活性測定法は、日局に規定されている凝固法と比較して操作時間が約 1/5 に短縮され、操作自体もきわめて安易な方法であった。また、測定精度に関しても合成基質法はその変動係数が 1.2% であり、日局法 (変動係数: 6~21%) より明らかに低く、この点に関しても合成基質法は優れていた。

Keywords : Japanese Pharmacopoeia, thrombin, chromogenic substrate

Okuyama, E.*¹, Okamoto, Y.*¹, Yamazaki, M.*¹ and Satake, M.: **Pharmacologically active components from peruvian medicinal plant, Huanarpo (*Jatropha cillata*)**

Chem. Pharm. Bull., 44(2), 333~336 (1996)

“ワナルボ”はトウダイグサ科の植物 *Jatropha cillata* の全草で、ペルーの伝統生薬である。この生薬の抗うつ作用を検討したところ、flavone C-glycoside と fraxetin が活性化合物であった。

Keywords : *Jatropha cillata*, flavone C-glycoside, Huanarpo

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chiba University

酒井英二, 飯田 修, 齊藤雄二*, 大野昌子*, 佐竹元吉: **ムラサキの栽培研究 施肥と栽培期間**

Natural Medicines, 50(1), 41~44 (1996)

消炎作用のあるシコンの起源植物ムラサキの栽培方法を施肥と成分を考慮して検討した。施肥量が多いと生育阻害を起こすが、未肥料では生育が遅れるので、ナフトキノンの量を考慮すると栽培期間は 2~3 年で、通常の施肥量の 1/5 量程度が経済的な栽培条件である。

Keywords : *Lithospermum erythrorhizon*, cultivation, fertilized condition

* 鐘紡㈱

Ozaki, Y., Lujian X. and Satake, M.: **Accelerative effect of “Nanshikon” and its constituents on the proliferation of granuloma tissue in rats**
Biol. Pharm. Bull., 19, 233~236 (1996)

紫根は、中国では硬紫根および軟紫根の区別なく、解熱、消炎および火傷の治療などに用いられているが、日本では、硬紫根のみが認められており (局方収載)、同様の目的で使用されている。この使用目的から、紫根の薬理作用として肉芽形成促進作用が期待されるので、中国産の軟紫根の

含有成分の光学異性体の相違を含めて肉芽形成促進作用の活性成分の検討を行い、さらに、軟紫根のこれら含有成分および薬理作用の硬紫根との同等性について考察した。軟紫根のエーテルエキス中に含まれる種々のシコニン系色素成分の局所投与はラットでの綿球誘発肉芽形成の促進作用を示した。これらシコニン系色素成分中でテラクリルシコニン、 β,β -ジメチルアクリルシコニン、 α -メチルブチルシコニン、イソバレリルシコニンが量的に多く、また、薬理作用の効力が強かった。これらのことから、軟紫根のエーテルエキスが示した肉芽形成促進作用発現にはこれら4種の化合物が主として関与しており、また、他の成分もこれら成分と共に相加的に作用していることが示唆された。

Keywords: *Macrotomia euchroma*, granuloma tissue, accelerative effect

尾崎幸絃：山椒の薬効・薬理

現代東洋医学, 16, 429~431 (1995)

日本では、山椒は基原植物としては *Zanthoxylum piperitum* De Candolle またはその他同属植物の成熟した果皮と規定されている。中国ではこれら植物の葉、種子および根をそれぞれの証に従い用いている。この山椒は、漢方処方として大建中湯、当帰湯および椒梅湯の構成生薬として用いられている。これら処方は、薬効分類として神経系用薬中の漢方鎮痛鎮痙薬として、また、消化器官用薬中の漢方駆虫薬に使用されている。これらのことから、山椒の現在までに行った、あるいは報告されている薬理作用について検討し、山椒が配合されている漢方処方の効果、効果に対する山椒の薬理学的関与の程度について考察した。また、中国で使用されている山椒の葉、種子および根の薬理作用について考察した。

Keywords: *Zanthoxylum piperitum*, pharmacological effect, clinical use

Suzuki, H., Harada, M., Satake, M. and Mursito, B.*¹: **Determination of arecoline and arecaidine in areca by reverse-phase, ion-pair high-performance liquid chromatography**

Natural Medicines, 49(3), 303~307 (1995)

アレコリンとアレカイディンのクロマトグラフ上の挙動を逆相・イオン対高速液体クロマトグラフ法により調べ、次いでそれらのアルカロイドを含むビンロウジの分析法を検討した。移動相はイソクラティックな条件を採用し、その最適化条件の検討を、水・メタノール・ラウリル硫酸ナトリウム・リン酸の配合比、カラム温度について行った。設定条件で試料を分析したところ、対象アルカロイド由来の大きな二つのピークは他の二つの小さなピークから分離させることができた。この時、各成分の検出限界はいずれも S/N 比 3:1 で 0.01% であった。また 12 種類の試料の分析結果から、アレコリンとアレカイディンの含量範囲はそれぞれ 0.09~0.68% (平均 0.31%) と 0.11~0.58% (平均 0.39%) であった。

Keywords: *Areca catechu*, arecoline, high-performance liquid chromatography

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

相楽和彦*¹, 平山総良*¹, 並木千穂*¹, 伊藤祐二*¹, 永井吉澄*², 鈴木英世, 佐竹元吉: **高速液体クロマトグラフ法によるオウゴン中のバイカリンの定量法**

医薬品研究, 27(5), 243~254 (1996)

HPLC 法によるオウゴン中のバイカリンの定量を検討

した。カラムとして ODS 系のもの、また移動相として薄めたリン酸 (1→146)・アセトニトリル混液 (18:7) を用いた。オウゴンからのバイカリンの抽出はその粉末を移動相で加熱還流して行った。設定した条件で HPLC を実施すると、注入後、20 分以内にバイカリンは溶出する。オウゴン中のバイカリンの平均含量は 14.70% (CV 13.7%) であった。なおオウゴン 57 試料から求めた平均の乾燥減量は 10.06% (CV 7.7%) であった。今回、バイカリンの定量用標準としての純度試験法などの規格の設定も同時に行った。これらの結果が 13 局の検討で生かされ、オウゴンの成分含量測定法設定の基礎資料となった。

Keywords: *Scutellariae radix*, baicalin, high-performance liquid chromatography

*¹ 東京医薬品工業協会

*² 日本生薬連合会

相楽和彦*¹, 須藤桂一*¹, 伊藤祐二*¹, 永井吉澄*², 鈴木英世, 佐竹元吉: **高速液体クロマトグラフ法によるマオウ中のアルカロイドの定量法**

医薬品研究, 27(5), 255~261 (1996)

HPLC 法によるマオウ中のエフェドリンおよびプソイドエフェドリンの定量を検討した。カラムとして ODS 系のもの、また移動相としてイオンペア溶媒の SDS の溶液 (1→128)・アセトニトリル・リン酸混液 (640:360:1) を用いて行った。設定した条件によりマオウ中のエフェドリン、プソイドエフェドリン、その他の成分が、良好なピークとして分離した。本定量では、標準にエフェドリンのみを用い、プソイドエフェドリン含量はエフェドリン含量に換算し、両者の和を総アルカロイド含量とした。乾燥したマオウを本定量法で測定するとき、総アルカロイドは 0.7% 以上であった。以上の結果は 13 局の検討で生かされ、マオウの定量法設定の基礎資料となった。

Keywords: high-performance liquid chromatography, Ephedra herb, ephedrine

*¹ 東京医薬品工業協会

*² 日本生薬連合会

Shirota, O., Sekita, S., Satake, M., Ni, Y.* and Weiyi, H.*: **Chemical constituents of Chinese folk medicine "Sân Léng", *Sparganium stoloniferum***

J. Nat. Prod., 59, 242~245 (1996)

"Sân Léng" (三稜) は月経痛、月経不順、消化不良などに用いられる生薬であり、ミクリ科のミクリとカヤツリグサ科のウキヤガラなどが基原植物とされる。この二つの植物は生薬の外見も異なり、またどちらも含有成分の解明は成されていない。今回、両基原植物の成分の解明・比較を目的として、ミクリの成分検索を行った。ミクリ (*Sparganium stoloniferum* Buch.-Hamil.) 塊茎 3.6 kg をメタノールにて抽出し、ジクロロメタン可溶画分をシリカゲルオープンカラムにて分画後、シリカゲルおよび ODS 中圧カラム等にて精製することにより 6 種の化合物を単離した。これらの化合物の構造は、二次元 NMR 解析を含むスペクトルデータの解析、および化学反応などにより、3 種の既知フェニルプロパノイド・グリセライドおよび 3 種の新規フェニルプロパノイド・グルコサイドであると決定した。

Keywords: *Sân Léng*, *Sparganium stoloniferum* Buch.-Hamil., chemical constituents

* 天津薬物研究院

Kamano, Y.*¹, Zhang, H.*¹, Morita, H.*², Itokawa,

H.*², Shirota, O., Pettit, G. R.*³, Herald, D. L.*³ and Herald, C. L.*³: **Conformational analysis of a marine antineoplastic macrolide, Bryostatin 10**
Tetrahedron, **52**, 2369~2376 (1996)

海洋抗腫瘍性マクロライドであるブリオスタチン 10 の重クロロホルム中でのコンフォメーションを分光分析学のおよび計算化学的手法を用いて解析した。まず、ブリオスタチン 10 の重クロロホルム中でのプロトンシグナルを、600 MHz での同種核二次元 NMR スペクトル解析の組み合わせにより完全に帰属した。次に溶液状態のコンフォメーションを位相差 ROESY スペクトル、水酸基プロトンの温度可変効果、および ³J ビシナルカップリング定数を用いることにより解析した。ROE 距離情報等を拘束条件とした分子動力学シミュレーションによって溶液状態での良く限定されたコンフォメーションが得られ、これは固体状態で観測されているブリオスタチン 2 のコンフォメーションと類似していることが明らかとなった。

Keywords : conformational analysis, Bryostatin 10, antineoplastic, macrolide

*¹ 神奈川大学理学部

*² 東京薬科大学薬学部

*³ アリゾナ州立大学化学科

Morita, H.*¹, Yoshida, N.*¹, Takeya, K.*¹, Itokawa, H.*¹ and Shirota, O.: **Configurational and conformational analyses of a cyclic octapeptide, lyciumin A, from *Lycium chinense* MILL.**

Tetrahedron, **52**, 2795~2802 (1996)

アンギオテンシン変換酵素阻害活性を示す珍しいオクタペプチドであるリシウミン A の立体配置およびコンフォメーションを、分光分析学のおよび計算化学的手法を用いて解析した。重ピリジン中、600 MHz での同種核および異種核二次元 NMR スペクトル解析によって求めたリシウミン A の完全な立体構造は、AMBER 力場を用いたモンテカルロ法と拘束分子動力学計算法により得られた立体構造と一致した。また、NH-C α H カップリング定数、NH プロトンの温度依存性、および NOE 距離情報を拘束条件とした分子動力学計算により求められたリシウミン A の重ピリジン中でのメジャー溶液コンフォーマーは、環状骨格を形成する Val と Gly 残基間においてタイプ II β ターン様のコンフォメーションを取ることが明らかとなった。

Keywords : conformational analysis, Lyciumin A, cyclic octapeptide

* 東京薬科大学薬学部

Kawahara, N., Sekita, S. and Satake, M.: **Steroides from *Calvatia cyathiformis***

Phytochemistry, **38**, 947~950 (1995)

中国において止血、咽頭部の痛み止め等に使用されている菌類生薬、紫色馬勃 *Calvatia cyathiformis* の成分検索を行い、現在までに乾燥子実体塩化メチレン抽出エキスより 3 種の新規ステロイドを単離、構造決定している。今回さらに本抽出エキスより calvasterol A, B と命名した新規ステロイド誘導体を見出した。これらの化合物は二次元 NMR を中心とする各種スペクトルデータ解析および化学変換反応より立体構造を含めてそれぞれ 14 α -hydroxy-ergosta-4,7,9,22-tetraen-3,6-dione, 9 α , 14 α -dihydroxy-ergosta-4,7,22-trien-3,6-dione と決定した。

Keywords : calvasterol A, calvasterol B, *Calvatia cyathiformis*

Ayer, W., A.*¹ and Kawahara, N.: **Lecythophorin, a potent inhibitor of blue-stain fungi, from the hyphomycetous fungus *Lecythophora hoffmannii***
Tetrahedron Letters, **36**, 7953~7956 (1995)

現在カナダにおいて最も重要な木材資源の一つである落葉高木、アスペンはその需要の増加に伴い、青変菌と呼ばれる植物病原菌による着色、腐食が大きな問題となっている。青変菌に拮抗する菌類のスクリーニングより見いだされた真菌、*Lecythophora hoffmannii* の活性成分の検索を行い、本菌株の米培地アセトン抽出エキスより lecythophorin と命名した新規抗真菌性物質を単離し、各種スペクトルデータ解析および化学変換反応よりその構造を決定した。lecythophorin は 1 μ g/ml の濃度で青変菌の生育を阻害した。

Keywords : lecythophorin, *Lecythophora hoffmannii*, blue-stain fungus

*¹ アルバータ大学

Koshimizu, T.*¹, Tsujimoto, G.*¹, Ono, K., Masaki, T.*² and Sakamoto, A.*³: **Truncation of the receptor carboxyl terminus impairs membrane signaling but not ligand binding of human ET_B endothelin receptor**

Biochem. Biophys. Res. Comm., **217**, 354~362 (1995)

ヒト ET_B 受容体 (442 アミノ酸残基よりなる) の C 末端細胞内領域には 4 個のバルミトイレーション部位と 12 個のリン酸化可能な部位がある。受容体情報伝達におけるこれら修飾部位の機能的役割を知るため、一連の C 末端欠損受容体を作成し、Ltk⁻細胞に発現させた。すべての C 末端欠損受容体は野生型の受容体とほぼ同等のリガンド結合能を有していた。Cys-402 を保持した受容体では野生型受容体と同様のカルシウム反応とその脱感作を起こしたが、Cys-402 を超えて短くした受容体ではカルシウム反応を惹起できなかった。これらのことより、ヒト ET_B 受容体の 402 番目の Cys 残基がカルシウム反応の仲介に必須であること、そして 12 個のリン酸化部位のうち少なくとも 10 個はエンドセリンによる脱感作には関与していないことが判明した。

Keywords : endothelin receptor, signal transduction, deletion mutant

*¹ 国立小児病院

*² 京都大学医学部

*³ 東京大学医学部

中村晃忠: **医用材料の細胞毒性試験における標準材料組織培養**, **22**, 228~233 (1996)

医療用具・医用材料の生物学的評価において細胞毒性試験は必須の試験であるが、各国の標準試験法の手法は様々であり、データの互換性はない。日本の医療用具生物試験法ガイドライン作成にあたって、多様な手法をつなぐ共通の物差しとして、毒性強度の異なる二つの陽性対照材料を導入することにした。この戦略と陽性対照材料の標準化の過程について述べた。

Keywords : cytotoxicity test, positive reference materials, Japanese Guidelines

Sato, M., Xi, T.*¹, Nakamura, A., Kawasaki, Y., Umemura, T., Tsuda, M. and Kurokawa, Y.: **Degradation of polyetherurethane by subcutaneous implantation into rats. II. Changes of contact angles, infrared spectra, and nuclear magnetic resonance**

spectra

J. Biomed. Mater. Res., **29**, 1201~1213 (1995)

2種のポリウレタン (PEU) (U3, U8) をエチレン・ヒニルアルコール共重合体のフィルムに薄くコーティングして, *in vivo* での分解反応を研究した。U-3は4,4'-ジフェニルメタンイソシアネート (MDI) とポリテトラメチレンオキサイド1000 (PTMO) からなる非セグメント化PEUで, U-8はさらにブタンジオールを加えたセグメント化PEUである。今回は摘出した材料を接触角, ATR-IR, NMRで解析した。これらの結果から, PTMO/MDIオリゴマーは埋植初期の段階で材料表面に拡散し, 次いで, 低分子量分画のオリゴマーが浸出液に溶出し, 分解は2~4週後に優勢になることがわかった。U-8の場合は24週の埋植で約35~40%のPTMO分画が表面から減少し, U3の場合では10週で殆ど消失することが明らかになった。U3では分子量の減少も認められた。U3はU8より速く分解していた。また, 今回のIR, NMRのデータからは酸化分解の証拠は得られなかった。

Keywords : polyurethane, biodegradation, implantation

* 中国薬品生物製品検定所

Yagami, T., Sato, M. and Nakamura, A.: **Plant defense-related proteins eluting from latex gloves and ammoniated latex: Potential latex allergens**

J. Nat. Rubb. Res., **10**, 100~107 (1995)

天然ゴム製品が原因で発症するラテックスアレルギーのアレルゲンを究明するにあたり, 患者が天然ゴム製品のみならず植物性食品や花粉に対してもアレルギーを示すことに注目した。この事実, 植物の生体防御反応によって誘導される蛋白質には種によらない一定の構造類似性があると報告されていることを考え合わせ, 「植物の生体防御蛋白質がラテックスアレルゲンであり交差抗原である」という仮説を立てた。この仮説に基づいて手術用および家庭用ラテックス製手袋の抽出液, さらに, 製造原料であるアンモニアラテックスの抽出液を分析したところ, 植物の生体防御に関与すると考えられるリゾチーム (EC 3.2.1.17), キチナーゼ (EC 3.2.1.14), β -1,3-グルカナーゼ (EC 3.2.1.6) およびカルボキシエステラーゼ (EC 3.1.1.1) の活性をすべての抽出液から実際に検出することができた。さらに, リゾチーム, キチナーゼおよび β -1,3-グルカナーゼ活性を有する各蛋白質は, 文献に記載されているラテックスアレルゲン群に近い熱安定性や分子量を有することを明らかにした。このような結果は, 当初の仮説の正当性を強く支持するものである。

Keywords : latex allergy, defense-related protein, cross-reaction

Yagami, T., Sato, M., Nakamura, A. and Shono, M.*: **One of the rubber latex allergens is a lysozyme**

J. Allergy Clin. Immunol., **96**, 677~686 (1995)

天然ゴム製品が原因で発症するラテックスアレルギーは, 製品から溶出する複数の蛋白質がアレルゲンであるとされているが, それらの具体的な特徴についてはほとんどわかっていない。著者らは, 天然ゴム製品のみならず果物などに対してもアレルギーを示す患者が多いことに着目し, 「植物の生体防御蛋白質がラテックスアレルゲンであり交差抗原である」という仮説を立てた。この仮説の正当性を検証するため, 代表的な植物の生体防御蛋白質であるリゾチームを取り上げ, ラテックスアレルギーとの関連性を調べた。家庭用手袋の抽出液から各種クロマトグラフィー操作により分離したリゾチームは約27 kDの塩基性蛋白質

であり, 果物に含まれるリゾチームと非常に類似した酵素活性の特徴を有していた。また, このリゾチームが患者血清中のIgE抗体によって特異的に認識されるラテックス抗原の一つであることが, イムノプロットングにより確認された。このような結果は, 仮説の正当性を強く支持するものである。さらに, 繰り返しの傷付けや植物ホルモンの適用といったストレスが, ゴムの木に生体防御蛋白質を多量に誘導させる要因である可能性を指摘した。

Keywords : latex allergy, defense-related protein, lysozyme

* しょうの皮膚科

Yagami, T., Kitagawa, K.*¹ and Futaki, S.*²: **Liquid secondary-ion mass spectrometry of peptides containing multiple tyrosine-O-sulfates**

Rapid Commun. Mass Spectrom., **9**, 1335~1341 (1995)

硫酸化チロシン残基を複数個含むペプチドが, 液体二次イオン質量分析法においてどのような質量スペクトルとして記録されるかを調べた。硫酸化チロシンをn残基 (n=1, 2, 3) 含むペプチドの正イオンスペクトルでは, $[M+H-nSO_3]^+$ イオンピークが強く検出された。一方, 負イオンスペクトルでは, $[M-H-mSO_3]^-$ イオンピーク $m=0, 1, \dots, (n-1)$ が強く検出された。使用するマトリックスを変えてもフラグメンテーションパターンに本質的な変化が見られなかったことから, 硫酸化チロシン含有ペプチドの気相での挙動が特徴的なパターンの形成に寄与していることがわかった。著者らは, 硫酸化チロシン残基の気相における挙動は液相における酸不安定性と反応機構的に密接な関連があるのではないかと考えた。さらに, プロトンが硫酸化チロシン残基の気相における挙動と液相における挙動を結びつける重要な役割を担っていると推測した。そして, プロトンによって触媒される脱硫酸化の液相における反応機構を気相中のイオンに適用し, 正負イオンモードの質量スペクトルに記録された特徴的なフラグメンテーションパターンの形成理由を説明した。

Keywords : LSIMS, tyrosine-O-sulfate, fragmentation

*¹ 新潟薬科大学

*² 徳島大学薬学部附属医薬資源教育研究センター

Yagami, T., Kitagawa, K.*¹ and Futaki, S.*²: **Analysis of sulfated tyrosine-containing peptides by liquid secondary-ion mass spectrometry with constant neutral-loss (80 amu) scanning**

Anal. Sci., **11**, 1025~1028 (1995)

硫酸化チロシン含有ペプチドの液体二次イオン質量スペクトルには-80 amu (-SO₃) というフラグメンテーションピークが強く現れることに注目し, コンスタントニュートラルロス (80 amu) 測定が硫酸化チロシン含有ペプチドの構造解析や特異的検出に有用であるかどうかを調べた。ロイシンエンケファリン硫酸化体をモデルペプチドとして選び, 衝突活性化条件でのリンクトスキャン法によるMS/MS測定を試みたところ, 娘イオンスペクトルに加えてコンスタントニュートラルロス (80 amu) スペクトルにも構造情報に富む多くのフラグメントイオンが検出され, 構造解析が可能であった。また, 硫酸化チロシン含有蛋白質の酵素分解物モデルとしてBSAのトリプシン消化物にCCK-8硫酸化体を添加したペプチド混合物を調製し, コンスタントニュートラルロス (80 amu) 測定を行ったところ, CCK-8硫酸化体の特異的検出が可能であった。CCK-8硫酸化体の代わりにロイシンエンケファリン硫酸化体を添加した場合にも, 特異的検出が可能であった。こ

のような結果は、コンスタントニュートラルロス (80 amu) 測定が硫酸化チロシン含有ペプチドの分析に非常に有用であることを示すものである。

Keywords : LSIMS, tyrosine-*O*-sulfate, constant neutral-loss

*1 新潟薬科大学

*2 徳島大学薬学部附属医薬資源教育研究センター

Kaniwa, M., Shono, M.*¹, Hayakawa, R.*², Ukei, C.*², Ogino, Y.*², Nakagawa, M.*³, Kawai, K.*³, Isama, K., Nakamura, A.: **A study of the relevance between causative chemicals and products on allergic contact dermatitis due to *p*-*tert*-butylphenol formaldehyde resin in Japan**

Environmental Dermatology, 2(2), 89~93 (1995)

1985~1992年にかけて、*p*-*tert*-butylphenol formaldehyde resin (PTBP-FR) によるアレルギー性接触皮膚炎9例について、患者でのパッチテストおよび原因ゴム製品の化学分析を併用して検討した。すなわち、すべての事例において、患者でのパッチテストでPTBP-FRが陽性反応を示した。そして、7例において、原因製品となった靴用接着剤、テーピングテープ、スニーカー、革製サンダル、膝用補強具のパッドおよびアンダークッション、雨具から、PTBP-FRとともに、その原料である *p*-*tert*-butylphenol (PTBP) を検出した。一方、マーカーペンによる事例では、PTBPを確認できたが、PTBP-FRは共存する色素の妨害のため確認できなかった。また、合成皮革製靴による事例では、PTBP、PTBP-FRともに確認できなかったことから、PTBP-FRの含有量が検出限界以下であったか、実際に使用されていないかとの予想された。

Keywords : allergic contact dermatitis, *p*-*tert*-butylphenol formaldehyde resin, *p*-*tert*-butylphenol

*1 しょうの皮膚科

*2 名古屋大学医学部付属病院分院皮膚科

*3 京都河合医院皮膚科

Kaniwa, M.: **Allergen explanation. PPD-black rubber mix, *N*-isopropyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine (IPPD), *N*, *N'*-diphenyl-*p*-phenylenediamine (DPPD), *N*-1, 3-dimethyl-butyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine (DMBPPD)**

Environmental Dermatology, 2(2), 151~160 (1995)

ゴム製品によるアレルギー性接触皮膚炎の代表的なアレルギー性物質について、化学的性状、事例報告ならびに患者でのパッチテスト結果、感作性試験結果などを最新の文献などを参照しながらまとめた。すなわち、ゴム老化防止剤として使用される *p*-フェニレンジアミン化合物について、パッチテスト用標準の PPD black rubber mix の構成成分である *N*-isopropyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine (IPPD), *N*, *N'*-diphenyl-*p*-phenylenediamine (DPPD), *N*-1, 3-dimethyl-butyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine (DMBPPD) を取り上げ、皮膚アレルギー性に関する情報をまとめた。

Keywords : allergic contact dermatitis, rubber, *p*-phenylenediamine-type antioxidant

Kaniwa, M., Isama, K., Nakamura, A., Miyako, F.*¹, Jidoi, J.*¹ and Nishioka, K.*²: **Analysis of allergenic antioxidants in agricultural rubber boots**

Environmental Dermatology, 2(3), 170~177 (1995)

農作業用ゴム長靴によるアレルギー性接触皮膚炎事例に

ついて原因究明を実施するために、その一環として、日本における市販の農作業用ゴム長靴について分析調査を行った。すなわち、代表的なゴムアレゲンである、アミン系老化防止剤の *N*-isopropyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine (IPPD) とともに、老化防止剤の *N*-1, 3-dimethyl-butyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine (DMBPPD), 6-ethoxy-2, 2, 4-trimethyl-1, 2-dihydroquinoline (ETM-DQ), diphenylamine (DPA) が含まれていることを確認した。これらの4化合物はいずれもアレルギー性物質であることが確認されていることから、これらの化合物が農作業用ゴム長靴によるアレルギー性接触皮膚炎事例の原因化学物質となりうることを明らかにできた。

Keywords : allergic contact dermatitis, agricultural rubber boot, amine-type antioxidant

*1 島根医科大学皮膚科

*2 山口赤十字病院皮膚科

Kaniwa, M.: **Allergen explanation. Mercapto mix, mercaptobenzothiazole (MBT), dibenzothiazyl disulfide (MBTS), cyclohexylbenzothiazyl sulfenamide (CBS), morpholinylmercaptobenzothiazole (MMBT)**

Environmental Dermatology, 2(3), 228~237 (1995)

ゴム製品によるアレルギー性接触皮膚炎の代表的なアレルギー性物質について、化学的性状、事例報告ならびに患者でのパッチテスト結果、感作性試験結果などを最新の文献などを参照しながらまとめた。すなわち、ゴム加硫促進剤として使用されるメルカプトベンゾチアゾール (MBT) 系化合物について、パッチテスト用標準の Mercapto mix の構成成分である mercaptobenzothiazole (MBT), dibenzothiazyl disulfide (MBTS), cyclohexylbenzothiazyl sulfenamide (CBS), morpholinylmercaptobenzothiazole (MMBT) を取り上げ、皮膚アレルギー性に関する情報をまとめた。

Keywords : allergic contact dermatitis, rubber, mercaptobenzothiazole-type accelerator

Ueda, K.*¹, Yamamoto, Y.*¹, Tenjo, S.*¹, Yanagihara, M.*¹, Kaniwa, M., Kojima, S., Takaishi, K.*²: **Two cases of pigmented contact dermatitis**

Environmental Dermatology, 2(4), 278~282 (1995)

これまで報告された綿ネル製寝間着による色素沈着性のアレルギー性接触皮膚炎事例では、捺染染料の原料の1つである naphthol AS が原因化学物質となっていたことが確認されている。今回検討した事例は、綿ネル製寝間着によって色素沈着性のアレルギー性接触皮膚炎を生じた点では従来と同じであったが、化学分析の結果、事故製品中には、パッチテストで陽性反応を示した naphthol AS は含まれておらず、その類似構造を有する naphthol AS-D が含まれていたことを明らかにできた。すなわち、この事例では naphthol AS と交差反応性を有する naphthol AS-D が原因化学物質となったものと結論づけることができた。

Keywords : pigmented contact dermatitis, flannel nightwear, naphthol AS-D

*1 福井医科大学皮膚科

*2 高石皮膚科医院

Kaniwa, M.: **Allergen explanation. Dithiocarbamate (DTC) mix, zinc dimethyldithiocarbamate (ZDMC), zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC), zinc dibutyldithiocarbamate (ZDBC), zinc ethylphenyldithiocarbamate (ZEPC)**

Environmental Dermatology, 2(4), 297~308 (1995)

ゴム製品によるアレルギー性接触皮膚炎の代表的なアレルギー性物質について、化学的性状、事例報告ならびに患者でのパッチテスト結果、感作性試験結果などを最新の文献などを参照しながらまとめた。すなわち、ゴム加硫促進剤として使用されるジチオカーバメート (DTC) 系化合物について、日本接触皮膚炎学会が新たに採用した、パッチテスト用標準の dithiocarbamate (DTC) mix の構成成分である zinc dimethyldithiocarbamate (ZDMC), zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC), zinc dibutyldithiocarbamate (ZDBC), zinc ethylphenyldithiocarbamate (ZEP-PC) を取り上げ、皮膚アレルギー性に関する情報をまとめた。

Keywords : allergic contact dermatitis, rubber, dithiocarbamate-type accelerator

Kaniwa, M.: Allergen explanation. Thiourea, diphenylthiourea (DPTU), diethylthiourea (DETU), dibutylthiourea (DBTU), dilaurylthiourea (DLTU) *Environmental Dermatology*, 3(1), 47~56 (1996)

ゴム製品によるアレルギー性接触皮膚炎の代表的なアレルギー性物質について、化学的性状、事例報告ならびに患者でのパッチテスト結果、感作性試験結果などを最新の文献などを参照しながらまとめた。すなわち、ゴム加硫促進剤として使用されるチオウレア系化合物について、diphenylthiourea (DPTU), diethylthiourea (DETU), dibutylthiourea (DBTU), dilaurylthiourea (DLTU) を取り上げ、皮膚アレルギー性に関する情報をまとめた。

Keywords : allergic contact dermatitis, rubber, thiourea-type accelerator

鹿庭正昭：室内環境とその衛生的課題，家庭用化学製品とその衛生的課題

生活と環境, 41(4), 19~22

室内環境におけるカビや化学物質等による汚染に伴う健康被害についての特集のなかで、家庭用化学製品に関して、①家庭用化学製品の定義、②家庭用化学製品に関する法的な規制状況、③家庭用化学製品が原因と考えられる健康被害の発生状況、④今後の課題について、文献等の情報をもとに、家庭内において家庭用化学製品によってどのような健康被害を生じうるか、またどのような予防策が取り得るかをまとめた。

Keywords : indoor environment, household chemical product, safety management

Isama, K., Kaniwa, M., Momma, J., Kitajima, S., Tsuda, M., Kurokawa, Y. and Nakamura, A.: Relationship between skin sensitization potencies and chemico-physical properties of aldehyde

The Journal of Toxicological Sciences, 20, 555 (1995)

アルデヒド類 (ホルムアルデヒド, アセトアルデヒド, プロピオンアルデヒド, クロトンアルデヒド, ベンズアルデヒド, シンナムアルデヒド, グルタルアルデヒド) のモルモット皮膚感作性強度と物理化学的性質との相関性について検討した。感作性強度はモルモットマキシメーション法を用いて、最低感作濃度および最低惹起濃度により評価した。その結果、分配係数および¹³C-NMRにおけるケミカルシフトは最低感作濃度および最低惹起濃度と相関しなかった。また、FT-IR スペクトルにおけるカルボニル基の吸収波数およびアミンとの反応性は最低感作濃度と相関した。

Keywords : aldehyde, skin sensitization, chemico-physical properties

土屋利江, 宮田直樹：C60 フラーレンの軟骨分化促進活性

炭素クラスターニュース, 3, 60~61 (1995)

フラーレンの新しい生物活性として著しい軟骨分化促進活性を見いだした。軟骨分化機能特性を置換基効果で強めれば、新しい構造の優秀な薬の開発につながる可能性を明らかにした。

Keywords : rat limb bud cells, chondrogenesis, fullerene

Tsuchiya, T., Takahara, A.*1, Cooper, S. L.*2 and Nakamura, A.: Studies on the tumor-promoting activity of polyurethanes: Depletion of inhibitory action of metabolic cooperation on the surface of a polyalkyleneurethane but not a polyetherurethane *J. Biomed. Mater. Res.*, 29, 835~841 (1995)

発ガン性強度の異なる3種のポリエーテルポリウレタン (PEU) のメタノール抽出物について代謝協同阻害試験を行ったところ、発ガン性強度は、抽出物の阻害活性強度と相関しなかった。ところが、PEU をガラスディッシュ上に薄くコートし、材料上での代謝協同阻害活性を比較した結果、発ガン性強度と相関することが明らかになった。次にソフトセグメント部分の構造が異なるポリウレタンをガラスディッシュに薄くコートし、材料上の代謝協同阻害試験を行った。フッ素で置換されたソフトセグメント構造を有するポリウレタン (FPEG-PU) は PEU の10分の1程度低い阻害活性を示した。ソフトセグメント部分がポリブタジエン (PBD-PU) および水素で飽和されたポリアルキレン型のポリウレタン (HPBD-PU) では材料上の代謝協同阻害活性は陰性であった。これらの *in vitro* 結果から、これら3種のポリウレタン (FPEG-, PBD-, HPBD-PU) は PEU に比べて、発ガンプロモーター活性が低いものと考えられる。

Keywords : tumor-promoting activity, polyurethane, metabolic cooperation

*1 九州大学工学部

*2 University of Wisconsin

新谷英晴：生物指標 (BI) 作成時に D₁₀ 値に及ぼす種々の因子について

防菌防黴, 23, 751~754 (1995)

生物指標 (BI) に関する現行の国際標準化機構 (ISO) ドキュメント 11138 は BI 作成の菌懸濁液ならびに菌担体に関して具体的な記述が不十分である。懸濁液ならびに担体は BI の D 値に影響を与える可能性がある。これらの個々の影響に関しては報告されているが本報告では懸濁液と担体との複合が D 値に与える影響を確認した。さらに担体の孔径、懸濁液よりの結晶の大きさ、結晶の成長速度、結晶中への菌の取り込み等についても走査電顕を用いて確認した。

Keywords : biological indicator, D value, ISO/TC198

新谷英晴：高圧蒸気滅菌保証に用いる生物指標 (BI) の D₁₀ 値に及ぼす回収培地の影響

防菌防黴, 23, 685~686 (1995)

滅菌保証のための生物指標の正確な D 値を得る最適条件を決定することは重要なことである。条件の一つとして回収培地がある。現在の ISO/WD 14161 ではソイビーンカゼインダイジェスト (SCD) 培地が例として示されて

いる。著者は個々のメーカーで作成された SCD 培地の組成の差により D 値が異なることを推察し、この推察が実験的に正しいことが分かった。以前報告したように生残曲線法ならびにフラクションネガチブ法により D 値に顕著な差が認められなかった。今回の実験は高圧蒸気滅菌であるが以前の実験はエチレンオキサイド滅菌である。結果として培地組成を規定する重要性を次回の ISO 会議で日本案として提出する予定である。

Keywords : D value, biological indicator (BI), moist heat sterilization

新谷英晴：歯科材料中の新規毒性化合物に関する研究
医科器械学会誌, 65, 486~488 (1995)

メチルメタクリレート (PMMA) は歯科材料として広く用いられている。PMMA の製造後、出発物質として用いられたメチルメタクリレートモノマー、ベンゾイルパーオキサイド、*N,N*-ジメチル

-トルイジンが残留した。これらの化合物は毒性があり、残留とともに溶出の経時変化は既に報告した。これらの化合物に加えて、親水性の新規毒性化合物を同定し、人唾液中への定量を行った。それで限外濾過を組み合わせた高速液体クロマトグラフィー質量分析計でのこれらの化合物の分析について報告した。

Keywords : polymethylmethacrylate, dental plate, toxic compounds

新谷英晴：生物指標 (BI) 作成時に D 値に及ぼす懸濁液、担体、培地の影響について
医科器械, 65, 515~518 (1995)

生物指標 (BI) に関する現行の国際標準化機構 (ISO) ドキュメント 11138 は BI 作成の菌懸濁液、菌担体ならびに回収培養培地に関して具体的な記述が不十分である。BI の D 値に菌懸濁液、菌担体ならびに菌培養培地が影響を与える可能性がある。菌懸濁液、菌担体ならびに菌培養培地の個々の影響に関しては報告されているが、D 値に対するこれらの複合の影響に関しては報告されておらず、著者は既に報告されているのと異なり個々の因子の影響を認めることが出来なかった。乾燥時の菌懸濁液からの結晶と微生物を取り込む担体の孔との複合作用が滅菌を阻害したと推察される。培養培地の組成により D 値が異なり、それゆえ WD14161 のソイビーンカゼインダイジェストの組成が正確な D 値を得るのに適当かどうか確認する必要がある。

Keywords : biological indicator, ethylene oxide sterilization, ISO/TC198

Shintani, H.: Gamma-ray irradiation, autoclave and ethylene oxide sterilization to thermosetting polyurethane
Radiation Physics Chemistry, 46, 377~381 (1995)

熱硬化性ポリウレタンのポリオール組成を変えて放射線滅菌、エチレンオキサイド滅菌、高圧蒸気滅菌を行い発癌性化合物である 4,4'-メチレンジアニリン (MDA) の生成量を比較した。

Keywords : gamma-ray irradiation sterilization, autoclave sterilization, ethylene oxide sterilization

Shintani, H.: Accuracy comparison of D value accuracy by LSKP and SMCP by simulation and experimental procedure
PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 49, 220~225 (1995)

LSKP ならびに SMCP 法での D 値の比較をシュミレーションおよび実験で行った。SMCP 法では従来の方法に試料数 (n) 50 以上、ネガチブ数 (r) 1 以上、 $r/n > 0.9$ 以下の制限を設けた限定 SMCP で LSKP との間に有意差が無いことが判明した。オリジナルの SMCP と限定 SMCP との精度の比較をシュミレーションで行った。

Keywords : LSKP, SMCP, limited SMCP

Shintani, H.: Solid phase extraction (SPE) of blood urea compared with liquid-liquid extraction regarding artifact formation
Journal of Liquid Chromatography Clinical Analysis, 18, 2167~2174 (1995)

血中尿素の分析の前処理法に固相抽出法と液-液抽出法での有効性を比較した。その結果、液-液抽出法ではアーチファクトが生成するため固相抽出法に劣ることが判明した。

Keywords : solid phase extraction, blood urea, liquid-liquid extraction

Shintani, H.: The relative safety of gamma-ray, autoclave and ethylene oxide gas sterilization of thermosetting polyurethane
Biomedical Instrumentation Technology, 29, 513~519 (1995)

医療用具の滅菌で用いられているガンマ線滅菌、高圧蒸気滅菌、エチレンオキサイド滅菌の内、何れの滅菌法が医療用具の滅菌に適しているかを、滅菌後の医療用具に残留する分解物等を定量して比較した。

Keywords : sterilization methods, medical devices, safest methods

Shintani, H.: Comparison of solid phase extraction and dialysis on pretreatment efficiency of blood urea analysis
J. Chromatogr. Sci., 34, 92~94 (1996)

血中尿素の分析のための前処理に用いられる固相抽出法と透析法との有効性を比較した。

Keywords : blood urea, solid phase extraction, dialysis

Hayashi, Y. and Matsuda, R.: Stochastic utility of internal standard method in liquid chromatography
Anal. Sci., 11, 389~400 (1995)

内部標準法は液体クロマトグラフィー等でよく行われている。しかし、この方法が、手軽な外部標準法に比べて、実際に精度の高い (分析値の相対標準偏差の小さい) 結果を与えるかどうかは疑問である。この論文では、内部標準物質の添加、希釈、測定によるそれぞれの誤差を予測して、内部標準法の精度を評価した。

Keywords : internal standard, precision, chromatography

Hayashi, Y., Matsuda, R. and Poe, R. B.: Prediction of precision from signal and noise measurement in liquid chromatography: Limit of detection
Chromatogr., 41, 66~74 (1995)

分析機器の検出限界は、その定義と実践に関しては長い間議論されているが、未だに統一見解は得られていない。この論文では、33%の相対標準偏差 (RSD) を示すサンプル濃度を検出限界として採用し、液体クロマトグラフィーにおける実際の検出限界を求めた。33% RSD を繰り返し

測定から決定するのは殆ど不可能であるので、ベースライン揺らぎから理論的に RSD を予測する方法を用いた。

Keywords : precision, chromatography, detection limit

Hayashi, Y. and Matsuda, R.: **Prediction of precision from signal and noise measurement in liquid chromatography: Mathematical relationship between integration domain and precision**

Chromatogr., **41**, 75~83 (1995)

クロマトグラフィにおけるデータ解析で、インテグレーションを用いた全面積測定とピーク高さ測定ではどちらが高い精度の測定結果を与えるかは、長い間議論の対象であった。この論文ではこの問題に答える一般的な方法を提案した。全面積測定かピーク高さかは分析機器によってもサンプルによっても異なるので、一般的にどちらがよいかを述べることはできない。しかし、ベースラインデータとサンプルの信号波形が与えられれば、この論文の方法はその機器とサンプルに特有の回答を与えることができる。

Keywords : precision, chromatography, detection limit

Hayashi, Y. and Matsuda, R.: **Deductive prediction of measurement precision from signal and noise in fluorometry**

Anal. Sci., **11**, 929~934 (1995)

分析機器のベースライン揺らぎとサンプルの信号波形から、その測定値の相対標準偏差を予測するという著者らの理論を蛍光測定に応用した。この理論は、クロマトグラフィなどのガウス分布に似た波形に対して最初に応用された。この論文では、蛍光測定の矩形信号に対して応用した。ローダミン B を用いて繰り返し測定から得られた RSD は、かなり正確にこの理論から予測できることが結論された。

Keywords : precision, fluorometry

Hayashi, Y., Matsuda, R. and Poe, R. B.: **Measurement precision and 1/f noise in analytical instruments**

J. Chromatogr. A., **722**, 157~167 (1996)

分析機器のベースライン揺らぎとサンプルの信号波形から、その測定値の相対標準偏差を予測するという著者らの理論自体を評価した。この方法で得られる RSD 値のバラツキは、繰り返し測定から得られた RSD 値のバラツキよりかなり小さい事が見いだされた。この方法の実践的側面を議論した。

Keywords : precision, chromatography

徳永裕司, 木嶋敬二, 安藤正典: **非イオン性界面活性剤によるメチルパラベンのモルモットの剥離皮膚への影響**

日本化粧品科学会誌, **19**, 112~117 (1995)

モルモットの剥離皮膚に対する非イオン性界面活性剤(14種類)の影響をメチルパラベン(MP)を透過指標として Franz 型拡散セルを用いて検討した。0.5%の各種界面活性剤の20%エタノール(ET)溶液0.5mlを用い、37°Cで2時間剥離皮膚を処理した後、0.05%MP溶液0.5mlをdonor側に入れ、2~6時間後にreceiver側に透過したMP量をHPLC法で測定した。10~30%のETの添加は、MPの剥離皮膚の透過速度にほとんど影響を与えなかったが、陽性対照として用いた10mMドデシル硫酸ナトリウム(SDS)の剥離皮膚への影響を、MPの透過速度の変化で見た場合、生理食塩液を用いた場合に比べてほぼ半分の透過速度を与えることが分かった。0.25~1.0%のpolyoxyethylene nonylphenyl ether (POE. NPE)の濃度

とMPの透過速度の間に正の直線関係が成立し、POE. NPEの剥離皮膚の角質層への作用は濃度依存的であることが明らかになった。coconut oil fatty acid diethanolamide, polyoxyethylene (20) sorbitan monopalmitate, polyoxyethylene (10) oleyl ether および polyoxyethylene (21) lauryl ether は、SDSに比べてMPの透過速度を特に増加させた。MPの透過速度とドレーズのウサギ眼粘膜刺激指数あるいは非イオン性界面活性剤の親水性・親油性バランスの間により相関関係が成立した。

Keywords : nonionic surfactant, methylparaben, permeation

Hanioka, N., Jinno, H., Takahashi, A.*¹, Nakano, K.*², Yoda, R.*², Nishimura, T. and Ando, M.: **Interaction of tetrachloroethylene with rat hepatic microsomal P450-dependent monooxygenases**

Xenobiotica, **25**, 151~165 (1995)

テトラクロロエチレン(PCE)の毒性発現にはP450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、*in vitro*系におけるP450依存性酵素活性に及ぼすPCEの影響について検討した。 β -ナフトフラボン、フェノバルビタール、イソニアジドおよびプレグネノロン16 α -カルボニトリルでそれぞれ処理したラット肝ミクロゾームにPCEを添加し、6種類のP450依存性酵素活性を測定した。フェノバルビタール処理ラット肝ミクロゾームの7-ペントキシレゾルフィンO-デベンチラーゼおよび7-ベンジルオキシレゾルフィンO-デベンチラーゼ活性は、2.0mM PCEによりそれぞれ80%および81%阻害された。Eadie-Hofsteeプロットからこれらの阻害はいずれも非競合的阻害であることが明らかとなり、阻害定数は、それぞれ0.16および0.29mMであった。また、PCEは、フェノバルビタール処理ラット肝ミクロゾームの7-エトキシキマリノO-デエチラーゼ活性もわずかに阻害し、その阻害パターンは競合的であった。一方、7-エトキシレゾルフィンO-デエチラーゼ、アニリン4-ヒドロキシラーゼおよびテストステロン6 β -ヒドロキシラーゼ活性は、 β -ナフトフラボン、イソニアジドおよびプレグネノロン16 α -カルボニトリル処理によりそれぞれ誘導されたが、PCEによる阻害は認められなかった。以上の結果より、PCEは、フェノバルビタール誘導性のP450依存性酵素を非競合的あるいは競合的に阻害し、CYP2BサブファミリーのP450分子種がPCEの代謝および毒性に関与していることが示唆された。

Keywords : tetrachloroethylene, P450-dependent monooxygenase, liver microsomes

*¹ 財食品薬品安全センター秦野研究所

*² 共立薬科大学

Hanioka, N., Nakano, K.*¹, Jinno, H., Hamamura, M.*², Takahashi, A.*³, Yoda, R.*¹, Nishimura, T. and Ando, M.: **Induction of hepatic drug-metabolizing enzymes by chlornitrofen (CNP) and CNP-amino in rats and mice**

Chemosphere, **30**, 1297~1309 (1995)

ジフェニルエーテル系除草剤コロニトロフェン(CNP)の毒性発現機構を解明するための一環として、ラットおよびマウスにCNP 63.7mg/kgあるいはCNPアミノ体57.7mg/kgを1日1回3日間腹腔内投与し、肝薬物代謝酵素(第一相および第二相反応)に及ぼすこれら化合物の影響について検討した。CYP2B1/2依存性酵素である7-ペントキシレゾルフィンO-デベンチラーゼおよび

7-ベンジルオキシレゾルフィン O-デベンジラーゼ活性は、ラット、マウスとも CNP および CNP アミノ体で有意に誘導され (2.2~7.9 倍), 特に、ラットでは CNP アミノ体投与マウスでは、CNP 投与による酵素誘導が顕著であった。また、抗ラット CYP2B1/2 抗体を用いてウエスタンブロッティングを行ったところ、ラットでは CNP アミノ体投与肝ミクロゾームで強いバンドが 2 本認識され、一方のマウスでは CNP 投与肝ミクロゾームで 1 本のバンドが認められた。一方、DT-ジアホラーゼ、グルタチオン S-転移酵素および UDP-グルクロン酸転移酵素活性は、マウスでは CNP あるいは CNP アミノ体によって有意に誘導されたが (1.3~2.5 倍), ラットではいずれの化合物でもほとんど影響を受けなかった。以上の結果より、CNP あるいは CNP アミノ体の毒性には CYP2B サブファミリーの P450 分子種が何らかの形で関与し、その感受性は動物種により異なることが示唆された。

Keywords : chlornitrofen (CNP), chlornitrofen-amino, drug-metabolizing enzymes

*1 共立薬科大学

*2 (株)パナファームラボラトリーズ

*3 (財)食品薬品安全センター秦野研究所

Hanioka, N., Hamamura, M.*¹, Kakino, K.*¹, Ogata, H.*¹, Jinno, H., Takahashi, A.*², Nishimura, T. and Ando, M.: **Dog liver microsomal P450 enzyme-mediated toluene biotransformation** *Xenobiotica*, **25**, 1207~1217 (1995)

トルエンの毒性発現機構を解明するための一環として、イヌ肝ミクロゾームを用いてトルエンの *in vitro* 代謝について検討した。 *in vitro* 系においてトルエンの主代謝物としてベンジルアルコールが、また微量代謝物として *o*-クレゾールおよび *p*-クレゾールが検出され、これら代謝物への生成の K_m および V_{max} 値は代謝経路間で大きく異なっていた。さらに、これら代謝に関与する P450 分子種を予測するため、各種 P450 阻害剤および抗ラット P450 抗体を添加してトルエン代謝の変化を観察した。SKF-525A (0.8 mM) は、ベンジルアルコール、*o*-クレゾールおよび *p*-クレゾールの生成をそれぞれ 60%, 13% および 41% 阻害した。また、メチラポン (0.8 mM) および 4-メチルピラゾール (0.8 mM) もトルエンの *in vitro* 代謝を 17~86% 阻害したが、他の P450 阻害剤はいずれの代謝へも大きな影響を与えなかった。一方、抗ラット P450 抗体を用いた場合、抗ラット CYP2B1/2 抗体 (0.2 ml/mg protein) は、ベンジルアルコールおよび *p*-クレゾールの生成をそれぞれ 55% および 53% 阻害し、抗ラット CYP2E1 抗体 (0.2 ml/mg protein) は、ベンジルアルコール、*p*-クレゾールおよび *o*-クレゾールの生成をそれぞれ 26%, 30% および 30% 阻害した。以上の結果より、イヌのトルエン代謝には CYP2B および CYP2E サブファミリーの P450 分子種が関与し、それぞれの代謝経路に関与する P450 分子種の割合は異なっていることが示唆された。

Keywords : toluene, biotransformation, cytochrome P450

*1 (株)パナファームラボラトリーズ

*2 (財)食品薬品安全センター秦野研究所

Matsuda, R., Hayashi, Y., Sasaki, K. and Saito, Y.: **Deductive prediction of measurement precision and optimization time and wavelength in capillary electrophoreses** *Chromatographia*, **41**, 707~714 (1995)

キャピラリー電気泳動による低濃度での定量分析の精度 (相対標準偏差) がベースラインの揺らぎとピークの形から理論的に予測できることを示した。ベースラインをフーリエ変換し非線形最小 2 乗法によるフィッティングを行うことにより、精度の予測が可能となる。ミセル動電クロマトグラフィによる、アセトアミノフェンおよびカフェインの分離をモデルとして、検出波長の選択と積分区間の最適化を精度を指標として行った。

Keywords : capillary electrophoresis, effect of detection wavelength on precision, integration domain

Miyahara, M., Akiyama, H., Toyoda, M. and Saito, Y.: **New procedure for fumonisins B₁ and B₂ in corn and corn products by ion pair chromatography with *o*-phthalaldehyde postcolumn derivatization and fluorometric Detection**

J. Agric. Food Chem., **44**, 842~847 (1996)

ポストカラム OPA (オルトジフタルアルデヒド) 誘導化イオンペアクロマトグラフィによるフモニシン B₁ と B₂ の新しい分析法を検討した。フモニシンはフザリウムモノフォルムによって産生されるかび毒の 1 つで、馬などの家畜に病気を起こすことが知られている。検体をホモジェネートしたのち、50%アセトニトリルで抽出、イオン交換と ODS の充填された固相抽出用カラムで精製し、試験溶液を調整した。この試験溶液を高速液体クロマトグラフに注入し、SDS (ラウリル硫酸ナトリウム) を用いるイオンペア—ODS カラム法で分離後、OPA-N-アセチルシステイン溶液と混合し、フモニシンを誘導化後、蛍光検出器に導き定量を行った。この回収率は 54%~110% で定量下限は 0.04~0.08 $\mu\text{g/g}$ であった。この方法は極めて簡易迅速である。この新しい分析法は不安定なフモニシン類を分析するのにもっとも適した方法と考えられている。

Keywords : fumonisin, ion pair chromatography, post-column derivatization

穂山 浩, 宮原 誠, 豊田正武, 齋藤行生: **HPLC による穀類およびとうもろこし加工品中のフモニシン B₁ および B₂ の分析**

食品衛生学雑誌, **37**(1), 54~58 (1996)

玄米、白米、コーンスープ試料におけるフモニシン B₁ および B₂ の分析法を作成した。従来法では回収率の低かった玄米、白米試料では、 α -アマラーゼにより消化する操作を加えることにより、白米試料に 0.5 $\mu\text{g/g}$ 添加した場合、フモニシン B₁ および B₂ の平均回収率が各々 91% および 94% となった。また、試料がコーンスープの場合、 α -アマラーゼおよび β -マンノシダーゼ処理を加えることにより、コーンスープに 0.5 $\mu\text{g/g}$ 添加した場合、フモニシン B₁ および B₂ の平均回収率が各々 90% および 92% に増加した。定量限界はフモニシン B₁ および B₂ とも玄米および白米は 0.05 $\mu\text{g/g}$ 、コーンスープは 0.01 $\mu\text{g/g}$ であった。

Keywords : fumonisin B₁, grain, corn processed products

豊田正武, 畠中幸恵*¹, 狩谷真里*¹, 松村年郎, 宮原 誠, 内山貞夫*², 齋藤行生: **CO センサーによる照射香辛料からの電子レンジ加熱生成 CO ガスの検出**

日本食品科学工学雑誌, **43**(1), 69~74 (1996)

電子レンジ加熱 CO センサー法として、150 ml 容器に照射した粉碎香辛料 3 g を入れ、密栓し電子レンジにて 1 分間加熱後、CO センサーにてヘッドスペース中の CO 濃

度を測定する香辛料中 CO 濃度の改良測定法を考案した。本法の定量下限は試料 3 g を用いた場合、0.1 ppm であった。照射直後の 2 種香辛料について本法をこれまで報告された方法と比較したところ、その線量依存性は CL 法、GC 法、ESR 法のものと同様で、照射試料中の CO 検出法として使用可能であった。

Keywords : irradiated foods, CO sensor, spices, pepper

*1 北里大学

*2 食品薬品安全センター

武田由比子, 石綿 肇: 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確認法および分別定量法の検討

日食化誌, 2, 122~125 (1995)

食品添加物としてはほぼ同様の目的で使用許可されている高度サラシ粉 (主成分 $\text{Ca}(\text{ClO})_2$) と亜塩素酸ナトリウム (NaClO_2) が混在しているか否かの確認法および両者の混合比に関しては、第六版食品添加物公定書の規格試験法の範囲で、定量が不可能であった。高度サラシ粉を酢酸処理し、塩素を除き、カルシウムと EDTA とのキレート化合物生成に基づく滴定法により、カルシウム定量が可能となった。また、これらの主成分中の陰イオンである次亜塩素酸と亜塩素酸に、ヨウ素滴定・還元二段階法を応用し、良好な分別定量結果を得た。したがって、カルシウムのキレート滴定法とヨウ素滴定・還元二段階法の併用により、高度サラシ粉と亜塩素酸ナトリウムの識別と、その混合比を判定する事が可能となった。また、次亜塩素酸が検出された場合、このカルシウムの測定が高度サラシ粉と次亜塩素酸ナトリウム (NaClO) の判別に有効である。

Keywords : high-test hypochlorite, sodium chlorite, discriminative determination

Baba, T.*, Morita, S.*, Sugita, T. and Ishiwata, H.: Lead and cadmium leaching from ceramic tableware *Jpn. J. Food Chem.*, 2, 51~53 (1995)

陶磁器製食器からの鉛とカドミウムの溶出について、4%酢酸を用い 25°C で 24 時間抽出 (わが国および ISO の現行法) を行い、アメリカ FDA の鉛の溶出限度提案値との比較を行った。83 種の市販試料のうち鉛は 44 試料、カドミウムは 26 試料で溶出が認められた。平均溶出濃度はそれぞれ 0.48 ± 1.32 , $0.01 \pm 0.03 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。これらの濃度は 10 年前の調査結果の 1/10 またはそれ以下であった。78% の試料で FDA の提案値である 0.1 ppm 以下の溶出濃度であった。施釉の試料は無施釉の試料に比べ、鉛およびカドミウムの溶出は検出頻度では高かったが濃度ではむしろ低い値をしめした。

Keywords : ceramic tableware, lead, cadmium

* 大阪市立環境科学研究所

Ishiwata, H., Takeda, Y., Kawasaki, Y., Kubota, H. and Yamada, T.: Comparison of official methods for 'readily oxidizable substances' in propionic acid as a food additive

Food Addit. Contam., 13, 1~4 (1996)

食品添加物としてのプロピオン酸の規格の中の“易酸化物”について、わが国の食品添加物公定書、FAO/WHO による Compendium, およびアメリカの Food Chemicals Codex (FCC) の試験法の比較検討を行った。食品添加物公定書と Compendium とはともに過マンガン酸カリウム消費量を採用しているが、FCC ではシュウ酸消費量で表されている。過マンガン酸カリウム消費量法では Mn

(VII, 赤色) がプロピオン酸中のアルデヒド類と反応する以前に“易酸化物”によって Mn (II, 無色) に還元され、引き続き一般に易酸化物の一種と考えられているアルデヒド類と反応して Mn (IV, 褐色) を生じた。このため終点の判定が困難であった。これに比べ、FCC 法は終点が明瞭であり、公定法として推奨できることを確認した。

Keywords : food additive, propionic acid, readily oxidizable substances

Ishiwata, H., Kato, C.* and Takeda, Y.: Clean analysis for the Japanese Standards for Food Additives: assessment of organic solvents as substitutes for chloroform in the detection of halides

Jpn. J. Food Chem., 2, 89~92 (1995)

クリーンアナリシスの観点から、食品添加物公定書の試験法で用いられている有害試薬を排除するために代替え試薬の検討を行った。今回は一般試験法中の臭素酸塩の定性試験と各条中のハロゲン化物イオンの検出法に用いられているクロロホルムの代替え溶媒の検討を行った。酢酸エチル、ジエチルエーテル、石油エーテル、ヘキサンを用いて試験を行ったところ、ヘキサンを用いた場合に反応液の吸収スペクトルおよび吸光度の両者共に公定法とほぼ同等の値が得られた。したがって、クロロホルムをヘキサンに代替えすることが可能であると考えられた。

Keywords : Japanese Standards for Food Additives, clean analysis, chloroform

* 麻布大学

Ishiwata, H., Takeda, Y., Kawasaki, Y., Yoshida, R.*, Sugita, T., Sakamoto, S. and Yamada, T.: Concentration of carbon monoxide in commercial fish flesh and in fish flesh exposed to carbon monoxide gas for color fixing

J. Food Hyg. Soc. Japan, 37, 83~90 (1996)

輸入魚の一部が発色の目的で一酸化炭素 (CO) ガスで処理されているとの情報を基に、市販および検疫所から送付された魚について魚肉中の CO 濃度を測定した。ティラピア (イズミダイ) を除く 27 種の魚肉では $2 \sim 142 \mu\text{g}/\text{kg}$ の範囲で魚種ごとにほぼ一定であった。ティラピア (切り身) では 3 例中 2 例では $13 \mu\text{g}/\text{kg}$ 以下で血合いの部分は茶褐色であった。1 例では $775 \mu\text{g}/\text{kg}$ で血合いは鮮赤色であった。血合いが褐色のティラピア ($8 \mu\text{g}/\text{kg}$) を CO ガスに 1 時間暴露した結果、鮮赤色となり、魚肉中の CO は $234 \mu\text{g}/\text{kg}$ に増加した。これを 5°C で保存したところ、3 日目まで $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 以下に減少した。23 検体のティラピアのうち、16 検体は鮮赤色で CO 濃度は $47 \mu\text{g}/\text{kg}$ 以上、7 検体は茶褐色で CO 濃度は $13 \mu\text{g}/\text{kg}$ 以下であった。

Keywords : fish meat, color fixation, carbon monoxide

* 日本大学

米谷民雄, 久保田浩樹, 落合真一, 鈴木資子: カラギナン類 3 種 (精製カラギナン, 加工ユーケマ藻類, ユーケマ藻末) の市販製品における硫酸基と酸不溶性物質の分析

日食化誌, 2, 85~88 (1995)

3 種のカラギナン類 (精製カラギナン, 加工ユーケマ藻類, ユーケマ藻末) の規格設定の資料とするため、硫酸基含量と酸不溶性物質含量について、市販製品の実態調査を行った。硫酸基含量は、ICP 発光分析法によるイオウ濃度から求めた。両含量の JECFA 規格がある精製カラギナンと加工ユーケマ藻類については、すべての製品がその規

格に適合していた。酸不溶性物質含量は、精製カラギナンと他の2種のカラギナンを区別する重要な性質と考えられたため、規格設定の際にはぜひ必要な項目と考えられた。

Keywords : carrageenan, sulfate, acid-insoluble matter

Maitani, T., Kubota, H., Sato, K. and Yamada, T.: **The composition of metals bound to class III metallothionein (phytochelatin and its desglycyl peptide) induced by various metals in root cultures of *Rubia tinctorum***

Plant Physiol., **110**, 1145~1150 (1996)

種々の金属 (Ag^+ , As^{3+} , As^{5+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ga^{3+} , Hg^{2+} , In^{3+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Pd^{2+} , Se^{4+} , Zn^{2+}) をセイヨウアカネ培養根の培地に添加し、フィトケラチン (PC) とその Gly 欠損体 (両者をあわせ CIIIIMT と略す) の誘導、および誘導された CIIIIMT 中の金属組成を調べた。ポストカラム HPLC 法を用いて CIIIIMT の誘導を調べたところ、取りあげたすべての金属が少なくとも PC を誘導した。Gly 欠損体も多くの金属で検出された。HPLC-ICP 法で CIIIIMT に結合している金属を調べたところ、添加金属のうちで結合して検出されたのは、Ag, Cd, Cu (電荷は不明) のみであった。また、 Ag^+ , As^{3+} , Cd^{2+} 添加時には、Cu が CIIIIMT に結合して検出された。

Keywords : metallothionein, phytochelatin, *Rubia tinctorum*

Maitani, T., Kubota, H., Sato, K., Takeda, M. and Yoshihira, K.: **Induction of phytochelatin (class III metallothionein) and incorporation of copper in transformed hairy roots of *Rubia tinctorum* exposed to cadmium**

J. Plant Physiol., **147**, 743~748 (1996)

カドミウム (Cd) を含む MS 液体培地でセイヨウアカネ毛根を培養し、フィトケラチンとそのグリシン欠損体 (両者をあわせ PC と略す) の誘導を、HPLC-ICP 直結法を用いて調べた。毛根中の全 Cd 含量は、Cd 暴露後 1~14 日で、ほとんど一定であったが、培養根上清中の Cd 量は、時間とともに増加した。その増加は、PC の誘導を反映していた。誘導された PC には、Cd に加え銅 (Cu) も結合していた。Cd により誘導された PC に結合している金属の組成を、同じセイヨウアカネの毛根と培養正常根で比較したところ、培養正常根の方が Cu/Cd 比が大きかった。

Keywords : phytochelatin, cadmium, copper

Goda, Y., Sakamoto, S., Nakanishi, T., Maitani, T. and Yamada, T.: **Identification of monoesterified capsanthin in paprika (*Capsicum annuum*): The nature of esterification of capsanthin**

Chem. Pharm. Bull., **43**, 1248~1250 (1995)

カプサンチンの脂肪酸エステル体をパプリカオレオレジンから単離し、その構造を加水分解せずに決定した。その結果、おもなモノエステル化カプサンチンは、3'-O-myristoylcapsanthin であることが判明した。3,3'-O-ジエステル化カプサンチンは単離されなかった。これらの結果は、カプサンチンのシクロペンタン環上とシクロヘキセン環上の水酸基のエステル化速度が、大きく異なっていることを示しており興味深い。

Keywords : capsanthin, esterification, paprika

合田幸広, 中西俊元, 坂元史歩, 佐藤恭子, 米谷民雄, 山田 隆: **HPLC による市販パプリカ (トウガラシ) 色素中の色素成分の分析**

食品衛生学会誌, **37**, 20~28 (1996)

パプリカ (トウガラシ) 色素の色素成分の一斉分析法として、簡便で汎用性の高い、水-アセトン系の逆相 HPLC 条件を作成した。市販パプリカ色素 23 品目の分析を行ったところ、クロマトグラムから、市販色素は 2 種類に分類された。原料がスペイン産の製品を主とするグループ (18 製品) は、 β -carotene か未知ピーク c1 が最大ピークであり、最大ピークに対して 40% 以上のピーク高さを持つピークが、平均 5 ピーク存在した。一方、原料が中国産のグループ (5 製品) は、 β -carotene, c1 に加え、未知ピーク c3, c5 が主ピークで、40% 以上のピーク高さを持つピークが平均 10 ピーク存在した。ピーク c1, c3 を単離し、構造解析を行った結果、それぞれ lauroylmyristoylcapsanthin, dimyristoylcapsanthin であることが判明した。

Keywords : paprika, HPLC, esterified capsanthin

Kanno, J., Goda, Y., Sato, K., Yoshihira, K. and Hayashi, Y.: **FD & C Red No. 105 (Rose Bengal B) neutralizes the thyroid tumor promoting effect of indine-deficient diet in rats**

Toxicology, **99**, 107~113 (1995)

N-ビス(2-ヒドロキシプロピル)-ニトロサミン (DHPN) とヨード欠乏 (I-def) 食で処理したラットの甲状腺に対する食用赤色 105 号 (FR105) の影響について調べた。6 週齢雄 F344 ラットを 7 つのグループ (各 20 匹) に分け、DHPN (2800 mg/kg 体重) を一回皮下注射した。2 週から 20 週に、飲水に混じた RF105 (1.25, 5.0, 20 mg/l) またはヨウ化カリウム (KI, 12.5, 50.0, 200 μ /l) と組み合わせて I-def 食を与えた。その結果、甲状腺重量、形態、甲状腺関連ホルモンと甲状腺腫瘍発生に対する I-def 食の影響を阻害するという点において、1.25 mg/l の FR105 は、200 μ g/l の KI より、わずかに効果的であった。よって、1 μ mol/l の FR105 は 1 μ mol/l のヨウ素イオンより、わずかに有効であると算出された。1 分子の FR105 は、4 つのヨウ素残基を持つので、少なくとも全体のヨウ素残基の 25% は I-def 食を与えたラットによって利用されたものと推定される。

Keywords : thyroid, iodine deficiency, Food Red No. 105

* 東京医科歯科大学

佐藤恭子, 合田幸広, 米谷民雄: **HPLC による市販アントシアニン色素間の識別**

日本食品化学学会誌, **2**, 1~5 (1995)

アントシアニン色素製品の特定を行う際に、HPLC が利用できるかどうかについて検討を行った。今回検討したのは、13 品目、22 種類の色素製品であった。ブルーベリー色素を除く、12 品目のアントシアニン色素については、各着色料特有の溶出パターンが得られた。しかし、ブルーベリー色素では、2 試料間で溶出パターンが異なっていた。そこで、今回得られた各色素の HPLC クロマトグラムを、すでに報告されている同じアントシアニン色素あるいはその原料植物のものと比較したところ、品種等の違いにより、色素成分の溶出パターンが変わる可能性が高いことが判明した。また、色素製品の製造過程において、成分が変化するものもあると推定された。

Keywords : anthocyanin, colorant, HPLC

Kawamura, Y., Miura, A., Sugita, T., Yamada, T. and Saito, Y.: **Application of half-embryo test to irradiated apples and cherries**

Radiat. Phys. Chem., **46**, 371~375 (1995)

照射柑橘類の検知法として開発した half-embryo test の照射リンゴおよびサクランボへの適用を検討した。リンゴについては、種子から調製した half-embryo の至適培養温度は 30℃であり、非照射の half-embryo は 2~3 日後に発芽したが、0.15 kGy 以上照射した half-embryo では発芽しなかった。一方、サクランボについては、至適培養温度は 25℃であったが、発芽の開始は 5 日以降と遅かった。そこで、7 種類の植物ホルモンにより発芽促進を試みた。培養液として 10 μM の benzyladenine を用いることにより、非照射 half-embryo は 2~3 日後に発芽するようになったが、一方、照射 half-embryo では発芽しなかった。以上、リンゴ half-embryo では水を用いて 30℃で培養し、サクランボ half-embryo では 10 μM benzyladenine を用いて 25℃で培養することにより、発芽率が 50% 以上になれば非照射、4 日後にまだ 50% 未満であれば照射と判定することが可能であった。また照射線量の検出限界は 0.15 kGy であった。

Keywords : half-embryo test, irradiated apples, irradiated cherries

河村葉子, 小西明広, 山田 隆, 齋藤行生: **玄米 DNA に及ぼすガンマ線の照射影響 (第 I 報), 玄米 DNA の収量および分子サイズについて**

食品照射, **30**, 17~22 (1995)

玄米 DNA のガンマ線照射による変化を検討した。玄米からの DNA 抽出法としては、CTAB 法の方がフェノール法より収率がよく、しかも DNA 鎖の切断も少なかった。ガンマ線照射した玄米では、ゲル電気泳動法により定量した DNA 収量に低下がみられ、5 kGy 照射で約 1/2, 30 kGy 照射では約 1/4 に減少した。一方、得られた DNA のゲル電気泳動パターンにおいて、非照射では 50~100 kb に観察される画が、5~10 kGy 照射では 20~60 kb, 30 kGy 照射では 7~10 kb となり、照射による分子サイズの低下が観察された。照射玄米 DNA の分子サイズの低下は主に DNA 鎖の切断、また収量の低下は主に DNA とタンパク質のクロスリンクによるものと推定された。

Keywords : gamma-irradiation, rice seed DNA, molecular size

河村葉子, 小西明広, 山田 隆, 齋藤行生: **玄米 DNA に及ぼすガンマ線の照射影響 (第 II 報), GC-MS による照射玄米 DNA の塩基変化体の測定**

食品照射, **30**, 23~27 (1995)

照射玄米 DNA の塩基変化を GC-MS を用いて検討した。玄米から抽出した DNA は、凍結乾燥後ギ酸を加えて 150℃で 30 分間加水分解し、再び凍結乾燥した。これに BSTFA とアセトニトリルの混液を加え、140℃で 30 分間反応させてトリメチルシリル化し、GC-MS で測定した。非照射玄米 DNA は、GC-MS により 4 種類の DNA 塩基のほか、5-ヒドロキシシトシン、チミングリコール、8-ヒドロキシアデニンおよび 8-ヒドロキシグアニンの 4 種類の塩基変化体が確認された。一方、照射玄米 DNA においても、非照射玄米 DNA と同様のクロマトグラムを示し、照射に特異的な変化体や有意に増加した変化体を見いだすことはできなかった。玄米中では種々の生体防御機構が作用するため、培養細胞等と比較してガンマ線照射による DNA 塩基の損傷を受けにくいことが示唆された。

Keywords : gamma-irradiation, rice seed DNA, DNA base products

河村葉子, 船越かやの, 杉田たき子, 山田 隆: **食品用木製器具中のホルムアルデヒドの残存**

食品衛生学雑誌, **36**, 731~737 (1995)

食品用木製器具中のホルムアルデヒドについて、試験法の検討および市販品の調査を行うとともに、その由来を明らかにした。試験溶液中の低濃度のホルムアルデヒドを直接測定する場合には、AHMT 法の方がアセチルアセトン法よりも木由来の抽出物の影響が小さく適当であった。市販木製品 28 検体について調査したところ、17 検体から 0.10~0.31 μg/ml と微量ではあるが高頻度にホルムアルデヒドの溶出が認められた。一方、人為的な処理を行っていない原木からもホルムアルデヒドが検出され、乾燥処理によりさらに増加したことから、市販木製品中のホルムアルデヒドは主に天然由来であると推定された。また、検出量も極めて微量であることから食品衛生上問題はないと結論された。

Keywords : formaldehyde, woodenware, 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1, 2, 4-triazole (AHMT) method

杉田たき子, 河村葉子, 山田 隆: **NPD-GC によるポリカーボネート中のトリエチルアミンおよびトリブチルアミンの分析法**

食品衛生学雑誌, **36**, 501~505 (1995)

ポリカーボネート中に残存するトリエチルアミン (TEA) およびトリブチルアミン (TBA) の NPD-GC による分析法を検討した。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、上澄液を濃縮した。測定にはキャピラリーカラム DB-1 (膜厚 5 μm) を用いた。試料 1.0 g に TEA および TBA 各 2 μg を添加した場合の回収率はそれぞれ 78±13% および 88±6% であった。本法を食品用ポリカーボネート樹脂および製品 10 種類に適用したところ、TEA は 2 試料から 0.5 および 0.3 ppm が検出され、TBA は 1 試料のみから 0.2 ppm 検出された。

Keywords : polycarbonate, triethylamine, tributylamine

Mukherjee-Ray, M.*, Kurihara, M., Penn, L. S.*: **Multistep derivatization of the surface of Nonporous silicate glass**

J. Adhesion Sci. and Technol., **9**, 953~969 (1995)

ガラス表面にエポキシサイドを有するシリル化合物を結合させ、それを用いて種々の官能基を導入した。アミノ酸エステル、ジアミン、水、チオールをそれぞれ反応させることによりアミノエステル、アミン、ジオール、スルフィドを導入することができた。ガラス表面にこれらの官能基を導入することによりガラス表面の物理的性質を変えることができることを明らかにした。

Keywords : silicate glass surface, chemical derivatization, surface analysis

* Department of Chemical and Materials Engineering, University of Kentucky

Yamakoshi, Y. N., Ge, W.-Y.*, Sugita, J.*, Okayama, K.*, Takahashi, T.*, Koizumi, T.*: **High pressure mediated asymmetric Diels-Alder reaction of chiral sulfinylacrylate derivatives with furan and 2-methoxyfuran**

Heterocycles, **42**, 129~133 (1996)

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と低反応性ジェンとの反応性を検討したところ、超高压下においてはジアステレオ選択的に環化付加体を得られた。超高压下での反応の立体過程を明らかにするために、高ジアステレオ選択的に得られた環化付加体を用いて(-)-COTCおよびGabosine Cへ導くことを検討した。すなわち、環化付加体をOsO₄酸化後アセトナイドに変換し、LiAlH₄還元してアルコール体を得た。これをクロトン酸エステル化し、TFAにて開環し、(-)-COTCを得た。また、アルコール体を直接開環することによりGabosine Cを得た。

Keywords : asymmetric Diels-Alder reaction, chiral sulfinylacrylate

* 富山医科薬科大学

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(I): 自発発生化合物の開発とNO検出法

磁気共鳴と医学, 7, 227~229 (1996)

血管拡張, 神経伝達機構等において重要な役割を果たす一酸化窒素(NO)を室温で発生する新規化合物を合成し, 化学構造とNO発生機構との関係を解析すると共に, NO発生量および殺細胞効果が相関することを明らかにした。

Keywords : nitric oxide, nitrosourea, cytotoxicity

* 静岡県立大学

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(II): Bio-transformationモデル化合物の合成とNO発生および平滑筋弛緩作用

磁気共鳴と医学, 7, 230~232 (1996)

生体内で酵素により活性化されてNOを発生する化合物を合成し, 考案した簡易型装置でNOの酸化的生成量を定量した。また, ラットの動脈リング標本を用いて平滑筋弛緩作用を測定し, NO発生機構も併せて考察した。

Keywords : nitric oxide, amidoxime, smooth muscular relaxation

Sera, N.*¹, Fukuhara, K., Miyata, N. and Tokiwa, H.*²: Mutagenicity of nitrophenanthrene derivatives for *Salmonella typhimurium*: effects of nitroreductase and acetyltransferase

Mutation Research, 349, 137~144 (1996)

3種のモノニトロフェナンスレン, 11種のジニトロフェナンスレン, 8種のトリニトロフェナンスレンを新規に合成し, それらの変異原性をAmes法により調べた。ニトロ基の置換位置と変異原性との相関を解析した結果, 3位あるいは6位にニトロ基を有するニトロフェナンスレン類は強い変異原性を有するのに対し, 9位あるいは10位にニトロ基を有するニトロフェナンスレン類の変異原性は弱いことが明らかになった。変異原性の強さは, ニトロ基の還元され易さ, および, ニトロ基とフェナンスレン環との二面角とよく相関することを明らかにした。

Keywords : mutagenicity, nitrophenanthrene, LUMO

*¹ 福岡保健環境研究所

*² 九州女子大

Saito, Y., Ikebuchi, H., Yamazaki, T., and Sawada, J.: Release of a soluble form of growth hormone receptors (growth hormone-binding proteins) from human IM-9 cells by proteolytic cleavage

J. Biochem., 118, 521~525 (1995)

ヒトIM-9細胞より60および55kDaのヒト成長ホルモン結合蛋白(GH-BP)が放出されることを明らかにした。GH-BPの成長ホルモンに対する親和定数は, $4.6 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ であった。本GH-BPの放出には新たな蛋白合成は必要なく, 細胞膜上の成長ホルモン受容体が, 金属プロテアーゼにより切断されて生成することが示唆された。

Keywords : growth hormone-binding protein, growth hormone receptor, protease

Tanaka, T., Ikebuchi, H., Sawada, J., Okada, M.* and Kido, Y.*: Easy enzyme-linked immunosorbent assay for spectinomycin in chicken plasma

J. AOAC, 79, 426~430 (1996)

ブロイラー血漿中における抗生剤スペクチノマイシンの簡便な酵素免疫測定法を開発した。まず新規ハプテン抗原を調製し, これを家兎に免疫したのち得られた抗体は近縁スペクチノマイシンとの交差反応性は低くまた, 他の抗生剤とは交差反応性を殆ど示さないことより, 高い特異性を有することが判明した。この抗体を用いたアッセイの検出限界は2ng/mlであり, また血漿試料からの回収率および再現性は良好であった。本法により前処理を施さなく血漿中スペクチノマイシンの簡便な測定が可能となった。

Keywords : ELISA, spectinomycin, chicken plasma

* 畜産生物科学安全研究所

Akasaka, R., Mashino, T.* and Hirobe, M.*: Hydroxylation of benzene by horseradish peroxidase and immobilized horseradish peroxidase in an organic solvent

Bioorg. Med. Chem. Lett., 5, 1861~1864 (1995)

ベンゼンを基質かつ溶媒とした反応系において, 西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)を用いて, 酸化剤存在下ベンゼンの水酸化反応を行ったところ, HRPが, シトクロムP450以外のヘム酵素ではほとんど進行しないこの水酸化反応を触媒することが明らかとなった。また, ポリ(g-メチル-L-グルタミン酸)に固定化したHRPも, 同様にこの水酸化反応を触媒し, その活性は未固定のHRPよりも高かった。¹⁸Oでラベルした過酸化水素を用いた実験より, 未固定HRP, 固定化HRP共に, ヘム鉄と過酸化水素から生成する酸化活性種の酸素原子を, 基質に導入することが示された。これは, 未固定HRP, 固定化HRPとも, この反応系におけるベンゼンの水酸化反応において, 一原子酸素添加酵素であるシトクロムP450と同様の機構で反応を触媒することを示唆している。

Keywords : cytochrome P450, horseradish peroxidase, benzene hydroxylation

* 東京大学薬学部

Furuno, T.*¹, Teshima, R., Kitani, S.*², Sawada, J. and Nakanishi, M.*¹: Surface expression of CD63 antigen (AD1 antigen) in P815 mastocytoma cells by transfected IgE receptors

Biochem. Biophys. Res. Commun., 219, 740~744 (1996)

ラット高親和性IgE受容体を遺伝子導入したマウスマスト(P815)細胞ならびにラットがん化好塩基球(RBL-2H3)細胞における抗原刺激に伴うCD63(顆粒膜)抗原の細胞膜上への発現を, 抗CD63(AD1)抗体を用いる共焦点レーザー走査顕微鏡にて解析した。その結果, IgE受容体を導入したP815細胞において, 刺激に伴ってRBL-2H3細胞とはほぼ同様なCD63抗原の細胞膜上への発現が

観察され、ヒスタミン含量が少ないため、その遊離では検出することのできなかつた脱顆粒現象をモニターできることが判明した。また、CD63 抗原の細胞膜上への発現は、IgE 受容体の β , γ 鎖の細胞内領域を欠失した遺伝子を導入した P815 細胞ではみられず、IgE 受容体の β , γ 鎖の細胞内領域が脱顆粒反応に必須であることも判明した。

Keywords: CD63 antigen, P815 mastocytoma, IgE receptors

*1 名古屋市立大学薬学部

*2 東京大学医学部

Akasaka, R., Teshima, R., Kitajima, S., Momma, J., Inoue, T., Kurokawa, Y., Ikebuchi, H. and Sawada, J.: **Effects of hydroquinone-type and phenolic antioxidants on calcium signals and degranulation of RBL-2H3 cells**

Biochem. Pharmacol., **51**, 1513~1519 (1996)

数種のヒドロキノンおよびフェノール系抗酸化剤について、好塩基球細胞からの脱顆粒反応ならびに Ca^{2+} 応答への影響に関して検討を行ったところ、ヒドロキノン系抗酸化剤 DTAHQ は、DTBHQ と同様の細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を示し、抗原、TPA 共存下での脱顆粒促進能を有していた。一方、MTBHQ の場合、 Ca^{2+} 濃度上昇、脱顆粒促進作用を示さなかつた。フェノール系抗酸化剤 BHT, DTBHA は、弱いながら、 Ca^{2+} 濃度上昇、脱顆粒促進作用を示した。また、MTBHA は作用を示さなかつた。以上より、細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇能は、小胞体 Ca^{2+} -ATPase の阻害作用の強さと相関するものと推定され、化合物の抗酸化作用ではなく、立体構造が重要と思われた。

Keywords: antioxidants, calcium signal, degranulation

Hachisuka, A., Yamazaki, T., Sawada, J. and Terao, T.: **Characterization and tissue distribution of opioid-binding cell adhesion molecule (OBCAM) using monoclonal antibodies**

Neurochem. Int., **28**(4), 373~379 (1996)

OBCAM 合成ペプチドに対するモノクローナル抗体を精製し、その抗体を用いて免疫ブロッティングを行った。その結果、OBCAM が、ウシ、ラット、マウス、モルモット、ウサギの中樞神経系に局在すること、N 型糖鎖の違いと考えられる 58 および 51 kDa の 2 種類があること、いずれも GPI アンカータンパクであることを明らかにした。

Keywords: OBCAM, nervous system, GPI-anchored protein

Suzuki, K., Yamaguchi, T., Oshizawa, T., Yamamoto, Y., Nishimaki-Mogami, T., Hayakawa, T. and Takahashi, A.: **Okadaic acid induces both augmentation and inhibition of opsonized zymosan-stimulated superoxide production by differentiated HL-60 cells. Possible involvement of dephosphorylation of a cytosolic 21K protein in respiratory burst**

Biochim. Biophys. Acta, **1266**, 261~267 (1995)

オプソニン化ザイモザン刺激による分化型 HL-60 細胞のスーパーオキシド産生に対して、フォスファターゼ阻害剤のオカダ酸は $1 \mu\text{M}$ では約 2.5 倍促進する一方、 $2 \mu\text{M}$ 以上では阻害するという、狭い濃度範囲で逆二相性の作用をもつことを見いだした。フローサイトメトリーで検討したところ、インテグリン受容体 (CR3) には大きな変動は認められなかつたが、二次元電気泳動でリン酸化蛋白を解

析した結果、NADPH-オキシダーゼの細胞質コンポーネント p47phox のリン酸化だけでなく、細胞質の 21K 蛋白の脱リン酸化が関与することが示唆された。さらに、21K 蛋白の性質として、少なくとも一部は p67phox および p47phox と会合していること、リン酸化されるアミノ酸残基はセリンであることが明らかになった。

Keywords: okadaic acid, superoxide, dephosphorylation

Suzuki, K., Yamaguchi, T., Tanaka, T., Kawanishi, T., Nishimaki-Mogami, T., Yamamoto, K.*, Tsuji, T.*, Irimura, T.*, Hayakawa, T. and Takahashi, A.: **Activation induces dephosphorylation of cofilin and its translocation to plasma membranes in neutrophil-like differentiated HL-60 cells**

J. Biol. Chem., **270**, 19551~19556 (1995)

オカダ酸を用いた実験から白血球の活性酸素産生に関与することが示唆された 21K 蛋白は、オプソニン化ザイモザン (OZ) だけでなく、走化性因子のホルミルペプチド (FMLP) やアラキドン酸 (AA) など他の活性化因子でも共通に、かつ速やかに脱リン酸化されることが、二次元電気泳動の結果から示された。二次元電気泳動を繰り返してゲルから 21K 蛋白を切り出して集め、エンドペプチダーゼ処理してペプチドを精製し、ペプチドシーケンサーでアミノ酸配列を分析したところ、コフィリン (アクチン・PIP2 結合蛋白の一種) のそれと一致した。精製抗コフィリン抗体を用いたイムノブロッティングの結果からも、21K 蛋白がコフィリンであることが確かめられた。さらに、白血球を OZ や FMLP, AA などでも活性化すると、コフィリンは活性酸素産生、ファゴサイトーシス、ラフリングを起こしている細胞膜領域に移行することが、(1)細胞分画、電気泳動、イムノブロッティングの結果、および(2)蛍光免疫染色、共焦点レーザー顕微鏡による観察、から明らかになった。以上の結果より、白血球において、コフィリンは種々の活性化刺激により脱リン酸化され、細胞膜へ移行して重要な役割を果たすことが示唆された。

Keywords: cofilin, dephosphorylation, translocation

* 東京大学薬学部

Minegishi, K. and Takahashi, A.: **Metabolism, distribution and excretion of 2,2,3,3-pentafluoropropanol in rats**

Jpn. J. Toxicol. Environ. Health, **42**, 17~27 (1996)

5-フッ化プロパノール (5-FP) の代謝、分布および排泄について雌雄ラットを用いて、3 用量 (4, 40 および 400 mg/kg) の単回経口投与によって 7 日間調べた。GC-MS の SIM 法によるヘッドスペース分析で、主代謝物として 5-FP グルクロナイドおよび 5-フッ化プロピオン酸 (5-FPA) が検出された。5-FP 投与による 5-FPA の排泄は雄ラットにおいて 10.7~11.9%、雌ラットにおいて 33.0~38.2% で、その排泄に性差が認められた。同様に、肝臓、腎臓、血液中の半減期にも性差が認められた。5-FPA の雌雄ラットの排泄速度の違いおよび 5-FP のペルオキシゾームの増殖誘導作用について考察した。

Keywords: 2,2,3,3-pentafluoropropanol, metabolism (rat), tissue distribution

Tanamoto, K.: **Chemically detoxified lipid A precursor derivatives antagonize the TNF- α -inducing action of LPS in both murine macrophages and a human macrophage cell line**

J. Immunol., **155**, 5391~5396 (1995)

リピド A の前駆体はサクシニル化、もしくはアセチル化によってすべてのエンドトキシン活性が十万分の一以下に激減し、かつこれらの不活化前駆体は活性型エンドトキシンによる B 細胞マイトジェン活性、およびマウスマクロファージからの TNF 産生活性に対してアタゴニスト活性を示した。また前駆体自身は人細胞に対してはアタゴニストであるが、化学修飾前駆体は人由来 THP-1 細胞からの LPS による TNF 産生に対し、もとの前駆体よりもはるかに強力なアタゴニスト活性を示した。これらの化合物は LPS によるリムルス活性化や Zymosan によるマクロファージからの TNF 産生にはまったく影響を与えない。マウス B 細胞、マクロファージさらには人由来いづれの細胞に対してもアタゴニスト活性を示したことはこれらの細胞の LPS レセプターに共通性があることを示している。また、リピド A 構造上、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/アタゴニスト活性変換を支配していることが示唆された。

Keywords : endotoxin, non-toxic lipid A, endotoxin antagonist

Iida, T., Haishima, Y., Tanaka, A.*¹, Nishiyama, K.*², Saito, S.*², and Tanamoto, K.: **Chemical structure of lipid A isolated from lipopolysaccharide of *Comamonas testosteroni***

Eur. J. Biochem., **177**, 2098~2106 (1996)

エンドトキシンの生物活性本体であるリピド A の構造・活性相関に新たな情報を得るため、予備試験において大腸菌など腸内細菌科由来のリピド A とは明らかに異なる特徴的な構造を持つことが予想された *Comamonas testosteroni* から分離・精製したリピド A の構造を組成分析、各種質量分析および NMR により解析した。その結果、同リピド A は、1 位および 4' 位にリン酸基の結合した β (1 \rightarrow 6) 結合のグルコサミン二量体をバックボーンとし、その 2,3,2' および 3' 位に (R)-3-tetradecanoyloxydecanoic acid, (R)-3-hydroxydecanoic acid, (R)-3-dodecanoyloxydecanoic acid および (R)-3-hydroxydecanoic acid が結合した構造を持つことが明らかになった。また、4 位の水酸基は遊離であり、LPS 多糖部は 6' 位に結合していることが判明した。

Keywords : C.testosteroni, LPS, chemical structure

*¹ 昭和薬科大学

*² 神奈川歯科大学

石渡尚子*, 谷村顕雄*, 宮原美知子, 三瀬勝利: ***Salmonella Typhi* における制限酵素産生プラスミドの性状**

食衛誌, **36**(3), 404~408 (1995)

チフス菌 D4 株は制限酵素を産生し、その産生遺伝子はプラスミド上にのっていることが判り、そのプラスミドの性状について解析を行った。プラスミドは 5400 bp の長さの環状プラスミドである。このプラスミドの制限酵素地図を作成した。また、この制限酵素産生遺伝子がのったプラスミドによって起こるとされる宿主依存性変異現象を実験により証明した。チフス菌のフェージ型別という検査法があるが、フェージに溶原化したこの制限酵素関連産生遺伝子が、型別の結果に影響を与えることなどを論議した。

Keywords : restriction endonuclease, restriction map of pSTd4, phage typing

* 昭和女子大学

Shinagawa, K.*¹, Konuma, H., Sekita, S. and Sugii, S.*²: **Emesis of rhesus monkeys induced by intragastric administration with the HEp-2 vacuolation factor (cerreulide) produced by *Bacillus cereus***

FEMS Microbiol. Lett., **130**, 87~90 (1995)

嘔吐型食中毒事例から分離した *Bacillus cereus* によって産生された嘔吐毒と HEp-2 空胞化活性との間の相関性を調べるために、精製した HEp-2 空胞化活性物質 (セレウリド) と部分精製した嘔吐毒の性状調べると共にアカゲザルに経口投与し、以下の結果を得た。

1. セレウリドおよび部分精製した嘔吐毒の両物質はプロテアーゼによる消化、pH および熱に対し強い抵抗性を示した。2. 両物質をアカゲザルに経口投与したところ、両物質とも嘔吐を引き起こした。

以上のことから、セレウリドは嘔吐毒の本体であることが示唆された。

Keywords : *Bacillus cereus*, emesis, rhesus monkey

*¹ 岩手大学

*² 大阪府立大学

上田成子*¹, 小沼博隆, 品川邦汎*², 桑原祥浩*¹: **大豆および豆腐における *Bacillus thuringiensis* について**

日食微誌, **12**, 249~255 (1996)

外国, 国内産大豆と市販豆腐における *Bacillus thuringiensis* (BT 菌) の汚染状況を調査するとともに、原料大豆から豆腐を試作し、その製造過程での BT 菌の消長を検討し、以下の結果を得た。

1. 原料大豆 (180 検体) の *Bacillus cereus* (BC 菌) および BT 菌数は、外国, 国内産大豆とも、その大部分が 10^2 cfu/g 前後であった。

2. BT 菌は原料大豆 180 検体中 39 検体 (21.7%) に検出され、それらの血清型は 7, 5a5b3c, 11a11c, 3a3b3c, 5a5c をはじめとする 14 種に型別された。また、豆腐では 3 検体から、血清型 3a3b3c のみが検出された。

3. 各検体から分離された BT 菌の下痢毒および推定嘔吐毒産生能はいずれも弱かった。

4. 原料大豆に下痢毒産生性の *Bacillus thuringiensis*, Kurstaki (3a3b3c) の芽胞を接種して作製した豆腐には本菌が持ち込まれることが分かった。本豆腐を 4℃ 保存した場合は 48 時間まで BT 菌の増殖は認められなかったが、20℃ 保存した場合は、24 時間後に急激に増殖を示し、また、30℃ 保存した場合は 48 時間後には 10^8 cfu/g を超え、豆腐中に下痢毒が確認された。

Keywords : *Bacillus thuringiensis*, Soybean, Beancurd

*¹ 女子栄養大学

*² 岩手大学

Sakai, A., Nakajima (Yamakoshi), Y. and Miyata, N.: **The effects of fullerenes on the initiation and promotion stages of BALB/3T3 cell transformation**

Fullerene Science & Technology, **3**, 377~388 (1995)

フラーレンの安全性研究の一環として、フラーレン C₆₀ ならびにフラーレン C₆₀ と C₇₀ の混合物をポリビニルピロリドンをを用いて水溶化し、BALB/3T3 細胞を用いる 2 段階形質転換試験を行った。フラーレン C₆₀ ならびに C₆₀ と C₇₀ の混合物は、イニシエーション作用、プロモーション作用ともに陰性であった。

Keywords : cell transformation, fullerene, BALB/3T3 cells

伊藤幸次*¹, 前田さつき*¹, 高鳥浩介, 竹内久米司*¹:

大豆粕乾留タール (Glyteer) の薬理学的研究 (第 5 報) 抗菌作用

日薬理誌, 105, 469~478 (1995)

大豆粕乾留タール (Glyteer; GL) の臨床効果を細菌学的に裏付けるため, *in vitro* における抗菌試験および耐性獲得試験を行った。GL は主要な皮膚感染菌である細菌に対して 156.3~2500 µg/ml, 白癬菌に対しては 156.3 µg/ml の最小発育阻止濃度 (MIC: minimum inhibitory concentration) を示した。また, これら菌に対する最小殺菌濃度 (MCC: minimum cidal concentration) は MIC と同程度の数値を示し, GL の抗菌作用は殺菌的であることが推察された。GL は, MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) に対しても有効であった。さらに, 耐性獲得試験においては代表的な細菌および病原性真菌のいずれに対しても GL 耐性の獲得傾向がなく, GL 耐性菌出現の可能性は少ないものと思われた。以上, GL は皮膚科領域でしばしば問題となる皮膚感染菌に対して明らかな抗菌作用を示し, 皮膚疾患に対する GL の臨床効果を裏付けるものとなった。

Keywords : Glyteer, MIC, antimicrobial test

*1 藤永製薬(株)

高鳥浩介, 李 憲俊*1 : 食品製造施設とカビ防止対策 空気調和・衛生工学, 69(7), 543~547 (1995)

食品製造施設は, 一般にカビ被害を受けやすい環境にある。そのため, 厚生省では, 昭和 54 年から衛生規範を作成し, 各現場での衛生指針を具体的に示してきた。特に, ここでテーマとするカビは, 食品およびその製造環境で被害を起こすことが多く, そのカビに関する話題をまとめることにした。カビの発生には, 適度な湿度と温度が最も重要な因子であり, 食品製造施設は高温・高湿であることが多くカビによる被害を受けやすい。その被害は, 環境に限らず, 食品そのものに及ぶことから, 同施設に分布する有害カビについて解説した。また, カビの発生による具体的事例を挙げ, 食品事故による腐敗・変敗・機器などの劣化, さらに人体への害をまとめた。そして, このような食品製造施設でのカビ被害を防ぐための物理的・化学的対策をまとめた。

Keywords : mold contamination, food manufacturing facilities, anti-mold counterplan

*1 (財)食品薬品安全センター

松田 洋*1, 常磐俊之*1, 李 憲俊*1, 高鳥浩介 : 真菌 の定量試験法における塗抹平板法と混積平板法の比較 防菌防霉, 23(10), 613~618 (1995)

塗抹平板法と混積平板法における培地温度および培地量を変化させたときの真菌培養法としての妥当性を酵母 5 種 5 株, 好稠性真菌 3 種 3 株, 耐熱性真菌 10 種 10 株高湿性真菌 14 種 14 株を用いて比較検討した。生真菌数において, 塗抹平板法の方が混積平板法より正確で均一な生真菌数が得られた。混積平板法で生真菌数が減少したのは, 培地温度の影響および菌要素が培地中に存在したことによると考えられた。混積平板法の長所は, 塗抹平板法よりも多くの検体を接種できることである。混積平板法の短所は, 生真菌数が少なくカウントされ, 試験条件が異なると生真菌数が変化し, かつ培養期間が若干長期になることである。さらに, 混積平板法では, 菌要素の発育, 色調, 胞子生産性が劣り, 菌の同定などの詳細な検討を行うのには不向きである。以上のことから, 真菌の培養に関しては, 塗抹平板法の方が混積平板法よりも優れた培養法であると結論された。

Keywords : spread plate technique, pour plate technique, colony forming units

*1 (財)食品薬品安全センター

李 憲俊*1, 高鳥浩介, 松岡英明*2, 倉田 浩*3 : 真菌 の MIC 測定のための発芽および形態観察

防菌防霉, 23(8), 473~477 (1995)

発芽の速やかな真菌を用い, 発芽および発育度を指標として短時間抗真菌活性評価が可能であるかを検討したところ以下のような結論を得た。*Alternaria alternata*, *Curvularia lunata*, *Drechslera* sp. および *Ulocladium* sp. の塩化ベンザルコニウム (BKC) に対する MIC 値は, 液体培地を用いる従来法のいずれも 12.5 µg/ml であった。*Alternaria* およびその近縁真菌である供試真菌の BKC 中での発芽率および発育度を指標とすることによって, 培養 6 時間または 8 時間の短時間での抗真菌活性評価が可能であった。6~8 時間の短時間培養の発芽率測定から得られた MIC 値と従来の方法による MIC 値が一致した。*Alternaria* およびその近縁真菌の BKC に対する MIC 値は同じであったが, その薬剤中での発育形態には差が認められた。

Keywords : antifungal susceptibility test, benzalkonium chloride, rapid determination of MIC

*1 (財)食品薬品安全センター

*2 東京農工大学

*3 (財)東京顕微鏡院

Yang, H-C.*1, Nemoto, Y.*1, Homma, T.*1, Matsuoka, H.*1, Yamada, S.*2, Sumita, O.*2, Takatori, K. and Kurata, H.*3 : Rapid viability assessment of spores of several fungi by an ionic intensified fluorescein diacetate method

Current Microbiol., 30, 173~176 (1995)

蛍光色素 fluorescein diacetate (FDA) を用い真菌 *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium citrinum* の胞子に対する蛍光活性を測定した。蛍光定量を, CCD 測定器で求めた。10 mM pH 7.0 の緩衝液で蛍光染色した場合生菌と死菌での *A. niger*, *R. stolonifer* の胞子発光量は減弱かほとんど認めなかったため, 生死判別が困難であった。NaCl, KCl MgCl₂ を FDA に添加して蛍光測定した時に, *A. niger* 生菌胞子で著効を呈した。また NaCl の添加した FDA は, 他の真菌でも蛍光活性を認めた。

Keywords : fungi, fluorescein diacetate, spores

*1 東京農工大学

*2 バイオ技研

*3 (財)東京顕微鏡院

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改善に向けた「表示」の 検討

日本リスク研究学会誌, 7(1), 81~88 (1995)

製造物責任法施行を機に製品の表示を含む危険性情報のあり方が問題となっていることから, 国内外の化学品の危険性表示制度とその具体例について検討した。その結果従来のわが国の表示の多くが法定や行政指導によるものが主で, 必ずしも情報の受け手の理解や安全行動を十分検討していると思われず, 次の改善が必要と認められた。(1)危険性の具体的内容と程度, 危険予防と応急処置の簡潔, 明瞭な表示, (2)表示内容, 方法の標準化, (3)教育, キャンペーンによる表示内容の理解と活用の促進。

Keywords : labelling, product safety, risk communication

- *¹ 化学品安全管理研究所
 *² ライオン(株)研究開発本部
 *³ 昭和女子大学

Umemura, T., Saito, M., Takagi, A. and Kurokawa, Y.: **Isomer-specific acute toxicity and cell proliferation in livers of B6C3F1 mice exposed to dichlorobenzene**

Toxicol. Appl. Pharmacol., **137**, 268~274 (1996)

ジクロロベンゼン3種異性体 (*o*-, *m*-および *p*-DCB) を B6C3F1 マウスに強制経口投与して、自動分析装置による血清アラニンアミノトランスフェラーゼ活性 (ALT)、イメージプロセッサを用いた壊死組織領域 (necrotic area: NA) および BrdU 免疫染色による細胞増殖活性を測定し、それぞれ用量相関性、時間的変化について検討した。その結果、肝毒性の強さの順は *m*-DCB > *o*-DCB >> *p*-DCB であり、*o*-DCB が最も強いラットの結果と異なった。また、何れの化合物も投与後肝細胞増殖誘導が認められたが、*o*-および *m*-DCB では ALT および NA の上昇する用量においてのみ認められ、また時間的にはこれら肝毒性を示すパラメーターの上昇後に認められた。一方、*p*-DCB では肝毒性を示さない用量においても肝細胞増殖活性の上昇が観察され、時間的にも軽度な肝毒性発現と同時に認められた。この事から、*o*-および *m*-DCB で認められた細胞増殖活性の上昇は代償性的変化であり、*p*-DCB のそれとは質的に異なるものである事が明かとなった。

Keywords : dichlorobenzene, cell proliferation, B6C3F1 mouse

Umemura, T., Sai, K., Takagi, A., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: **Oxidative DNA damage and cell proliferation in the livers of B6C3F1 mice exposed to pentachlorophenol in their diet**

Fundam. Appl. Toxicol., **30**, 285~289 (1996)

防腐剤として使用されている pentachlorophenol (PCP) はマウス肝に催腫瘍性を有している。そこでこの PCP を 0.03, 0.06 および 0.12% の濃度に混じた飼料をマウスに4週間自由に摂取させ、投与開始後の2および4週目に動物を解剖し、肝 DNA 中の 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) レベルおよび肝細胞増殖活性を肝毒性パラメーターと共に検索した。その結果、8-OHdG レベルは実験期間を通じて投与群において有意に上昇した。また、細胞増殖誘導も同様に観察された。また、DNA 量の増加を伴う肝重量の増加も認められた。組織学的には肝細胞の強い腫脹が観察され、血清アラニンアミノトランスフェラーゼ活性が軽度の上昇した。これらの結果より、PCP はマウスの肝に酸化 DNA 損傷を引き起こし、同時に肝細胞の増殖誘導を引き起こす事が明かとなり、これらの変化が PCP の肝発癌機構に深く関与している事が示唆された。

Keywords : pentachlorophenol, oxidative stress, cell proliferation

Ono, A., Sekita, K., Ohno, K., Hirose, A., Ogawa, Y., Saito, M., Naito, K., Kaneko, T., Furuya, T., Matsumoto, K.*, Tanaka, S. and Kurokawa, Y.: **Reproductive and developmental toxicity studies of toluene. I Teratogenicity study of inhalation exposure in pregnant rats**

J. Toxicol. Sci., **20**, 109~134 (1995)

我が国では、青少年を中心とした有機溶剤乱用者が後を断たず、その次世代に及ぼす影響が危惧されている。今回、我々はシンナーの主成分であり、乱用者の特に多いトルエンの生殖発生への影響について検討するため、妊娠ラット (10週齢, Slc:SD) にトルエン (0, 600 および 2000 ppm) を胎児の器官形成期反復吸入暴露 (妊娠7~17日, 6時間/日) して母体、胎児および新生児への影響を検討した。母動物の体重および摂餌量は 2000 ppm トルエン暴露により暴露期間中有意に抑制および減少した。しかし、暴露期間終了後は有意差は認められなかった。トルエン暴露群では死胚率の増加および高い死胚率を有する母動物数の増加傾向が軽度認められ、胎児体重も低い傾向を示した。しかし、胎児に外形異常および骨格異常は認められず、また出生児にトルエンの影響は認められなかった。以上により、高濃度トルエン吸入による親動物への影響と胎児毒性が示唆された。

Keywords : toluene, teratogenicity, inhalation

* 信州大学医学部

Ogawa, Y., Suzuki, S., Naito, K., Saito, M., Kamata, E., Hirose, A., Ono, A., Kaneko, T., Chiba, M.*, Inaba, Y.* and Kurokawa, Y.: **Toxicity study of europium chloride in rats**

J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol., **14**, 1~9 (1995)

塩化ユーロピウムを28日間連続的に雌雄各10匹のラットに0, 40, 200 および 1000 mg/kg/day の用量で強制経口投与した。ラットの体重、摂餌量を測定し、血液学、血清生化学、病理組織学の各検査を行い、臓器中のユーロピウムおよび必須元素濃度を測定した。前胃の過角化症および胃の粘膜下織に好酸球の浸潤が雌雄の 1000 mg/kg 投与群に観察された。ユーロピウム濃度は腎臓、肝臓、大腿骨および脾臓中に、投与量に依存し増加していた。1000 mg/kg 群の雌雄に血清総鉄結合能の増加が認められた。1000 mg/kg 群の雌雄に脾臓中の鉄濃度と大腿骨中のストロンチウム濃度の低下が観察された。NOEL は、200 mg/kg/day と推定された。

Keywords : rare earth element, europium chloride, toxicity test

* 順天堂大学医学部

Kitajima, S., Tsuda, M., Eshita, N., Matsushima Y., Saitoh M., Momma J. and Kurokawa Y.: **Lipopolysaccharide-associated elevation of serum and urinary nitrite/nitrate levels and hematological changes in rats**

Toxicol. Lett., **78**, 135~140 (1995)

リポポリサッカロイド (LPS) による一酸化窒素濃度の上昇と血液学的変化との相関を検討した。LPS (1 mg/kg b.w.) の腹腔内投与により、24時間後の血清中および尿中の亜硝酸イオン・硝酸イオン濃度の総量 ($[\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-]$) は、生理食塩水を投与した対照群と比較して、それぞれ11倍および50倍に増加した。またこの時、LPS 投与群での白血球数、リンパ球数、血小板数は、対照群に比べてそれぞれ、80%, 40%, 35%まで減少したが、好中球数、単球数はそれぞれ、330%および650%まで増加した。以上のことから、LPSによる $[\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-]$ 上昇と血液学的変化は、免疫反応として相関していることが示唆された。

Keywords : lipopolysaccharide, NO production, hematological changes

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 Ca^{2+} levels and histamine secretion in RBL-2H3 cells**

Inflamm. Res., **44**, 335~339 (1995)

ラット株化好塩基球性白血病細胞 (RBL-2H3 cell) を用いて, 2,5-di(*tert*-butyl)-1,4-hydroquinone (DTBHQ) の細胞内 Ca^{2+} 量 ($[Ca^{2+}]_i$), および細胞からのヒスタミン遊離量への影響を検討した. DTBHQ (0.1~10 μ mol/l) は, 濃度依存性に急速で持続的な $[Ca^{2+}]_i$ 上昇を引き起こした. ジニトロフェノールに対する IgE 抗体で感作した細胞に, DTBHQ (10 μ mol/l) を投与すると, ジニトロフェニル化した BSA 抗原で刺激した場合よりも, 大きな $[Ca^{2+}]_i$ 上昇が認められた. 感作した細胞を, DTBHQ (10 μ mol/l) および抗原 (10 μ g/ml) で刺激すると, 細胞からのヒスタミンの遊離が認められたが, その遊離量は抗原刺激時の方が多かった. DTBHQ によるヒスタミン遊離量は, C キナーゼ活性化剤である TPA (10 ng/ml) により増加したが, TPA 単独ではヒスタミン遊離は引き起こされなかった. さらに DTBHQ は, 抗原によるヒスタミン遊離を促進した. 以上のことから, RBL-2H3 cells において, DTBHQ は, 単独では抗原刺激ほどヒスタミン遊離を引き起こさないが, $[Ca^{2+}]_i$ 上昇および抗原刺激によるヒスタミン遊離を促進することが示唆された. また, $[Ca^{2+}]_i$ 上昇はヒスタミン遊離に必要ではあるが, 単独では不十分であることが示唆された.

Keywords: histamine secretion, basophilic leukemia cell, Ca^{2+} ATPase inhibitor

Takagi, A., Takada, K., Sai, K., Momma, J., Aida, Y., Suzuki, S., Naitoh, K., Tobe, M., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: **Chronic oral toxicity of a synthetic antioxidant, 2,2'-methylenebis(4-ethyl-6-*tert*-butylphenol) in rats**

J. Appl. Toxicol., **16**, 15-23 (1996)

一群 30 匹の雌雄ウイスターラットに 2,2'-methylenebis(4-ethyl-6-*tert*-butylphenol) (MBEBP) を飼料中に 0, 0.03, 0.1 あるいは 0.3% の濃度で添加し, 18 カ月間投与した. 両性で, 投与群の生存率は対照群と同様であった. 体重は雄の 0.3% 群で, 雌の 0.1 および 0.3% 群で増加抑制が認められた. 軽度の貧血と血清中の BUN の増加がそれぞれ雌雄 0.3% 群で認められた. 病理組織学的検査では副甲状腺細胞の空胞化が雄の 0.3% 群と雌の検体投与群全てで認められ, 腎の退行性変化が雄の 0.1 と 0.3% 群で認められた. MBEBP 投与によると思われる主要性の変化は認められなかった. これらの結果, 雄では NOA-EL は 12 mg/kg/day と算出された. 一方, 雌では LOA-EL が 15 mg/kg/day と算出された.

Keywords: 2,2'-methylenebis(4-ethyl-6-*tert*-butylphenol), chronic toxicity, kidney, parathyroid gland, rat

Hasegawa, R., Chujo, T.*, Sai-Kato, K., Umemura, T., Tanimura, A.* and Kurokawa, Y.: **Preventive effects of green tea against liver oxidative DNA damage and hepatotoxicity in rats treated with 2-nitropropane**

Fd. Chem. Toxicol., **33**, 961~970 (1995)

2% 緑茶浸出液あるいはそのカテキン抽出液を F344 雄ラットに 2 週間飲用させた後, 肝毒性物質で肝発がん性を示す 2-ニトロプロパン (2NP) を単回腹腔内投与し, 肝毒性ならびに肝核の酸化的 DNA 損傷の指標として 8-hy-

droxydeoxyguanosine (8-OHdG) レベルの変化を解析した. 緑茶の前投与により肝毒性は有意に抑制され, また 8-OHdG レベルの増加も有意に抑制された. (一) Epigallocatechin gallate を主要成分とするカテキン抽出液の前投与ではこうした効果は緑茶の約半分であった. この結果は日本人が一般に飲用している緑茶の量でヒトが環境中の 2 NP に曝露された時起こる肝毒性あるいは肝発がんを防御できる可能性を示唆している.

Keywords: 2-nitropropane, 8-hydroxydeoxyguanosine, green tea

* 昭和女子大生活科学科

Sai-Kato, K., Takagi, A., Umemura, T., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: **Role of oxidative stress in non-genotoxic carcinogenesis with special reference to liver tumors induced by peroxisome proliferators**

Biomed. Environ. Sci., **8**, 269~279 (1995)

げっし類の肝発がんを誘発する peroxisome proliferators (POP) の発がんメカニズムの 1 つとして, 従来より“酸化的ストレス”説が提唱されてきた. このレビューでは, POP 投与による酸化的 DNA 損傷について, 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) を指標として検討した *in vivo* 実験結果についてまとめ, POP の投与により肝 8-OHdG の生成が認められた事実から, POP による発がん機序に酸化的 DNA 損傷の寄与する可能性を述べた. さらに POP の発がん機序に関連すると推測されてきた多彩な生物学的現象と酸化的ストレスとの関わりに関して考察を加え, 多様な経路が推定される POP の発がん機序における酸化的ストレスの役割について推測した.

Keywords: peroxisome proliferator, 8-hydroxydeoxyguanosine, oxidative stress

Sai-Kato, K., Umemura, T., Takagi, A., Hasegawa, R., Tanimura, A.* and Kurokawa, Y.: **Pentachlorophenol-induced oxidative DNA damage in mouse liver and protective effect of antioxidants**

Fd. Chem. Toxicol., **33**, 877~882 (1995)

マウス肝発がん性の pentachlorophenol (PCP) の発がん機序における酸化的 DNA 損傷の関与について, 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) を指標として検討した. マウスに PCP (0~80 mg/kg) を単回強制経口投与した結果, 投与量依存的な肝 8-OHdG レベルの有意な増加が認められた. この 8-OHdG レベル上昇の程度は PCP の 5 日間連続投与により増大した. PCP (60 mg/kg) 単回投与による 8-OHdG 生成は, 抗酸化的因子の減少を引き起こす GSH 合成阻害剤, カタラーゼ阻害剤投与によっては, 明かな影響は認められなかった. 一方, PCP (60 mg/kg/day) の 5 日間投与による 8-OHdG 生成は, 天然の抗酸化物質である vitamin E および diallyl sulfide の投与により有意に抑制され, また ellagic acid, vitamin C および epigallocatechin gallate 投与にも抑制効果が認められた. 以上の結果から, PCP の発がん機序に酸化的 DNA 損傷が寄与し, また上記の天然抗酸化物質が PCP の発がん予防に有効である可能性が示唆された.

Keywords: pentachlorophenol, 8-hydroxydeoxyguanosine, antioxidant

* 昭和女子大学

Nishinakamura, R.*^{1,2}, Nakayama, N.*¹, Hirabayashi, Y., Inoue T., Aud, D.*¹, McNeil, T.*¹, Azuma, S.*², Yoshida, S.*², Toyoda, Y.*², Arai, K-i.*², Miyajima,

A.*¹, Murray, R.*¹: **Mice deficient for the IL-3/GM-CSF/IL-5 β c receptor exhibit lung pathology and impaired immune response, while β IL-3-receptor-deficient mice are normal**

Immunity, 2, 211~222 (1995)

インターリュウキン-3 (IL-3), 顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF), IL-5 の受容体は相互に共通 β 鎖 (β c) を共有している。マウスでは、これに加えて IL-3 特異的 β 鎖 (β_{IL-3}) があり, その機能を明らかにする為に, この β 鎖をそれぞれ個別に欠失させた変異マウスを作製した。 β c を欠失させたマウスの骨髓細胞は, GM-CSF と IL-5 とに反応を示さないが, IL-3 に対する反応性は, β c を欠失させても β_{IL-3} を欠失させても正常であった。 β c 欠失マウスは, リンパ球浸潤と肺胞蛋白症からなる肺病変を伴い, また, 無刺激状態での末梢血の好酸球数が少なかった。 β c 欠失骨髓細胞で再建されたマウスは白血球の回復の遅延と好酸球数の減少がみられた。これらのデータは β c の生体内での機能を明らかにするもので, 結果として表現型としては, GM-CSF と IL-5 の作用双方の欠失状態として観察された。

Keywords : cytokine receptor, gene disruption, mouse

*¹ DNAX Research Institute of Molecular and Cellular Biology

*² 東京大学医学研究所

Nishijima, I.*¹, Nakahata, T.*¹, Hirabayashi, Y., Inoue, T., Kurata, H.*¹, Miyajima, A.*², Hayashi, N.*¹, Iwakura, Y.*¹, Arai, K-i.*¹, Yokota, T.*¹: **A human GM-CSF receptor expressed in transgenic mice stimulates proliferation and differentiation of various hemopoietic progenitors in response to the ligand**

Molecular Biology of the Cell, 6, 497~508 (1995)

顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) は主に骨髓球の分化と増殖を促す増殖刺激因子である。GM-CSF 受容体を介する細胞内シグナル伝達についての知見は集積しつつあるが, 未だに分化段階に応じた骨髓球の分化に対する情報伝達については不明確である。受容体の発現と血液細胞の分化との関連を解析する目的で, ほぼすべての分化段階の血液細胞に構成的にヒトの GM-CSF を発現させた遺伝子導入マウス (「ト」マウス) を作成し, 「ト」マウス骨髓細胞中の造血前駆細胞の増殖と分化を *in vitro* のメチルセルロースコロニー法を用いて解析した。高親和性 GM-CSF 受容体は種特異的に GM-CSF と結合するため, この系ではヒト GM-CSF を用いてマウスの造血前駆細胞の分化について解析することができる。マウスの GM-CSF は GM コロニーしか形成させないが, ヒト GM-CSF は GM, 好酸球, マスト細胞, 赤芽球, 巨核球, 芽球性および混合性コロニーといった多彩なコロニーを維持した。つまり, コロニー形成に及ぼすヒト GM-CSF の作用は, マウス GM-CSF よりはむしろ IL-3 に類似していた。さらに, ヒト GM-CSF はマウス IL-3 よりも, はるかに多くの芽球性コロニーや混合性コロニーを形成させた。さらにヒト GM-CSF はエリスロポエチンなしで赤芽球性コロニーも形成させた。すなわち, GM-CSF は機能的な GM-CSF 受容体があればほぼ全ての造血細胞系列の増殖を促進する能力があることが明らかとなった。

Keywords : human GM-CSF receptor, transgenic mouse, hemopoiesis

*¹ 東京大学医学研究所

*² DNAX Research Institute of Molecular and Cellular Biology

lar Biology

Sasaki, H.*¹, Hirabayashi, Y., Ishibashi, T.*², Inoue, T., Matsuda, M.*¹, Kai, S.*¹, Ikuta, K.*¹, Yokota, T.*³, Maruyama, Y.*², Matsuyama, S.*¹: **Effects of erythropoietin, IL-3, IL-6 and LIF on a murine megakaryoblastic cell line Growth enhancement and expression of receptor mRNAs**

Leukemia Research, 19, 95~102 (1995)

巨核芽球性細胞株 (L8057, L8057Y5) の増殖に与える以下の遺伝子組み替え型の増殖因子の作用をウシ血清アルブミン (BSA) を添加した無血清のメチルセルロース培養にそれぞれの因子を加えることで検討した。すなわち, ヒト・エリスロポエチン (rhEPO), マウス・インターリュウキン-3 (rmIL-3), ヒト・IL-6 (rhIL-6), ヒト・IL-11 (rhIL-11), マウス・白血球抑制因子 (rmLIF), およびマウス・顆粒球マクロファージ刺激因子である。無血清無蛋白の培養条件で維持している L8057Y5 は, rhIL-11 を除きほぼ濃度依存性に増殖が観察された。血清を含む培養条件で維持している L8057 はほぼ増殖は促進されたが, その程度は rhEPO 以外では L8057Y5 よりも少なかった。L8057 の増殖刺激を観察したサイトカインの中で, EPO, IL-3, IL-6 の受容体の mRNA の発現をノザン法もしくは逆転写酵素・ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) にて観察した。L8057 および L8057Y5 とともに, EPO 受容体, IL-6 受容体, gp130, IL-3 受容体 α 鎖, β 鎖の mRNA が構成的に発現していた。この結果は, L8057 および L8057Y5 の巨核芽球としての特徴はサイトカインに対する生物反応の結果としてみられるものであり, ひいてはサイトカイン受容体の発現の結果であること, そしてこれらのサイトカインによる増殖刺激はおそらく特異的な受容体を介して到達していることを示唆しているものである。我々の得た知見は巨核芽球造血における増殖シグナル伝達の機序解明の為にこれらの細胞株が有用であることを示している。

Keywords : megakaryoblastic cell line, EPO, IL-3, IL-6 LIF, receptor

*¹ 横浜市立大学医学部

*² 福島医科大学

Inoue, T., Hirabayashi, Y., Mitsui, H.*¹, Sasaki, H.*¹, Cronkite, EP.*², Bullis, JE.*², Bond, VP.*², Yoshida, K.*³: **Survival of spleen colony-forming units (CFU-S) of irradiated bone-marrow cells in mice: Evidence for the existence of a radio-resistant sub-fraction**

Expil Hematol, 23, 1296~1300 (1995)

造血幹細胞の不均質を示す知見が増加しつつあるため, 造血幹細胞 (CFU-S) の放射線感受性が, 照射線量に応じて片対数グラフ上で直線性を示すという古典的な概念が実際に 400~600 cGy といったより高い放射線量にも適用出来るのかについて再検討を行った。マウス骨髓細胞を *in vitro* にて照射した。このとき低酸素効果を極力避けるよう細心の注意を払った。このアッセイ系で評価可能な幅に収まった脾コロニー数から換算すると, 放射線生存曲線は多相性の下に凸の形を取り, 400 から 600 cGy 照射後の D0 値は約 275 cGy と換算されたのに対して, より低線量の照射後の D0 値は従来得られている値と同等の 95 cGy であった。従来の放射線照射後の脾コロニーの生存曲線が, 照射線量に対して片対数グラフ上で直線として得られた理由を検討し, *in vitro* 照射によって得られた今回の結果と従来の結果とを比較した。実験的証拠は無いが,

我々は生存曲線の傾きを決定する主たる要因は照射を受けている間の正常の造血環境にある造血幹細胞の分化度の違いによるものと推測している。限界希釈法によって換算される、600 cGy 照射後に生存する分画は骨髓細胞約 2×10^6 個にひとつ存在することが期待される。こうした放射線に非感受性の CFU-S は、骨髓に致死線量照射された個体の生存を、長期にわたって維持する事の出来る未熟な CFU-S であると考えられる。

Keywords : hemopoietic stem cell, radiation-sensitivity, CFU-S

*1 横浜市立大学医学部

*2 Brookhaven National Laboratory

*3 放射線医学総合研究所

Eliason, J. E.*1, Baumgartner, M.*1, Yoshikubo, T.*1, Hirabayashi, Y., Mitsui, H.*2, Inoue, T.: **Mofarotene (Ro 40-8757) inhibits hematopoiesis in vitro by preventing maturation from primitive progenitor cells**

Blood, 86, 4516~4526 (1995)

レチノイン酸誘導体の arotinoid mofarotene (Ro 40-8757; 4-[2-[p-(E)-2(5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetra-methyl-2-naphthyl)-propenyl]phenoxy]ethyl]morpholine) の造血支持細胞の誘導造血に与える効果をマウス長期骨髓細胞培養で検討した。mofarotene 投与によって、培養 2 週間で再生期、培養 4 週間で平衡期になるものの、濃度依存性に産生される総細胞数を強く抑制した。また造血前駆細胞の産生も抑制するがその程度はやや軽度であった。mofarotene を培養初期に添加した場合、 $1 \mu\text{mol/l}$ の濃度では接着層の形成を阻害しないが、以後 10 週間以上にわたって、総有核細胞と前駆細胞の産生は各々 95% および 96% に抑制された。mofarotene 処理を止めると前駆細胞数は直ちに増加し始め、細胞産生は 4 週間以内の対照培養に相当する状態で平衡に達した。造血は 14 週間以上にわたって維持され、この mofarotene 処理によって長期培養細胞が生存していることを示している。接着層の細胞による脾コロニー形成法での結果では、day 9 CFU-S よりも、より未分化型の day 13 CFU-S の濃縮を示した。mofarotene は機能検査や、mRNA 発現レベルの検討の結果、外因性の成長因子刺激骨髓細胞によるコロニー形成を抑制しないし、培養中の支持細胞による成長因子の分泌を減少させないということが明らかになった。これらの結果は mofarotene が非常に未分化な前駆細胞の分化を抑制し、それより分化した造血細胞成分の産生を抑制していることを示唆している。

Keywords : Mofarotene (Ro 40-8757), hemopoiesis, cell maturation

*1 日本ロッシュ研究センター

*2 横浜市立大学医学部

Inoue, T.: **The use of biotechnical recombinant-mice to test the safety of potential carcinogenic pharmacologicals**

The Journal of Toxicological Sciences, 20(4), 468~470 (1995)

遺伝子改変動物を用いた発がん性試験の可能性、その利点と問題点を討論した。自然発症の先天性免疫不全マウス (scid) 等も含め、ヒト c-myc や p53 遺伝子欠失動物における発がん性実験を紹介し、それぞれの特徴を明らかにした。多くの遺伝子は当然の事ながらそれぞれ固有の機能を有し、従ってそれらを過剰発現せしめたり欠失させること

による易発がん性はどうしても発がんスペクトラムを変化させる事にならざるを得ない。この点を問題点として指摘し、課題として提示した。

Keywords : biotechnological recombinant mouse

Koizumi, S., Kataoka, Y.*1, Inoue, K., Kohzuma, M.*1, Niwa, M.*1 and Taniyama, K.*1: **Contribution of L-type Ca^{2+} channels to long-term enhancement of K^{+} -evoked dopamine release from rat striatal slices**

Neurosci. Lett., 187, 123~126 (1995)

ラット線条体スライス標本を用い、20 分間隔の高濃度 KCl 刺激により惹起されるドパミン放出を連続的に観察し、電位依存性 L-型カルシウムチャネル作用薬 Bay k 8644 の影響を検討した。KCl 刺激を繰り返すと、ドパミン放出応答はほぼ一定となった。Bay k 8644 を 20 分間添加すると、その後のドパミン応答は濃度依存的に ($1 \sim 100 \mu\text{M}$) 亢進し、増強作用は 2 時間にわたり観察された。Bay k 8644 処理時に、細胞外カルシウムイオンを除去すると、ドパミン応答の増強は認められなかった。以上、線条体ドパミン神経の L-型カルシウムチャネルが、神経伝達物質放出の効率亢進に深く関与していることが明らかとなった。

Keywords : LTP, striatum, L-type calcium channel

*1 長崎大医学部

Koizumi, S., Nakazawa, K. and Inoue, K.: **Inhibition by Zn^{2+} of UTP-induced Ca^{2+} -influx but not Ca^{2+} -mobilization in rat pheochromocytoma cells**

Br. J. Pharmacol., 115, 1502~1508 (1995)

PC12 細胞に PLC/IP3 と共役した P2U 受容体が存在すること、この受容体刺激により惹起される細胞内 Ca^{2+} 濃度変動とドパミン放出の関係を明らかとした。P2U 受容体刺激により、IP3 に起因する細胞内カルシウム貯蔵部位からの一過性の Ca^{2+} 遊離と、それに引き続く持続性の Ca^{2+} 流入が認められた。この持続性 Ca^{2+} 流入は、 Ca^{2+} 貯蔵部位の Ca^{2+} 量に依存した容量性 Ca^{2+} 流入であった。P2U 受容体刺激により、ドパミン放出が認められたが、これは完全に細胞外 Ca^{2+} に依存していた。つまり、容量性 Ca^{2+} 流入に依存した放出であった。Zn²⁺ は容量性 Ca^{2+} 流入およびドパミン放出を抑制した。以上、PC12 細胞に容量性 Ca^{2+} 流入現象が認められることおよびこの Ca^{2+} 流入が神経伝達物質放出と関連していることが明らかとなった。

Keywords : UTP, dopamine release, Zn²⁺

Koizumi, S., Ikeda, M., Nakazawa, K. and Inoue, K.: **Inhibition by haloperidol of adenosine 5'-triphosphate-evoked responses in rat pheochromocytoma cells**

Biochem. Biophys. Res. Commun., 210, 624~630 (1994)

ATP 受容体/チャネル活性化に起因する応答に対する、精神分裂病治療薬の影響を検討した。ATP により惹起される内向き電流、細胞内 Ca^{2+} 上昇およびドパミン放出は、定型分裂病治療薬 haloperidol および chlorpromazine により濃度依存的に抑制された。この抑制作用は、これらの薬物が有するドパミン D2 受容体拮抗作用およびカルモデュリン阻害作用とは無関係であり、P2 受容体チャネルに対する直接の作用であった。また他の分裂病治療薬によっても ATP 誘発 Ca^{2+} 上昇は抑制された。以上の結果は、ATP 受容体に対する抑制作用は分裂病治療薬に共通して認められる現象である可能性および精神分裂病発症の一因

に ATP 受容体の過剰活動が関与している可能性を示唆するものである。

Keywords : ATP, antipsychotic drugs, PC12 cells

Koizumi, S., Ikeda, M., Inoue, K., Nakazawa, K., Ohno, Y. and Inoue, K.: Zinc ion potentiates various responses mediated by P2-purinoceptor/channels in rat pheochromocytoma cells

Int. Acad. Biomed. Drug Res., **11**, 6244~6250 (1994)

Zn²⁺ の脳内濃度は比較的高く、しかも神経終末に Zn²⁺ を含む亜鉛含有神経が脳内に局在している。我々が ATP 応答を確認した海馬では、興奮性の刺激により Zn²⁺ が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 Zn²⁺ の影響について検討した。Zn²⁺ 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上昇およびドパミン放出を顕著に増強した。Zn²⁺ 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、Zn²⁺ は、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 : zinc, ATP, PC12 cells

Ochi, M.*¹, Koizumi, S., Shibata, S.*¹ and Watanabe, S.*¹: Long-term enhancement of dopamine release by high frequency tetanic stimulation via NMDA-receptor-mediated pathway in rat striatum

Neuroscience, **66**, 29~36 (1995)

高頻度刺激がその後の神経伝達物質放出に与える影響を検討した。大脳皮質から線条体に入力するグルタミン酸神経を高頻度で刺激すると、線条体からのドパミン放出応答は顕著に増大し、これは2時間まで持続した。このドパミン放出応答の増大は、高頻度刺激時に N-methyl-D-aspartate (NMDA) 型グルタミン酸受容体拮抗薬を存在させることにより消失し、また高頻度刺激の代わりにグルタミン酸を前処置することによっても再現できた。以上、NMDA 受容体が線条体ドパミン放出応答の可塑性に深く関わっていること、およびシナプスの長期増強現象を神経伝達物質放出の側面から捉えることが可能であることが明らかとなった。

Keywords : LTP, secretion, striatum

*¹九州大薬学部

小泉修一、井上和秀: 亜鉛イオンによる UTP 応答の抑制作用

神経化学, **34**, 78~79 (1995)

亜鉛は必須微量元素であり、200 以上の酵素の構成要素である。しかし、脳内では神経終末の小胞内に比較的高濃度の亜鉛をイオンとして蓄えた亜鉛含有神経が存在し、興奮性の刺激によりイオンとして放出されることが明らかとなっている。UTP 刺激により惹起される容量性カルシウム流入とドパミン放出現象、およびこれらの応答に対する亜鉛イオンの影響を神経系モデル細胞 PC12 細胞を用いて検討した。UTP 刺激により IP₃ に起因する細胞内カルシウム貯蔵部位からの一過性の Ca²⁺ 遊離の後、容量性 Ca²⁺ 流入が認められた。UTP 刺激により、本細胞よりドパミン放出が認められたが、これは完全に容量性 Ca²⁺ 流入に依存していた。Zn²⁺ は容量性 Ca²⁺ 流入およびドパミン放出を抑制した。以上、UTP 刺激による容量性 Ca²⁺ 流入がドパミン放出現象に共役していること、および Zn²⁺ がこれらの現象に対し、非常に強い抑制作用を呈することが

明らかとなった。

Keywords : ATP, zinc, dopamine

河野康子*¹, 高田昌和*¹, 小泉修一, 大岩陽子*¹, 糀本芳郎*²: 脳虚血によるラット脳内エネルギー代謝, catecholamine 代謝の変化に対する Nebracetam の保護作用

応用薬理, **50**, 359~366 (1995)

神経細胞のエネルギー代謝障害に対する nebracetam の影響を検討した。Nebracetam は、一過性の前脳虚血負荷により惹起されるラット脳内 ATP およびエネルギーチャージポテンシャルの低下を有意に抑制した。また様々な脳部位におけるカテコールアミン含量の低下をも抑制した。さらに、NaCN に誘発されるマウスの致死時間を顕著に延長した。本実験系で用いた nebracetam の投与量により得られた血中濃度は、従来 *in vitro* の実験系で有効性が認められた濃度とほぼ一致していた。以上、本実験結果は、nebracetam が虚血性の神経細胞障害に対して、臨床的に有効性を呈する可能性を示唆するものである。

Keywords : nebracetam, energy metabolism, ischemia

*¹ 日本ベーリンガーインゲルハイム(株)

*² パナファームラボラトリーズ(株)

Ikeda, M., Koizumi, S., Inoue, K., Ito, K., Nakazawa, K. and Inoue, K.: Potentiation by cadmium ion of ATP-evoked responses in rat pheochromocytoma cells

Br. J. Pharmacol., **117**, 950~954 (1996)

Cd²⁺ は、強力な毒性作用を有する 2 価イオンとして知られ、特に摂取した際の腎臓への毒性が問題となっている。さらに、Cd²⁺ が脳内へも比較的高濃度で移行することが知られている。モデル神経細胞系 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 Cd²⁺ の影響について検討した。Cd²⁺ 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上昇およびドパミン放出を顕著に増強した。Cd²⁺ 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、Cd²⁺ は、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, cadmium, PC12

Nakazawa, K., Inoue, K., Watano, T., Koizumi, S., and Inoue, K.: Zinc potentiation of neurotransmission and inhibition of background cationic conductance in rat cultured hippocampal neurones

J. Physiol. (Lond.), **484**, 447~462 (1995)

ラットの培養海馬神経における亜鉛 (Zn) の作用を電気生理学的に検討した。培養細胞間にはシナプスが形成されており、膜電位固定下では後シナプス電流が観察された。この電流は γ -アミノ酪酸 (GABA) により伝達された結果生じるクロライド電流であるが、グルタミン酸の関与も必須であることが示唆された。Zn (10 および 100 μ M) はこの後シナプス電流を頻度、振幅共に増強した。Zn はさらに膜電流を外向きにシフトした。この作用は主として細胞外ナトリウムを透過させるカチオン・コンダクタンスの抑制に起因することが示された。膜電位固定下で膜電位変化を調べた場合、Zn は興奮性後シナプス電位の増加およびスパイク電位の発生を伴う弱い過分極を生じた。以上のことから、Zn はナトリウムの透過性を減少させ、その結果膜抵抗の増加による興奮性をひきおこし、神経伝達を増

強することが示唆された。

Keywords : Zn, hippocampus, neurotransmission

Nakazawa, K., Akiyama, T., and Inoue, K.: **Block by 5-hydroxytryptamine of neuronal acetylcholine receptor channels expressed in *Xenopus* oocytes**

Cell. Mol. Neurobiol., **15**, 495~500 (1995)

クローン化されたアセチルコリン受容体チャンネルを cDNA を用いてアフリカツメガエル卵母細胞に発現させ、セロトニン (5-HT) の作用を検討した。チャンネルを $\alpha 3$ および $\beta 4$ サブユニットで発現させた場合、5-HT は 10~300 μM で用量依存的にアセチルコリンにより惹起される電流を抑制した。抑制は $\alpha 3$ を $\alpha 2$ または $\alpha 4-1$ で置換した場合でも、また $\beta 4$ を $\beta 2$ で置換した場合でも観察された。5-HT 受容体に拮抗することが知られている薬物は作動薬様の効果、すなわち電流抑制を示した。以上のことから 5-HT がアセチルコリン受容体を抑制すること、その抑制は特定のサブユニットに起因しないこと、また、結合部位は通常の 5-HT 受容体とは異なることが示された。

Keywords : acetylcholine receptor channels, 5-hydroxytryptamine, *Xenopus* oocyte expression system

Nakazawa, K., Ito, K., Koizumi, S., Ohno, Y. and Inoue, K.: **Characterization of inhibition by haloperidol and chlorpromazine of a voltage-activated K^+ current in rat pheochromocytoma cells**

Br. J. Pharmacol., **116**, 2603~2610 (1995)

ラット副腎髄質由来 PC12 細胞を用いて、抗精神病薬であるハロペリドールおよびクロルプロマジンの電位依存性カリウム電流に対する影響を検討した。両薬物はともに 1 および 10 μM の濃度でカリウム電流を抑制した。抑制は活性化電位、保持電位の変化で影響されなかった。これらの薬物と薬理効果の点で関連性のあるドパミン受容体拮抗薬、カルモジュリン阻害薬の効果を調べたが必ずしも同様の効果は得られなかった。カリウム電流の抑制は細胞内に GTP 結合タンパク質の阻害薬である GDP β S を適用することにより消失もしくは減弱した。以上のことからハロペリドールおよびクロルプロマジンが GTP 結合タンパク質を介する機序でカリウム・チャンネルを抑制すること、この作用はドパミン受容体拮抗あるいはカルモジュリン阻害とは関係しないことが示された。

Keywords : haloperidol, chlorpromazine, K^+ channels

Inoue, K., Nakazawa, K., Inoue, K., Fujimori, K. and Ohno, Y.: **Minor pain inducers modulate membrane current in cultured neuronal cells**

Pharmacol. Toxicol., **77**, 417~420 (1995)

皮膚適用される薬品、化粧品原料、添加物として広く用いられているパラベン類、エタノール、ジプロピレングリコールの作用を、培養細胞に電気生理学的手法を適用して検討した。ラット副腎髄質由来 PC12 細胞において、これらの化合物は電位依存性カリウム電流を抑制した。また、ラットより調製した培養知覚神経においては、非選択的なカチオン・チャンネルを介すると考えられる内向き電流を惹起した。これらの電流応答はいずれも神経の興奮に至るものであり、よって、皮膚適用の際に問題となる、ひりつき感、ほてりなどの機序である可能性が考えられる。

Keywords : ingredients of pharmaceutical products or cosmetics, electrophysiology, cultured cells

Nakazawa, K., Ito, K., Koizumi, S., Ohno, Y. and

Inoue, K.: **Reduction of acetylcholine-activated current by low concentrations of extracellular adenosine 5'-triphosphate**

Life Sci., **57**, PL351~356 (1995)

アデノシン 5'-三リン酸 (ATP) のアセチルコリン受容体チャンネルに対する作用をラット副腎髄質由来 PC12 細胞およびこのチャンネルを cDNA により発現させたアフリカツメガエル卵母細胞を用いて検討した。PC12 細胞において ATP (10 nM~1 μM) はアセチルコリン誘発電流を約 60% のバッチで抑制した。アフリカツメガエル卵母細胞にチャンネルを $\alpha 3$ および $\beta 4$ サブユニットの組合せで発現させた場合、電流抑制は 100 fM という低濃度より観察された。同様の抑制はウリジン 5'-三リン酸 (UTP) でも認められた。このような低濃度での ATP の作用は報告されておらず、少なくとも通常の P2 受容体を介するものではないと考えられる。

Keywords : adenosine 5'-triphosphate, acetylcholine receptor channels, membrane current

Ohno, Y., Kaneko, T., Kobayasi, T.*¹, Inoue, T., Kuroiwa, Y.*², Yoshida, T.*², Momma, J., Hayasi, M., Akiyama, J.*¹, Atsumi, T.*¹, Chiba, K.*¹, Endou, T.*¹, Fujii, A.*¹, Kakishima, H.*¹, Kojima, H.*¹, Masamoto, Y.*¹, Masuda, M.*¹, Matsukawa, K.*¹, Ohkoshi, K.*¹, Okada, J.*¹, Sakamoto, K.*¹, Takano, K.*¹, Suzuki, T.*³ and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (1) Over view, organization, and results of the validation study**

Alternatives to Animal Testing and Experimentation, **3**, 123~136 (1995)

ドレイズ試験代替法として報告されている 12 種の方法について、化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、9 種の界面活性剤と陰性対照として生理食塩水を用いて施設間一次バリデーションを行った。被験物質はコード化したものを配布し、SOP の作成、担当者の教育および記録は GLP に準じて行った。本報告はそれらの結果をまとめ、方法間で比較したものである。その結果、1) 施設内および施設間のばらつきは溶血性試験における Tween 20 を除けば小さかった。2) Triton X-100 の細胞毒性は培養液中に血清を添加するか否かにより、他の物質との比較における順位に大きな差があった。3) HET-CAM-trypan blue 染色法および血清添加培養細胞法の結果はドレイズ試験結果とスコアの比較で相関係数 0.8 以上、順位の比較で 0.9 以上であった。4) 血清添加培養細胞法の結果はほとんど同様の結果を与えた ($r=0.92\sim 0.99$)。これらの結果は化粧品原料の評価において、代替法が有用である可能性を示したものであるが、さらに多くの物質を用いたバリデーションを行い個々の試験法の特徴を明らかにすることが必要であるとされた。

Keywords : validation, alternative methods, Draize eye irritation test

*¹ 日本化粧品工業連合会

*² 昭和大学

*³ 日本セイギ研究所

Hagino, S.*¹, Itagaki, H.*¹, Kinoshita, S.*¹, Tani, N.*¹, Nakamura, T.*¹, Ono, N.*¹, Konishi, K.*¹, Kojima, H.*¹, Ohno, Y. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (2) Evaluation of chor-**

ioallantoic membrane (CAM) tests

Alternatives to Animal Testing and Experimentation,
3, 137~145 (1995)

受精鶏卵漿尿膜 (CAM) を用いた試験法の化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、5施設の参加で行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。CAMの変化は肉眼観察法 (HET-CAM) とトリパンプルー染色法 (CAM-TB) で行った。その結果、1) 指導研究機関と他の施設との間の結果の順位相関係数は HET-CAM で 0.77~0.99、CAM-TB で 0.88~0.93 であった。2) HET-CAM の結果のドレイズスコアとの相関係数および順位相関係数はそれぞれ 0.75 および 0.94 であった。CAM-TB の場合はそれぞれ 0.95 および 0.91 であった。HET-CAM の結果は結膜の変化と、CAM-TB の結果は角膜の変化との対応が比較的良かった。

Keywords : validation, alternative methods, HET-CAM

*1 日本化粧品工業連合会

Okamoto, Y.*1, Ohkoshi, K.*1, Itagaki, H.*1, Hagino, S.*1, Inoue, K.*1, Shibata, M.*1, Kakishima, H.*1, Ogawa T.*1, Konishi, K.*1, Sakamoto, K.*1, Takino, Y.*1, Kanari, M.*1, Matsukawa, K.*1, Masuda, K.*1, Kojima H.*1, Chiba, K.*1, Makino, I.*1, Kaneko, T.*1, Hirose, A.*1, Ohno, Y. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (3) Evaluation of hemolysis test**

Alternatives to Animal Testing and Experimentation,
3, 146~153 (1995)

羊赤血球を用いた溶血試験法の、化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。被験物質の 50% 溶血濃度 (HC50) を求めドレイズスコアと比較した。9施設で得られた HC50 のばらつき (変動係数) の平均は 0.237 と小さかった。被験物質の内では Tween 80 のばらつきが相対的に大きかった。1/HC50 とドレイズスコアとの相関係数は 0.732 であった。

Keywords : validation, alternative test, hemolysis methods

*1 日本化粧品工業連合会

Itagaki, H.*1, Hayasi, T.*1, Kakishima, H.*1, Ogawa T.*1, Kotani, M.*1, Matsukawa, K.*1, Masuda, K.*1, Kojima, H.*1, Chiba, K.*1, Makino, I.*1, Sakamoto, K.*1, Takino, Y.*1, Kanari, M.*1, Kaneko, T., Hirose, A., Ohno, Y. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (4) Evaluation of hemoglobin denaturation (HD) test**

Alternatives to Animal Testing and Experimentation,
3, 154~161 (1995)

ヘモグロビン変性試験法の化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、9施設の参加により行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。ヘモグロビンの変性をマイクロプレートリーダーを用いた比色法により検討したところ、10%の変性を起こす被験物質濃度が施設により大きくばらついた。その理由について検討したところ、使用したフィルターの微妙な相違により、結果の施設間差が生ずることが明らかとなった。なお、ドレイズ試験結果との比較では多重相関係数が

0.846 であった。

Keywords : validation, alternative test, hemoglobin denaturation

*1 日本化粧品工業連合会

Kurishita, A.*1, Kato, T.*1, Furumoto, T.*1, Kaneko, T., Inoue, K.*1, Okamoto, Y.*1, Kojima, H.*1, Katagiri, M.*2, Ueda, H.*2, Ohno, Y. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (5) Evaluation of Skin2 dermal model ZK1100**

Alternatives to Animal Testing and Experimentation,
3, 162~167 (1995)

人工皮膚モデルである Skin 2 ZK 1100 法の化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、6施設の参加により行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。EC₅₀ 値の施設間のばらつきは水溶性の低い sodium hydrogenated tallow glutamate を除けば 0.3 以下であり、小さかった (変動係数の平均は 0.241)。ドレイズスコアとの比較では相関係数は -0.92 で、角膜や結膜の変化との相関が良かった。

Keywords : validation, alternative test, Skin2

*1 日本化粧品工業連合会

*2 オリエンタルイースト(株)

Kasai, Y.*1, Ohuchi, J.*1, Okada, J.*1, Suzuki, K.*1, Nakamura, T.*1, Ishibashi, T.*2, Hori, H.*2, Nishikawa, T.*2, Ohno, Y. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (6) Evaluation of MATREX**

Alternatives to Animal Testing and Experimentation,
3, 168~174 (1995)

三次元構造を持つ皮膚モデルである MATREXTM 法の化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、3施設の参加により行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。EC₅₀ 値の施設間のばらつき (変動係数) の平均は 0.220 と小さかった。一方、EC₅₀ とドレイズスコアとの相関係数は 0.633 と他の試験法と比較して低かったが、本試験法の特徴は水不溶性のものでも試験が可能な点にあり、それについては引き続き行われる第2次、3次バリデーションで検討する予定である。

Keywords : validation, alternative test, MATREX

*1 日本化粧品工業連合会

*2 東洋紡績(株)

Kojima, H.*1, Takino, Y.*1, Karari, M.*1, Sakamoto, K.*1, Miyai, E.*1, Akiyama, J.*1, Shibata, M.*1, Torishima, H.*2, Yamamoto, R.*2, Miyajima, A., Ohno, Y. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (7) Evaluation of cytotoxicity tests on primary rabbit corneal epithelial cells (CornePack)**

Alternatives to Animal Testing and Experimentation,
3, 175~181 (1995)

ウサギ角膜上皮より調製した正常細胞を用いた試験 (Corne Pack) 法の化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、6施設の参加により行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。

EC₅₀ 値の施設間のばらつきはの平均は 0.394 であった。また、ドレイズスコアとの相関係数は -0.619 で、順位相関係数は 0.846 であった。施設間のばらつきが他の培養細胞法と比較して相対的に大きかった理由として、一次培養の操作に原因があると考えられた。なお、作用発現濃度は他の試験法と比較してかなり低く、感度の高い方法であることが推察された。

Keywords : validation, alternative test, Corne Pack

*¹ 日本化粧品工業連合会

*² 倉敷紡績(株)

Itagaki, H.*¹, Sibata, M.*¹, Tani, N.*¹, Kinoshita, S.*¹, Kakishima, H.*¹, Seyama, Y.*¹, Ohuchi, J.*¹, Kasai, Y.*¹, Okada, J.*¹, Kojima, H.*¹, Okamoto, Y.*¹, Kotani, M.*¹, Ohno, Y., Miyajima, A. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (8) Evaluation of cytotoxicity tests on SIRC cells** *Alternatives to Animal Testing and Experimentation*, **3**, 182~190 (1995)

ウサギ角膜由来の細胞株 (SIRC) を用いた試験法の化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、6~7 施設の参加により行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。細胞毒性の指標としては crystal violet 染色法 (SIRC-CV) および neutral red 取り込み法 (SIRC-NR) をもちいた。EC₅₀ 値の施設間のばらつき (変動係数) の平均は SIRC-CV 法で 0.262, SIRC-NR 法で 0.304 と小さかった。これら 2 つの方法間の結果の相関は 0.996 と極めて高く、どちらの方法を用いても、ほとんど同じ結果となることが推定された。ドレイズスコアとの相関係数はそれぞれ -0.894 と -0.913 であった。

Keywords : validation, alternative test, SIRC

*¹ 日本化粧品工業連合会

Kojima, H.*¹, Ohuchi, J.*¹, Kasai, Y.*¹, Okada, J.*¹, Tukumo, K.*¹, Kakishima, H.*¹, Miyai, E.*¹, Akiyama, J.*¹, Okamoto, Y.*¹, Kotani, M.*¹, Inoue, K.*¹, Sibata, M.*¹, Okumura, H.*¹, Arashima, M.*¹, Atsumi, T.*¹, Makino, I.*¹, Chiba, K.*¹, Ohno, Y. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (9) Evaluation of cytotoxicity tests on HeLa and CHL/IU cells**

Alternatives to Animal Testing and Experimentation, **3**, 191~198 (1995)

は乳類由来の細胞株 (HeLa および CHL/IU) を用いた試験法の化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、7~8 施設の参加により行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。細胞毒性の指標として HeLa 細胞では MTT の還元法 (HeLa-MTT), CHL 細胞では crystal violet 染色法 (CHL-CV) を用いた。50%細胞毒性濃度 (EC₅₀) のばらつき (変動係数) は Triton X-100 を除けば 0.50 以下であり、その平均はいずれも 280 であった。ドレイズスコアとの相関係数は HeLa-MTT が -0.817, CHL-CV が -0.902 であった。EC₅₀ 値はどちらの方法でもそれほど相違は無かった。

Keywords : validation, alternative test, cultured cells

*¹ 日本化粧品工業連合会

Kakishima, H.*¹, Suzuki, K.*¹, Shima, Y.*¹, Matsu-

kawa, K.*¹, Masuda, K.*¹, Nakamura, T.*¹, Mizutani, A.*¹, Kaneko, T., Hirose, A., Shingai, T.*², Ohno, Y. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (10) Evaluation of Eytex method** *Alternatives to Animal Testing and Experimentation*, **3**, 199~209 (1995)

蛋白質の変性を原理とする非生物試験法 EYTEX 法の化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、5 施設の参加により行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。Sodium hydrogenated tallow glutamate と polyoxyethylene octylphenyl-ether (10 E.O.) は EYTEX 試験での反応を阻害した。それ以外の被験物質ではばらつきは小さく、変動係数の平均は 0.186 であった。ドレイズスコアとの対応では結膜評価点との相関が高く、0.884 であった。一方、総評価点との相関係数は 0.710 であった。

Keywords : validation, alternative test, EYTEX

*¹ 日本化粧品工業連合会

*² *In Vitro* International, Ltd.

Sakamoto, K.*¹, Kirita, S.*¹, Baba, T.*¹, Nakamura, Y.*¹, Yamazoe, Y.*², Kato, R.*², Takanaka, A. and Matsubara, T.*¹: **A new cytochrome P450 form belonging to the CYP2D in dog liver microsomes: Purification, cDNA cloning, and enzyme characterization**

Arch. Biochem. Biophys., **319**, 372~382 (1995)

未処置のイヌより新しい型の P450 分子種 (P450 DUT2) を精製した。比活性は 19.1 nmol P450/mg protein で SDS-PAGE で 1 バンドで、分子量は約 50000 であった。これらは HPLC で二つのバンド (P450 DUT2a と P450 DUT2b) に分かれた。これらの N 末端のアミノ酸配列は同一であったが、P450 DUT2b では 3 つのアミノ酸が欠けていた。これらの cDNA の全塩基配列を決定した。また、COS-7 細胞で活性を有する酵素の発現に成功した。

Keywords : P450, purification, cloning

*¹ 塩野義製薬(株)

*² 慶応大学

Uchida, K.*¹, Nagai, S.*¹, Shimada, K.*¹, Ohno, Y. and Kamikawa, Y.*¹: **Autonomic innervation and reactivity of the human isolated segmental bronchi *in vitro***

Dokkyo J. Med. Sci., **22**, 179~185 (1995)

ヒトから摘出した区域気管支条片を用い、電気刺激により誘発される神経応答および収縮反応を検討した。電気刺激により誘発される収縮の大きさは刺激頻度に依存しており、アトロピンあるいはテトロドトキシンで抑制された。電気刺激は NO 合成酵素阻害剤である nitro arginine methylester で抑制され、L-arginine 添加で回復する弛緩反応も誘発した。一方、気管支は acetylcholine, carbachol, histamine および neurokinin A により収縮したが、substance P では収縮しなかった。収縮を起こした薬物の中では carbachol が最も作用が強かった。これらの結果から、ヒトの気管支は主に興奮性のコリン作動性神経により支配されており、一部抑制性の NO 含有神経に支配されているものと思われた。

Keywords : human tissue, bronchi, innervation

*¹ 獨協大学

Tsuda, M., Kurashima, Y.*¹, Kosaka, H.*², Ohshima, H.*³, Sugimura, T.*⁴ and Esumi, H.*¹: **Marked increase in urinary excretion of nitrate and N-nitrosothioproline in the osteogenic disordered syndrome rats, lacking ascorbic acid biosynthesis, by administration of lipopolysaccharide and thioproline** *Carcinogenesis*, **16**, 2653~2657 (1995)

アスコルビン酸合成能を欠損したラット (ODS ラット) を用いて、リポ多糖 (LPS) およびチオプロリンを腹腔内投与した際の体内一酸化窒素 (NO) 産生ならびに体内ニトロ化反応に対するアスコルビン酸の役割について検討した。アスコルビン酸が枯渇した壊血病状態の ODS ラットでは、アスコルビン酸を十分に与えた ODS ラットに比して LPS 刺激による尿中への硝酸塩排泄量は有意に増加することから、NO 産生が増加していることを示した。この尿中硝酸塩排泄量は一酸化窒素合成酵素の阻害剤である Ng-monomethyl-L-arginine の投与により減少したことから、アルギニン由来の NO 生成であると結論した。また非経口的に投与したチオプロリンの体内ニトロ化が LPS 投与により増加することから、胃 (酸性) 以外の生体部位でのニトロ化合物生成の可能性を示した。アスコルビン酸枯渇 ODS ラットではニトロ化合物産生能も高かった。アスコルビン酸による NO の安定化が体内ニトロ化反応を抑制に寄与していると説明した。

Keywords : endogenous NO formation, osteogenic disordered syndrome rats, endogenous nitrosation

*¹ 国立がんセンター東研究所

*² 大阪大学医学部

*³ 国際癌研究機関

*⁴ 東邦大学医学部

Uneyama, C., Imazawa, T., Uneyama, H.*¹, Akaike, N.*², Kawanishi, T. and Takahashi, M.: **Not Ca²⁺ but cAMP is the second messenger for morphological changes in rat megakaryocyte** *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **211**, 282~288 (1995)

ラット巨核球の ATP および thrombin 応答を、nystatin-perforated whole-cell patch clamp 法による細胞内カルシウム濃度の変化、蛍光分光法によるセロトニンの放出、走査型電子顕微鏡による形態変化、の各項目で比較した。ATP も thrombin も巨核球に細胞内カルシウム濃度のオシレーションを誘発するが、セロトニンの放出と形態変化は thrombin でのみ観察された。さらに thrombin によるセロトニン放出が adenylate cyclase 活性化剤 forskolin で抑制されること、cAMP 依存性キナーゼ阻害剤 H-8 が thrombin に類似の形態変化を誘発することなどから、セロトニン放出や形態変化に関与するのは cAMP であることが示唆された。

Keywords : megakaryocytes, ATP, thrombin

* 九州大学医学部

Uneyama, C., Uneyama, H.*¹, Takahashi, M. and Akaike, N.*²: **Pharmacological studies on mechanisms involved in Ca²⁺ oscillations in rat megakaryocytes** *Eur. J. Pharmacol.*, **291**, 381~386 (1995)

ラット巨核球に細胞外から ATP を投与したときに誘発される細胞内カルシウム濃度の周期的変化 (カルシウムオシレーション) の調節機構について、カルシウムポンプの活性化の観点から解析した。巨核球の細胞内カルシウム濃度を減少させるのに関与するカルシウムポンプには、リン酸化に影響する薬剤への感受性から protein kinase C

(PKC) と protein kinase A (PKA) に感受性のものと、Ca²⁺/calmodulin に感受性のものとの二つのグループに分けられることを見いだした。PKC と PKA の作用は相補的で、PKC (A) の阻害は PKA (C) の活性化で補完できるが、calmodulin 拮抗薬の作用は PKC/A の活性化では補完できない。さらにこれらリン酸化調節薬をすべて使っても、cyclopiazonic acid で見られるような細胞内カルシウム濃度の上昇は見られないことから、こうしたリン酸化に影響されないタイプのカルシウムポンプも存在することが示唆された。

Keywords : megakaryocytes, Ca²⁺-pump, protein kinase C

* 九州大学医学部

Ogasawara, H., Imaida, K., Ishiwata, H., Toyoda, K., Kawanishi, T., Uneyama, C., Hayashi, S., Takahashi, M. and Hayashi, Y.: **Urinary bladder carcinogenesis induced by melamine in F344 male rats: correlation between carcinogenicity and urolith formation** *Carcinogenesis*, **16**(11), 2773~2777 (1995)

食塩投与に伴う飲水量の増加によって尿の排泄量が増加し、尿路系の結石形成が抑制されることが知られている。今回、メラミン投与によって認められるラットの膀胱腫瘍発生と膀胱結石形成との因果関係を調べる目的で、メラミンと食塩を同時に投与し、結石形成の抑制による膀胱腫瘍発生率への影響について調べた。動物は F344/DuCrj 系雄ラットを用い、3%あるいは1%のメラミン含有食を投与する群、それぞれの濃度のメラミン含有食に10%あるいは5%の割合で食塩を混じて投与する群、10%の食塩含有食を投与する群、および基礎食のみを投与する群の計8群を設けた。投与期間は36週間とし、その後全群を基礎食に戻してさらに4週間飼育した。投与期間中、食塩を投与した群では食塩の投与濃度に相関して飲水量の増加がみられた。メラミン投与群における膀胱結石の形成率は同時投与した食塩の濃度に相関して低下した。膀胱の移行上皮癌と乳頭癌の発生率はそれぞれ3%メラミン投与群で90%と55%、3%メラミン+5%食塩投与群で90%と25%、3%メラミン+10%食塩投与群で0%と15%、1%メラミン投与群で21%と42%、その他の群ではいずれも0%であり、食塩の同時投与によって膀胱腫瘍の発生が抑制されることが明らかとなった。その他、腎盂移行上皮の過形成病変の発生率も同時投与した食塩の濃度に相関して低下した。また、得られた膀胱結石を分析した結果、結石の主成分はメラミンと尿酸であり、メラミンの含量が26.3~35.9%、尿酸の含量が34.8~45.3%であった。以上の結果から、メラミン投与によるラットの尿路系上皮の増殖性病変発生の要因がメラミンの化学的な直接作用ではなく結石の物理的刺激による二次的な作用であること、また、形成された膀胱結石の主成分がメラミンと尿酸の塩であることが示唆された。

Keywords : melamine, urinary bladder carcinogenesis, urolith

Takayama, S.*¹, Akaike, M.*², Kawashima, K., Takahashi, M. and Kurokawa, Y.: **A collaborative study in Japan on optimal treatment period and parameters for detection of male fertility disorders induced by drugs in rats**

J. Am. Coll. Toxicology, **14**(4), 266~292 (1995)

雄投精能を評価するための適切な検索項目と投与期間を明らかにする目的で、16社の製薬企業を中心とした研究所の研究者の協力により実験が行われた。

動物は主にSDラットを用い、使用薬物は抗癌剤、抗精神薬、抗痲呆薬、ホルモン、ビタミン、抗高血圧薬、利尿薬、その他で、すでに精巣あるいは精子に対し毒性があることが知られている物質が選ばれた。投薬期間は主として4週間とし、そのほか2週間や、6あるいは9週間の処置が選ばれた。その結果、4週間投与により雄性生殖能の障害が把握できることが明らかとなり、さらに、9週間まで投与を継続すると障害が増強される薬物が多いことが判明した。特に、精巣および副生殖腺の病理組織学的検索を適正に実施することにより、雄性生殖能の障害を把握できることが明らかとなった。さらに精子検査、雄性生殖器重量測定、授精能を評価することにより障害をより詳細に評価することができる。

Keywords : male fertility, testicular toxicity, reproductive toxicity

* 製薬協

Takayama, S.*, Akaike, M.*, Kawashima, K., Takahashi, M. and Kurokawa, Y.: **Studies on the optimal treatment period and parameters for detection of male fertility disorder in rats**

J. Toxicol. Sci., 20(3), 173~182 (1995)

16社の製薬企業を中心とした研究所の研究者の協力により、雄授精能を評価するための適切な検索項目と投与期間を明らかにする目的で実験が行われた。

動物は主にSDラットを用い、使用薬物は抗癌剤、抗精神薬、抗痲呆薬、ホルモン、ビタミン、抗高血圧薬、利尿薬、その他である。用いられた化合物はアドリアマイシン、 α クロロヒドリン、化合物C、化合物E、化合物T、サイクロフォスファミド、エストラジオールベンゾエート、エチニルエストラジオール、エトレチネート、ハロペリドール、ネフィラセタム、ニトラゼパム、ニトロフラゾン、ピロドキシン、レセルピンで、投薬期間は主として4週間とし、そのほか2週間や、6あるいは9週間の処置が選ばれた。その結果、4週間投与により雄性生殖能の障害が把握できることが明らかとなった。さらに、9週間まで投与を継続すると障害が増強される薬物が多い。特に、精巣および副生殖腺の病理組織学的検索を適正に実施することにより、雄性生殖能の障害を把握できることが明らかとなったほか、精子検査、雄性生殖器重量測定、授精能を評価することにより障害をより詳細に評価することができる。

Keywords : male fertility, testicular toxicity, reproductive toxicity

* 製薬協

Mitsumori, K., Onodera, H., Takahashi, M.*¹, Shimo, T., Yasuhara, K., Kitaura, K.*², Takahashi, M. and Hayashi, Y.: **Effect of thyroid stimulating hormone on the development and progression of rat thyroid follicular cell tumors**

Cancer Lett., 92, 193~202 (1995)

N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN) 2800 mg/kgを単回皮下投与したF344ラットにsulfadimethoxine (SM)を0.1%の濃度で16週間飲水投与し、その後4週間の回復期間を設け、甲状腺の過形成病変および腫瘍性病変の細胞増殖活性ならびに血中の甲状腺関連ホルモンを経時的に検索した。血清中の甲状腺刺激ホルモン(TSH)値はSM投与開始1週後から増加して8週後に最高値に達し、その後次第に低下したものの16週後まで対照群に比べて有意に高かった。甲状腺のろ胞上皮細胞の過形成および腺腫が4週後から、癌は8週後から発生した。

投与の初期においては高いTSH値に一致してこれらの病変の細胞増殖活性も高かったが、過形成および腺腫の細胞増殖活性はSMの投与期間が延びるにしたがって急速に低下した。回復期間の後、血清中TSH値は正常値以下に復帰し、過形成および腺腫の細胞増殖活性も非常に低下した。浸潤性の増殖を示す癌にも細胞増殖活性が顕著に低下したものがあつた。これらの結果から、甲状腺腫瘍発生の早期においては血清TSH値の高値が重要な役割を果たすが、浸潤性増殖を示す腫瘍のなかにもTSH刺激に依存性のものもあることが示唆された。

Keywords : thyroid carcinogenesis, sulfadimethoxine, thyroid stimulating hormone

*¹ 佐々木研究所病理

*² 大塚製薬徳島研究所

Yasuhara, K., Mitsumori, K., Yoshimura, H., Imazawa, T., Hayashi, S.*, Onodera, H., Takahashi, M. and Hayashi, Y.: **Relationship between the development of pulmonary fibrosis and lung tumors in Syrian golden hamsters induced by N-methyl-N-nitrosourea**

Toxicologic Pathology, 23, 551~559 (1995)

肺線維症に合併する肺癌の組織発生を解明する目的で、ハムスターにN-methyl-N-nitrosourea (MNUR) 0.6 mg/kgを隔週1回、計5回、背部皮下に投与後26週間無処置のまま飼育、途中経時的に剖検し、誘発肺増殖性病変について組織学的に検索すると共に、細胞増殖能について検索した。MNUR投与により間質性肺炎が発現し、4週以後、肺胞壁には膠原線維の増生がみられると共に、呼吸上皮由来の腫瘍および過形成性病変が誘発された。腫瘍は細気管支肺胞上皮腫瘍と診断され、形態学的に好塩基性細胞、明細胞あるいは異型大型細胞から成る乳頭状腫瘍の3タイプに分類された。細胞増殖活性は異型大型細胞から成る腫瘍が最も高く、出現頻度は好塩基性細胞から成る腫瘍が最も多く認められた。過形成性病変は、腺上皮化生、単純あるいは乳頭状過形成の3タイプに分類され、腺上皮化生が最も多く認められたが、細胞増殖活性では乳頭状過形成において陽性細胞が多く認められた。

以上のことより乳頭状過形成が前腫瘍性病変の可能性が示唆されたが、慢性炎症に伴う線維化巣に必ずしも随伴するものではなかった。

Keywords : carcinogenesis, histopathology, immunohistochemistry

* 武田薬品・薬安研

Hayashi, S., Mitsumori, K., Imaida, K., Imazawa, T., Yasuhara, K., Uneyama, C. and Hayashi, Y.: **Establishment of an animal model for pulmonary fibrosis in mice using monocrotaline**

Toxicologic Pathology, 23, 63~71 (1995)

ヒト肺線維症の実験モデルとして有用なものが少ないことから、肺線維症実験モデル作成を計画、その予備実験として雄マウスに200あるいは100 mg/kgのモノクロタリン(MC)を週1回、15週間背部皮下に投与し、検索した結果、200 mg/kg群は激しい間質性肺炎のために実験途中で全例が死亡したが、100 mg/kg群では軽度な肺病変が観察された。以上の結果を基に6週齢の雄マウスに200あるいは100 mg/kgのMCを週1回、9あるいは18週間投与し、その後無処置で飼育、実験開始28週目に屠殺、剖検し、検索した。また、実験開始8, 19, 25週目に一部の動物を検索した。200 mg/kg群の動物は激しい間質

性肺炎のために25週目までに全例が死亡した。100 mg/kg 群では28週目で27.5%の動物が生存し、組織学的に著しい間質性肺炎と肺の線維化が観察された。今回の実験より、MC投与により生じた肺障害は不可逆的な肺線維症に移行し、この動物モデルは肺線維症と肺がんとの病因を解明する上で有用であると考えられた。

Keywords : pyrrolizine alkaloid, diffuse alveolar damage, interstitial pneumonia

Matsui, H., Mitsumori, K., Yasuhara, K., Onodera, H., Shimo, T. and Takahashi, M.: **Morphological evaluation of cyclophosphamide testicular toxicity in rats using quantitative morphometry of spermatogenic cycle stages**

J. Toxicol. Sci., 20, 407~414 (1995)

抗腫瘍剤であるcyclophosphamide (CP) は精祖細胞の分裂を抑制することにより精巣毒性を引き起こすとされている。しかし、ライディヒ細胞およびセルトリ細胞には障害を及ぼさないことから、毒性変化を形態学的に把握することは困難なことが多い。そこで性成熟に達した9週齢の雄性SD系ラットに第1群ではCP 100 mg/kgを単回経口投与、第2群にはCP 100 mg/kgを2日間、その後50 mg/kgを3日間、計5日間経口投与し、第1群では投与後1, 7, 14, 21日目に、第2群では最終投与後1, 4日目に動物を屠殺、精巣を摘出しブアン液で固定、パラフィン切片を作成した。H-EおよびPAS染色を施し、各動物ともステージII, V, VII, XIIの4つのステージにつき精細胞数を計測、定量的に評価した。第1群では、7日目にプレレプトテン期精母細胞(PI)の減少が、14日目にはPIおよびザイゴテン期精母細胞、21日目にはパキテン期精母細胞の減少が認められた。第2群では、最終投与後1日目から精祖細胞の減少が認められた。以上のことから今回実施した精子形成サイクルの4つのステージを計測することにより、単回投与においても7日目より明かな障害性変化が検出できた。また、反復投与を行い、ステージ解析を行うことにより、より明瞭に精巣毒性を評価できることが示された。

Keywords : testicular toxicity, quantitative morphometry, spermatogenic cycle stage

Shimo, T.*¹, Mitsumori, K., Onodera, H., Takahashi, M.*², Ueno, Y.*³, Saito, A.*¹, Aoki, Y.*¹ and Takahashi, M.: **Enhancement of rat thyroid proliferative lesion development by step-wise increasing dose treatment with sulfadimethoxine**

J. Toxicol. Pathol., 8, 417~426 (1995)

甲状腺増殖性病変の発生が抗甲状腺物質の連続投与と比べ漸増投与によって亢進するか否かを検討するために、DHPN (2800 mg/kg, 単回皮下投与) でイニシエーション処置した雄ラットに0.1% sulfadimethoxine (SM) を20週間飲水投与する第1群、SMの0.025, 0.05および0.1%をそれぞれ8, 4および4週間飲水投与する第2群、SMの0.025, 0.05, 0.1および0.2%をそれぞれ8, 4, 4および4週間飲水投与する第3群および20週間無処置で飼育する第4群を設定した。第3群の甲状腺重量は第1群と比べて有意に増加した。3処置群の血清T3およびT4値は第4群と比べて有意に減少し、第3群の血清T4値は第1群と比べても有意に低値を示した。3処置群の血清TSH値は第4群と比較して著明に増加し、第2および第3群では第1群と比べて有意に高かった。第2および第3群の濾胞上皮過形成および第3群の腺管状腫瘍の発生個数は

第1群と比べ有意に増加し、前2者の群では濾胞上皮、過形成および腺管状腫瘍の細胞増殖活性も有意に高かった。以上の結果より、SMの漸増投与により甲状腺増殖性病変の発生が亢進することが示され、漸増投与法はラット甲状腺二段階発癌モデルにおいて腫瘍プロモーター検出に非常に有用であると考えられた。

Keywords : step-wise increasing dose treatment, thyroid tumorigenesis, sulfadimethoxine

*¹ 北陸製薬中央研究所

*² 佐々木研究所病理

*³ 東京大学薬学部

Shimo, T.*¹, Mitsumori, K., Onodera, H., Takahashi, M.*², Ueno, Y.*³, Katayama, J.*¹, Saito, A.*¹ and Takahashi, M.: **Effect of rat thyroid proliferative lesion development by intermittent treatment with sulfadimethoxine**

Cancer Lett., 96, 209~218 (1995)

甲状腺増殖性病変の発生が抗甲状腺物質の連続投与と比べ間欠投与によって亢進するか否かを検討するために、N-bis(2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN, 2800 mg/kg, 単回皮下投与) でイニシエーション処置した雄のF344ラットに0.1% sulfadimethoxine (SM) を20週間飲水投与する第1群、0.1% SMで最初8週間飲水投与し、その後2週間休薬と0.1% SMの4週間再投与を2回反復処置する第2群を設定した。さらに、DHPN処置後20週間にわたり無処置とする第3群を設定した。第1および第2群の血清T3およびT4値は第3群と比べて有意に減少し、一方これらの投与群の血清TSH値は第3群と比べて著明に増加した。第2群の濾胞上皮過形成の発生個数および濾胞上皮ならびに過形成の細胞増殖活性は第1群と比べて有意に増加した。下垂体前葉の電顕検査において、第1および第2群のTSH産生細胞に電子密度の高い顆粒を含む粗面小胞体の拡張が認められた。第2群の細胞質内分泌顆粒数は第1群と比べて中等度に減少した。以上の結果より、SMの間欠投与により甲状腺腫瘍性病変の発生が亢進する可能性が示唆された。

Keywords : thyroid tumorigenesis, intermittent treatment, sulfadimethoxine

*¹ 北陸製薬中央研究所

*² 佐々木研究所病理

*³ 東京大学薬学部

Imazawa, T., Nishikawa, A., Tada, M.*¹, Takahashi, M. and Hayashi, Y.: **Nucleolar segregation as an early marker for DNA damage; an experimental study in rats treated with 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide**

Virchows Archiv, 426, 295~300 (1995)

4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide (4HAQO) は強力な発癌物質で、げっ歯類に投与すると脾臓、皮膚、肺等に腫瘍を誘発することが知られている。本研究では、4HAQOによる毒性の早期の生物学的指標としての核小体分離を追求する目的で、標的および非標的臓器について、超微形態学的に核小体分離および4HAQO-DNA付加体形成について経時的に検索した。

核小体分離の出現率は脾臓細胞では投与6時間後で、副腎皮質細胞では4時間後で最も高く、その後両細胞とも漸次減少した。

4HAQO-DNA付加体形成は、核小体分離のみられた脾臓細胞および副腎皮質細胞に認められ、両細胞とも陽性率が

投与4時間後に最高値を示した。また、電顕的に脾臓房細胞にアポトーシスが観察された。以上のことから、4HAQOの発癌性を含めた毒性発現について、核小体分離とDNA付加体形成の標的細胞が同一であることが判明した。核小体分離はDNA損傷の後に生じる可能性が示され、毒性物質が標的細胞のDNAに作用したことの形態学的証拠となりうることを示唆された。

Keywords: nucleolar segregation, 4-Hydroxyaminoquinoline 1-oxide, apoptosis

* 愛知がんセンター

Nishikawa, A., Furukawa, F., Imazawa, T., Ikezaki, S., Hasegawa, T.* and Takahashi, M.: **Effects of caffeine on glandular stomach carcinogenesis induced in rats by *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine and sodium chloride**

Fd. Chem. Toxic., **33**, 21~26 (1995)

ウィスター系雄ラットに *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) を 100 ppm の濃度で飲水中に混じ、同時に NaCl を 5% の混餌として 8 週間投与した。その後 4 群に分け、第 1 群には 5% NaCl 混餌食と 0.25% カフェイン溶液を 32 週間にわたり与えた。第 2 群および第 3 群には、それぞれ NaCl 混餌食およびカフェイン溶液のみを同様に投与し、第 4 群には基礎食と水道水を与えた。その結果、幽門部腺癌の発生率は、第 2 群に比し第 1 群で有意に減少した ($p < 0.05$)。また、5 週間の短期試験において、NaCl 摂取によるラット腺胃粘膜の脂質過酸化亢進がカフェインの併用投与で抑制された。これら成績は、カフェインが NaCl のプロモーション活性に対し抑制的に作用することを示唆する。

Keywords: caffeine, gastric cancer, rat

* 佐賀医大

Nishikawa, A., Furukawa, F., Imazawa, T., Ikezaki, S., Otsoshi, T., Fukushima, S.* and Takahashi, M.: **Cell proliferation in lung fibrosis associated hyperplastic lesions**

Human & Experimental Toxicology, **14**, 701~705 (1995)

肺線維症に随伴する細気管支肺胞領域の上皮過形成性病変を核小体形成体部位関連蛋白 (AgNORs) および増殖細胞核抗原 (PCNA) の組織化学により検索した。プレオマイシン投与肺 5 例或は放射線照射肺 14 例の剖検肺を、肺線維症のない対照肺 6 例および肺扁平上皮癌 4 例と比較した。プレオマイシン例、放射線照射例ともに、異型的な細気管支肺胞上皮過形成および扁平上皮化生における平均 AgNORs 数は、対照肺の細気管支肺胞上皮に比して有意に増加していた。しかし、扁平上皮癌と比較するとその数は有意に少なかった。PCNA の成績は、AgNORs の結果に一致するものであった。以上より、肺の線維化過程に出現する細気管支肺胞領域の異型の過形成性病変は、肺癌に準ずる高い増殖活性を有することが示唆された。

Keywords: lung fibrosis, AgNOR, PCNA

* 大阪市大医学部

Mori, Y.*¹, Iimura, K.*¹, Furukawa, F., Nishikawa, A., Takahashi, M. and Konishi, Y.*²: **Effect of cigarette smoke on the mutagenic activation of various carcinogens in hamster**

Mutat. Res., **346**, 1~8 (1995)

雄性ハムスターにハンブルグ II 型喫煙装置にて 30 本の

タバコの煙を 9 分間、1 日 2 回 (5 日/週) 曝露し、肝の S₉ を調製した。また、フェノバルビタール (PB) あるいは 3-メチルコラントレン (MC) を処置した肝 S₉ も調製した。TA98 菌株と TA100 菌株を用いて、ヘテロサイクリックアミン、ニトロサミン、芳香族炭化水素および芳香族アミンの変異原活性への影響について検索した。ニトロサミンの変異原性は PB により、その他は MC により選択的に誘導された。喫煙曝露した肝 S₉ は、ヘテロサイクリックアミンの TA98 株に対する変異原活性のみを誘導した。以上より、喫煙曝露はハムスター肝において CYP1A1/1A2 を選択的に誘導することが示唆された。

Keywords: cigarette smoke, mutagenicity, hamster

*¹ 岐阜薬大

*² 奈良医大がんセンター

Enami, T., Nishikawa, A., Furukawa, F., Mitsui, M., Yoshimura, H., Takahashi, M. and Fukushima, S.*: **Protective effects of butylated hydroxyanisole against bleomycin induced diffuse alveolar damage in hamsters**

J. Toxicol. Pathol., **8**, 7~14 (1995)

雄性ハムスターにプレオマイシン (5 mg/kg) を経気管投与後、butylated hydroxyanisole (BHA) あるいは butylated hydroxytoluene (BHT) を 1% の濃度で 31 日間にわたり混餌投与した。その結果、BHA 投与群の生存率はプレオマイシン単独群に比し有意に高かった。病理組織学的に、プレオマイシン単独群の死亡例には強い肺の水腫および出血が観察されたが、BHA の投与はこれらの変化を著明に軽減し、肺の再生過程を促進する傾向がみられた。また、BHA 投与群の生存例では、肺気腫性変化がより軽度であった。一方、BHT は顕著な影響を示さなかった。以上より、BHA はプレオマイシンによる急性肺胞障害の発生に対し抑制的に作用することが明らかとなった。

Keywords: BHA, alveolar damage, hamster

* 大阪市大医学部

Nishikawa, A., Furukawa, F., Mitsui, M., Enami, T., Imazawa, T., Ikezaki, S. and Takahashi, M.: **Dose-dependent promotion effects of potassium chloride on glandular stomach carcinogenesis in rats after initiation with *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine and the synergistic influence with sodium chloride**

Cancer Res., **55**, 5238~5241 (1995)

ラットの二段階胃発癌モデルを用いて、塩化カリウムの修飾作用を検索した。6 週齢のウィスター系雄ラットに *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) を 100 ppm の濃度で 10 週間にわたり飲水投与後、塩化カリウムあるいは塩化ナトリウムを 2.5% および 5% の濃度で、また両物質を各 2.5% の濃度で混合し、62 週間混餌投与した。その結果、腺胃における異型的上皮過形成巣の動物あたりの平均個数は、塩化カリウムおよび塩化ナトリウムの併用投与により用量相関性の有意な増加を示した。また、幽門部における腺癌の発生頻度は、塩化カリウムと塩化ナトリウムの同時投与群のみで有意に増加した。

Keywords: KCl, NaCl, stomach cancer

池崎信一郎, 古川文夫, 黒川典子, 塚田道子, 三浦絵美, 西川秋佳: **ApopTagTM in situ アポトーシス検出キットの検討**

実験病理組織技術研究会誌, **4**, 23~26 (1995)

DNA断片化を組織切片上で検出する方法としてTUNEL法があり、アポトーシスの同定に利用されている。このTUNEL法を応用したアポプ・タグ *in situ* アポトーシス検出用キットを用い、BOPにより誘発した肝細胞腺腫の切片における染色性について検討した。腺腫組織には慢性に陽性細胞が散見され、また周囲組織の肝内胆管上皮細胞にも陽性細胞が認められた。胆管上皮細胞はアポトーシスの形態学的特徴が認められないのに陽性を示し、DNAの断片化を標識している可能性が考えられた。本キットは、組織切片上でDNAの断片化の確認およびその程度の定量などを簡便に検討できる点で有用と考えられた。

Keywords : ApopTag, TUNEL method, hamster

Kim, H.-C.*, Lee, Y.-S.*, Furukawa, F., Nishikawa, A. and Takahashi, M.: **Enhancement of GST-P positive liver foci development by medium-term carcinogenicity bioassay using repeated administration of D-galactosamine**

Cancer Letters, 98, 71~76 (1995)

この研究は、肝部分切除をしないで、それに代わりD-ガラクトサミン (DGA) を用いた新しい中期発癌性検索モデルを開発する目的で行った。雄 F344 ラットに DEN を投与し、DGA を3週間後に投与した。DGA の影響を高めるために合計2回投与し、2-AAP はプロモーション段階に混餌で投与した。一方のモデルは、同様に DEN を投与後、肝部分切除し、2-AAP を投与した。両モデルを肝の GST-P 陽性細胞数を指標に単位面積当たりの陽性細胞面積、個数で比較検討した。その結果、PH 群は体重の増加抑制が認められたのに対して、DGA 処置群は影響を及ぼさなかった。両方のモデルは肝に対して強い発癌性を示す 2-AAF に対して効果的だったが、特に、単位面積当たりの GST-P 陽性細胞数と面積は PH モデルに比し、DGA のモデルは鋭敏であった。PH より DAG のモデルは、多数の環境化学物質の発癌性を検索するには有用であり、また鋭敏であることが示唆された。

Keywords : medium-term bioassay, GST-P, D-galactosamine

* Korea Research Institute of Chemical Technology

Suzuki, T., Hayashi, M., Myhr, B.* and Sofuni, T.: **Diethylnitrosamine is mutagenic in liver but not in bone marrow of lacZ transgenic mice (Muta™ Mouse)**

MMS Commun., 3, 33~39 (1995)

Diethylnitrosamine (DEN) は強い肝発がん物質であるが、マウスを用いる変異原性試験では陰性を示す化合物として知られている。これは、小核試験には一般に血液系の細胞を材料とするため、肝臓で代謝され活性体となる DEN の変異原性が検出できないためと考えられる。In vivo において遺伝子突然変異を検出可能なトランスジェニックマウスを用いる変異原性試験は、すべての臓器が解析の対象とできるため、肝臓での DEN の変異原性の検出には適している。今回は、標的遺伝子として大腸菌の lacZ 遺伝子を導入した Muta Mouse を用い、DEN 投与後の肝臓と骨髄における lacZ 遺伝子の変異頻度を解析した。また同時に末梢血を用いる小核試験を行い染色体異常誘発性についても比較した。その結果、肝臓における変異頻度は DEN 投与により 3~5 倍に上昇したが、骨髄に於いては全く変化が見られなかった。また、小核試験においては、過去の報告と同様に陰性の結果が得られた。これらの結果から、トランスジェニックマウスを用いる変異原性

試験により、DEN の肝臓特異的な変異原性が検出でき、発がんの臓器特異性の予測にも役立つ系であることが示唆された。また、小核試験と組み合わせることにより、in vivo での変異原性試験としてより有効な試験系となりうると考えられる。

Keywords : DEN, transgenic mouse, lacZ mutation

* Corning Hazleton

Ushijima, T.*, Hosoya, Y.*, Suzuki, T., Sofuni, T., Sugimura, T.* and Nagao, M.*: **A rapid method for detection of mutations in the lacI gene using PCR-single strand conformation polymorphism analysis: demonstration of its high sensitivity**

Mutation Res., 334, 283~292 (1995)

lacI トランスジェニックマウス (BigBlue®) 用いた変異原性試験法により得られた変異 lacI 遺伝子の迅速な塩基配列解析のために、PCR-single strand conformation polymorphism (SSCP) 法を利用した。lacI 遺伝子の全長は約 1 Kb であるがこの全長を PCR にて増幅後、制限酵素処理により 8 つの断片とした。これを一本鎖とした後、アクリルアミドゲル電気泳動し、バンドの位置の変化により変異を含む断片を特定した (SSCP 解析)。その後変異断片をカバーするプライマーにより sequencing を行い、変異を同定した。この手法を使って、160 個の変異体について解析を行ったところ、標準条件 (0% glycerol, 20°C) の SSCP 解析で 146 個の変異について同定できた。さらに、泳動条件を変えることにより、残りの 8 個 (5% glycerol, 20°C)、および 6 個 (5% glycerol, 10°C) の変異が同定され、すべての変異体について塩基配列変化を決定できた。この結果は、PCR-SSCP 法が 250 bp 以下の変異断片の特定に非常に有効であることを示しており、トランスジェニックマウスを用いる変異原性試験により得られた変異体の解析に有用であることを示した。

Keywords : PCR-SSCP, DNA sequence, lacI mutation

* 国立がんセンター研究所

Ono, T.*, Miyamura, Y.*, Ikehata, H.*, Yamanaka, H.*, Kurishita, A.*, Yamamoto, K.*, Suzuki, T., Nohmi, T., Hayashi, M. and Sofuni, T.: **Spontaneous mutant frequency of lacZ gene in spleen of transgenic mouse increases with age**

Mutation Res., 334, 183~188 (1995)

老化のメカニズムを説明する際、体細胞における突然変異の蓄積が原因となっているとする“体細胞突然変異説”は、発がんとの関連においても注目されている。この体細胞における遺伝子突然変異が加齢とともに蓄積するかどうかを調べるモデルとして、トランスジェニックマウスを用いる変異原性試験は大変有用だと考えられる。我々は、lacZ 遺伝子を突然変異検出のためのマーカーとして組み込んだトランスジェニックマウスである Muta Mouse を用い、その脾臓における自然突然変異頻度の経時変化を解析した。その結果、新生児における lacZ 遺伝子の変異頻度が 3.2×10^{-5} であったのに対し、マウスの加齢に伴ってその頻度は直線的に上昇し、12 ヶ月齢では 8.3×10^{-5} となった。導入遺伝子はマウス体内では発現せず、その突然変異はマウス体内で選択を受けないと考えられることより、自然突然変異は加齢のプロセスにおいて常に起きており、老化とともにその蓄積がおこることを今回の結果は支持するものである。

Keywords : aging, transgenic mouse, lacZ mutation

* 東北大学

Suzuki, T., Hayashi, M., Honma, M. and Sofuni, T.: **Micronucleus induction by monocrotaline in mouse peripheral blood**

MMS Commun., **3**, 81~85 (1995)

ピロリジン骨格を有する植物アルカロイドであるモノクロタリンは、アルキル化能を有し、動物に対する発がん性を示すことより IARC により Group 2B の発がん物質として分類されている。この化合物の *in vivo* における変異原性評価のため、マウス末梢血を用いた小核試験を行った。雄 ICR マウスにモノクロタリン (25~200 mg/kg) を腹腔内投与し、48 時間後に末梢血を採取しアクリジンオレンジ超生体染色法により小核の誘発を調べたところ、用量依存的な強い小核の誘発がみられた (2% at 200 mg/kg)。同様の作用は ddY マウスを用いた実験によっても確認され、これらの結果より、モノクロタリンが *in vivo* において強い染色体異常誘発性を持つことが明らかとなった。

Keywords: monocrotaline, micronucleus test, peripheral blood

Nohmi, T., Yamada, M., Matsui, K., Watanabe, M. and Sofuni, T.: **Specific disruption of *samAB* genes in a 60-megadalton cryptic plasmid of *Salmonella typhimurium***

Mutation Res., **329**, 1~9 (1995)

umuDC 遺伝子は、大腸菌の紫外線や化学物質で起こる突然変異誘発に必須な役割を果たしている。ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) には 2 種類の *umuDC* 類似遺伝子、*umuDC_{ST}* と *samAB* が存在する。この 2 種類の *umuDC* 類似遺伝子の内、60 メガダルトン・プラスミド上にある *samAB* 遺伝子の特異的に破壊した株を作製した。この株では、紫外線に対する突然変異誘発能の減少は見られず、むしろ野生型株よりも突然変異誘発能が約 2 倍上昇していた。*umuDC_{ST}* 欠損株や、*umuDC_{ST}* と *samAB* の 2 重欠損株は、紫外線照射を受けても突然変異を起こさなかった。以上の結果から、ネズミチフス菌の紫外線突然変異誘発は、主に染色体上の *umuDC_{ST}* 遺伝子に依ることが示唆された。

Keywords: mutagenesis, *Salmonella typhimurium*, *samAB*

Komano, T.*, Kim, S.-R. and Yoshida, T.*: **Mating variation by DNA inversions of *shufflon* in plasmid R64**

Adv. Biophys., **31**, 181~193 (1995)

InclI プラスミド R64 の 54-kb からなる接合伝達領域の塩基配列決定により、48 個のオープンリーディングフレームが同定された。シャフロンと呼ばれる複雑な DNA 再編成領域は、細線毛の形成に必要とされる遺伝子群の下流に位置する。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。*pilV* の遺伝子産物は、液内接合に必要と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。*pilV* 遺伝子の 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、それを持つ菌と各種細菌群との間で接合伝達実験を行った。その接合伝達の頻度は、供与菌内の *pilV* 遺伝子の C-末端部と受容菌の組み合わせに大きく依存していた。これは、シャフロンがプラスミド R64 の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。

Keywords: *shufflon*, plasmid R64, conjugal transfer

* 東京都立大学理学部

Kikuno, T.*, Honma, M., Ogura, S.*, Mizusawa, H., Hayashi, M. and Sofuni, T.: **DNA fingerprint analysis in chemically mutagenized Chinese hamster lung cells**

Mutation Res., **338**, 87~93 (1995)

ミニサテライトプローブ Per-6 を用いた DNA フィンガープリント法で各種変異原で処理したチャイニーズハムスター細胞 (CHL) でのミニサテライト遺伝子突然変異の検出を試みた。CHL 細胞での自然突然変異頻度は 0.31~0.63% であり、試みた全ての変異原は突然変異の誘発を示した。特にマイトマイシン C と AF2 は自然誘発の 10 倍以上の誘発を起こした。全ての試験において 4.2, 3.8, 2.4 bp のバンドの変異が共通に観察された。これらバンドに相当するミニサテライトは特に変異をおこし易いホットスポットと考えられる。DNA フィンガープリント法は遺伝や老化によってもたらされる遺伝的不安定性を検出する系として有用であると考えられる。

Keywords: minisatellite, DNA fingerprinting, genetic instability

* 化学品検査協会日田研究所

The Collaborative Study Group for the Micronucleus Test (CSGMT)*: **Protocol recommended by the CSGMT/JEMS. MMS for the short-term mouse peripheral blood micronucleus test**

Mutagenesis, **10**, 153~159 (1995)

日本環境変異原学会の下部組織である哺乳動物試験研究会がこれまでにやってきた小核試験に関する共同研究の成果をまとめ、末梢血を用いる小核試験のための試験プロトコルについて述べた報告書である。試験に用いる動物種、系統、性、投与回数、標本作製時期、標本作製法、観察法、得られた結果の評価法におよぶ研究会としての推奨法が述べられている。今後、末梢血を用いる小核試験を実施する場合に力強い指針となることが予想されている。

Keywords: protocol, recommendation, mouse peripheral blood micronucleus test

* 62 機関の共同研究

Hayashi, M. and Sofuni T.: **The need for three dose levels to detect genotoxic chemicals in *in vivo* rodent assays**

Mutation Res., **327**, 247~251 (1995)

変異原研究法の国際調和を図るメルボルンでの国際ワークショップおよび OECD による変異原性試験法ガイドラインの改正等で、*in vivo* の小核試験を始めとする細胞遺伝学試験において、用量反応関係を見るため少なくとも 3 用量段階の試験が必要であるとされている。これに対して、限界用量 (2 g/kg) を用いる場合等では、1 用量段階で十分評価可能であるとの反論が発表された。本論分は、データベースならびに統計学的考察より、たとえ限界用量での試験であっても 1 用量では見落とす可能性があるため、やはり 3 用量試験が必要であることを強調した論文である。

Keywords: *in vivo* genotoxicity assay, dose level

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—**

環境変異原研究, **17**, 93~98 (1995)

ヒトが化学物質に暴露される様式は常に複合的である。遺伝毒性を始め一般的に化学物質の安全性を評価する試験系においては、単独の化学物質に関して評価を行うことがほとんどである。末梢血を用いる小核試験を用いることに

より、常に最適な条件下で試験を行うことが可能となったので、2種類の化学物質を同時に投与して、複合効果について検討を加え、得られた結果を解析して理論的な解説をした総説である。実際のデータにより、2種の化合物の小核誘発に対する加算効果、見かけの相乗効果、真の相乗効果について考察を加えた。

Keywords : combination effect, micronucleus, synergism

Hayashi, M. and Sofuni T.: A reaction to 'A sequential approach to testing with the rodent bone marrow micronucleus assay'

Mutation Res., **331**, 173~174 (1995)

げっ歯類の骨髄を用いる小核試験の新しい方法として段階的に用量を変えて評価しようとする手法が紹介された。さらに、当該論文においてはデータの評価に関する記述が重要な位置を占めていたが、データ評価の最も重要な要因は反応の再現性であり、統計学的な評価はほとんど役に立たないものであった。本論文はそれに反論を加えるもので、適切な統計手法の適用がデータ評価において重要な役割を果たしうることを述べ、統計学的な有意性と生物学的意義を考えあわせながら評価することこそ重要であるとした。

Keywords : micronucleus assay, statistics, data evaluation

Sato, S.*¹, Taketomi, M.*¹, Nakajima, M.*², Kitazawa, M.*², Shimada, H.*³, Ito, S.*³, Igarashi, M.*³, Higashikuni, N.*⁴, Sutou, S.*⁴, Sasaki, Y. F.*⁵, Hayashi, M., Sofuni, T., Higashiguchi, T.*⁶, Nito, S.*⁶, Kondo, Y.*⁶, Honda, S.*⁷, Hayashi, M.*⁷, Shinagawa, Y.*⁷, Nakajima, E.*⁸, Oka, Y.*⁸, Shimoi, K.*⁹, Hokabe, Y.*⁹, Morita, A.*⁹, Kinae, N.*⁹, Takeuchi, M.*¹⁰, Hirono, H.*¹⁰, Yamamura, E.*¹⁰ and Tamai, K.*¹¹: Effect of aging on spontaneous micronucleus frequencies in peripheral blood of nine mouse strains: the results of the 7th collaborative study organized by CSGMT/JEMS-MMS

Mutation Res., **338**, 51~57 (1995)

変異遺伝部で開発した末梢血を用いる小核試験法の適用により、動物を殺すことなく経時的に標本を作製し、小核出現頻度を求めることが可能となった。日本環境変異原学会の下部組織である哺乳動物試験分科会の共同研究として、マウスの末梢血を生生涯にわたり毎月採取し、加齢に伴う小核の自然出現頻度に変化が認められるか否かを評価した論文である。加齢モデルの系統を含め9系統を用いて検討した。その結果、約1年半位までは小核の自然出現頻度にほとんど変化は認められなかった。しかし、系統によっては、死亡する直前に小核の誘発の認められる場合もあった。目下、詳細な統計学的な解析を行っている。

Keywords : micronucleus, aging, CSGMT/JEMS-MMS

*¹ 日本たばこ産業(株)

*² (財)食品農医薬品安全性評価センター

*³ 第一製薬(株)

*⁴ 伊藤ハム(株)

*⁵ 八戸工業高等専門学校

*⁶ 田辺製薬(株)

*⁷ 富山県衛生研究所

*⁸ 東洋紡

*⁹ 静岡県立大学

*¹⁰ 吉富製薬(株)

*¹¹ 保健科学研究所

Mäki-Paakkanen, J.*¹, Hayashi, M., Suzuki, T., Tanabe, H., Honma, M. and Sofuni, T.: Analysis by fluorescence *in situ* hybridization with a mouse gamma satellite DNA probe of isolated micronuclei induced in mice by two clastogens and two spindle poisons

Mutagenesis, **10**, 513~516 (1995)

小核は染色体の構造異常によって誘発される動原体を持たない断片に由来するものと、分裂装置の異常による動原体を有する1本または数本の染色体に由来するものがある。これらの生成機構を検討するには、小核に動原体が存在するか否かを検討することにより予測可能である。本論文では、出現頻度の極端に低い小核を数多く解析するため、末梢血より小核のみを分離する方法を開発し、分離した小核に対して動原体付近の塩基配列を持つDNAプローブを用いて分子雑種形成法を適用した。その結果、染色体の構造異常を誘発する化学物質によって誘発された小核と比較して、染色体の数的異常を誘発することが知られている紡錘体阻害剤を用いると動原体を有する小核の出現頻度が上昇していることを明らかにした。

Keywords : fluorescence *in situ* hybridization, isolated micronuclei, mouse gamma satellite DNA

* National Public Health Institute, Finland

The Collaborative Study Group for the Micronucleus Test*: Individual data in the results of the 7th collaborative study organized by CSGMT/JEMS-MMS

MMS Commun., **3**, 117~131 (1995)

マウスの末梢血を生生涯にわたり毎月採取し、加齢に伴う小核の自然出現頻度に変化が認められるか否かを評価した論文に用いた全データを収録したものである。加齢モデルの系統を含め9系統について、各標本作成時点での、各マウスあたりのデータであり、論文の読者が独自にデータ評価を行いたい場合に不可欠な情報である。さらに、本論文に収録した全データは希望者にはフロッピーディスクによる機械可読ファイルとしても提供可能である。

Keywords : aging, spontaneous MNRETs frequencies, accelerated-senescence models

* 12 機関の共同研究

(日本たばこ産業(株), (財)食品農医薬品安全性評価センター, 第一製薬(株), 伊藤ハム(株), 八戸工業高等専門学校, 田辺製薬(株), 富山県衛生研究所, 東洋紡, 静岡県立大学, 吉富製薬(株), 保健科学研究所)

Honma, M. and Little, J. B.*: Recombinagenic activity of the phorbol ester 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in human lymphoblastoid cells

Carcinogenesis, **16**, 1717~1722 (1995)

強力な発がんプロモーターである TPA の変異原性および組換え活性をヒトリンパ芽球細胞のチミジンキナーゼ (tk) 遺伝子を利用した突然変異アッセイにより検討した。低濃度の TPA (0.01~1.0 µg/ml) では突然変異の誘発は顕著でなかったのに対して、高濃度 (1.0~10 µg/ml) では自然誘発の4倍程度の突然変異の誘発を認めた。変異体の tk 遺伝子をサザン法により解析したところ、その80%が LOH 型の突然変異であり、その LOH の大部分はアリル間の組換えによるものであった。しかし、その全体の突然変異スペクトラムは自然突然変異のそれと近似していた。

TPA は DNA に対し直接損傷を与えず、遺伝的不安定を増強する事により突然変異を誘発するのかもしれない。そしてこの作用が TPA のプロモーション作用と関係しているのかも知れない。

Keywords : 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate, TK6, thymidine kinase

* Harvard School of Public Health

Zang, L.-S.*, Honma, M., Hayashi, M., Suzuki, T., Matsuoka, A. and Sofuni, T.: **A comparative study of TK6 human lymphoblastoid and L5178Y mouse lymphoma cell lines in the *in vitro* micronucleus test** *Mutation Res.*, **347**, 105~115 (1995)

ヒトリンパ球細胞株 TK6 とマウスリンフォーマ細胞 L5178Y を用いて染色体異常誘発物質や細胞分裂毒に対する小核の誘発性を比較した。大部分の変異原は TK6 細胞に対し低濃度で小核の誘発を示した。しかし細胞毒性あたりの小核誘発率は L5178Y 細胞の方が高かった。両細胞とも *in vitro* での小核試験に有用であることが明らかとなった。

Keywords : micronucleus (MN), TK6, L5178Y

* 華西医科大学

Tanabe, H., Ishida, T.*, Ueda, S.*, Sofuni, T. and Mizusawa, H.: **Comparative mapping of the immunoglobulin C-epsilon 1 gene (IGHE) in five species of nonhuman primates by fluorescence in situ hybridization**

Cytogenetics and Cell Genetics, **70**, 239~242 (1995)

ヒト免疫グロブリン C-epsilon 1 遺伝子は、14 番染色体上の長腕末端領域 14q32.33 にマッピングされている。ヒト 14 番染色体の核型進化を理解する目的で、FISH 法と QFQ バンディング法とを組み合わせ、この遺伝子の霊長類染色体上における比較マッピングを行った。その結果、C-epsilon 1 遺伝子は PTR15q32 (チンパンジー)、PPA15q32 (ピグミーチンパンジー)、PPY15q32 (オランウータン)、HLA17qter (シロテテナガザル)、MFU7q29 (ニホンザル) にマッピングされた。これらはすべてヒト 14 番染色体と対応する染色体上の長腕末端領域であり、ヒト 14 番染色体と対応する霊長類染色体が進化的に syntenic な構造を保持していることが示唆された。また C-epsilon 1 遺伝子がヒト以外霊長類においても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いた。

Keywords : comparative mapping, C-epsilon 1 gene, fluorescence *in situ* hybridization

* 東京大学理学部

Harasawa, R.* and Mizusawa, H.: **Demonstration and genotyping of pestivirus RNA from mammalian cell lines**

Microbiol. Immunol., **39**, 979~985 (1995)

種々の動物に由来する 20 種の細胞株について reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法を使用してペスティウイルスの混入をテストした結果 75 % にのぼる 15 株に混入が認められた。また、RT-PCR 法によるペスティウイルスの 5' 端非翻訳領域 (UTR) はその後塩基配列を直接確認し、この領域に 3 種類のステムループ構造を利用してペスティウイルスの同定を試みた。その結果、テストしたウシ由来の細胞全てが I, II および III 型のいずれかの型を持つウシ下痢症ウイルス (BVDV) に汚染されていることが明らかになった。また、ネコ、イヌ、

および霊長類に由来する培養細胞は II 型の BVDV に汚染されていることが見出され、ChIEs 細胞は border disease virus (BVD) に汚染されていることが見出された。培養細胞に関連するこれらのウイルスによる汚染は、これまであまり詳細に調査されてきていないので今後の検討が必要である。

Keywords : RT-PCR, animal cell lines, genotyping of pestivirus genome

* 東京大学医学部附属動物実験施設

Masui, T.: **Establishment of an outgrowth culture system to study growth regulation of normal human epithelium**

In Vitro Cell. Develop. Biol., **31**, 440~446 (1995)

正常ヒト上皮細胞の増殖調節機構を研究するために、我々は正常ヒト子宮外頸部上皮細胞の outgrowth 培養系を開発した。この培養系で上皮細胞は増殖と細胞移動の調和を保ちつつシートとして同心円状に増殖する。増殖の速度は半径の増加率として定量的に扱え、設定された条件の中で一定である。また、小さなものから直径 30 mm を越えるものまで outgrowth での細胞の密度が一定である。これらの増殖と細胞密度は症例の個体差が無く現在 59 症例について同様の結果を得ている。培地の検討過程において従来の正常ヒト上皮細胞の培養系と異なり血清と高濃度のカルシウムイオンに依存して増殖するなど特徴のある増殖機構を示す。この培養系は生体内での上皮細胞の増殖動態に近い増殖特性を示すものとして分子生物学的解析にも耐える格好のモデルシステムである。

Keywords : normal human epithelial cells, outgrowth culture, *in vitro* model

Kamata, E., Nakadate, M., Ogawa, Y., Kaneko, T., Kurokawa, Y. and Yukawa, M.*: **Acute inhalation toxicity study of formaldehyde in rats: Effect of vapor on the pulmonary surfactant**

Oyo Yakuri, **51**, 33~37 (1996)

ホルムアルデヒドの肺表面活性物質に対する作用を検討する目的で、雄 F-344 ラットに 128.4 または 294.5 ppm のホルムアルデヒドを 6 時間一回吸入暴露した。

暴露中、呼吸困難、閉眼、流涙、出血性鼻汁、流涎が見られ、剖検所見では、気管周囲の浮腫、胸水、肺および鼻粘膜の充血が観察された。

肺洗浄液中のリン脂質分析では、phosphatidylcholine 量が用量に伴って減少し、その他のリン脂質では、294.5 ppm 暴露群のみに減少が観察された。これらの結果から、ホルムアルデヒドの高濃度暴露により肺表面活性物質の分泌抑制が判明した。

Keywords : formaldehyde vapor, acute inhalation study, pulmonary surfactant

* 日本大学農獣医学部

岡田敏史, 吉井公彦, 小松裕明: **熱分析法の医薬品試験への応用 (1) 熱重量分析法による乾燥減量試験および水分測定**

医薬品研究, **26**, 598 (1995)

熱分析法の一手法である熱重量分析法 (TG) を医薬品の乾燥減量試験 (LOD) および水分測定へ応用した。15 種類の実薬につき、TG 法による分析結果と LOD およびカールフィッシャー (KF) 法による水分測定の結果との比較検討を行った。その結果、硫酸ビンプラスチンを除き、TG 法による減量率が LOD または KF 法による水分測定

結果によく一致することが明らかとなった。硫酸ビンプラスチンの場合、揮発性成分として水分だけでなく残留溶媒としてエタノールを含むことがTG-MSによる分析により明らかとなった。この結果、TG法は乾燥減量試験または水分測定法の代替法として有力な分析手段であることが結論された。特に、貴重なサンプルで試料量に制約がある場合のLOD、KF試薬に非溶解性であったり、残留溶媒を含む試料の水分測定などへの応用が期待される。

Keywords : thermal analysis, thermogravimetry, water content

岡田敏史, 吉井公彦, 小松裕明: 熱分析法の医薬品試験への応用 (2) 示差走査熱量測定法による純度試験
医薬品研究, 27, 169 (1996)

示差走査熱量測定法 (DSC) は、相転移またはガラス転移など、熱変化に伴う物質の状態変化を観察する手段であり、転移温度とそれに伴う熱量変化から、物質の特性を明らかにしようとする分析手段である。本報告では、医薬品原薬のDSC測定により得られる融解ピークの解析から、原薬中の不純物総量 (mole %) を求めるための基礎的な検討を行った。NISTの純度標準物質を用いて分析条件の検討を行い、試料量、加熱速度、融解ピークにおける解析の範囲など、純度解析に適切なDSC測定条件および解析法を定めた。3種の日局標準品 (アセトアミノフェン, エテンザミド, ニコチン酸アミド) 中に一定量の不純物を混入させ、自製の純度標準試料を調製し、これを用いてDSC法による純度解析法の妥当性を検証した。この結果、不純物量2 mole %以下であれば、ほぼ満足な分析結果の得られることを明らかにした。

Keywords : differential scanning calorimetry, impurity analysis, NIST thermal analysis purity set

Yomota, C., Yoshii, Y., Takahata, T. and Okada, S.: Separation of B-3 monodesamidoinulin from human insulin by high-performance liquid chromatography under alkaline conditions
J. Chromatogr. A, 721, 89~96 (1996)

ヒトインスリン中に生成することが知られている、A-21位のモノデスアミド体およびB-3位のモノデスアミド体は、アルカリ性溶離液を用いる逆相液体クロマトグラフィーにより同時に分離分析可能であることを明らかにした。従来の純度試験に用いられている酸性溶離液を用いる方法では、B-3モノデスアミド体は、インスリン主ピークに含まれ、分離されていなかった。また、上記方法と同時にキャピラリー電気泳動によりB-3モノデスアミド体の生成を追い、長期保存されたインスリン製剤中にはA-21モノデスアミド体よりも、B-3モノデスアミド体が多く生成することを示した。

Keywords : human insulin, monodesamido body, HPLC

谷本 剛: 医薬品の迅速分析, A ヒト尿由来ウロキナーゼ (原体および製剤)

月刊薬事, 37(9), 2047~2050 (1995)

ヒト尿由来ウロキナーゼの力価は二段法と呼ばれる方法で測定されているが、この方法は操作が煩雑で精度も低く、測定コストが極めて高いという欠点がある。このような欠点は医薬品の監視業務の円滑な遂行にとって大きな障害となるので、高精度で簡便迅速な方法として合成ペプチド基質を用いた分光学的測定法を確立した。また、この迅速分析法を活用する上での留意点等について解説した。

Keywords : urokinase, urinary urokinase, simple and

rapid assay method

谷本 剛, 横田椅江, 早川堯夫: トロンビンの合成基質を用いた定量法の確立に関する基礎的研究

医薬品研究, 27(3), 132~135 (1996)

日局トロンビンの定量法はフィブリノーゲンを用いて凝固時間を測定する方法であるが、この方法は操作が煩雑であるとともに測定精度が低いという欠点がある。この点を改良する目的で合成基質を用いた分光学的定量法の確立を試み、ペプチド合成基質, L-phenylalanyl-pipecoyl-arginine-p-nitroanilide (S-2238) を用いたトロンビンの活性測定条件を確立した。この活性測定法は日局に規定されている凝固法と比較して操作時間が約1/5に短縮され、操作自体も極めて容易な方法であった。測定精度に関しても、合成基質法はその変動係数が1.2%であり、日局法 (変動係数: 6~21%) より明らかに低く、この点に関しても合成基質法は優れていた。

Keywords : thrombin, colorimetric assay, chromogenic substrate

Komatsu, H. and Okada, S: Permeability of ethanol-induced interdigitated membrane

Prog. Anesthetic Mech., 3, 362~367 (1995)

ジバルミトイルフォスファチジルコリンからなる大きな一枚膜リポソームの、エタノールによる膜透過性への影響について、リポソーム内水相に封入した蛍光色素カルセインの漏れを指標として検討した。その結果、0.5 M から1.3 M のエタノールが共存した場合、膜の透過性が急増した。このエタノール濃度領域では、指組み膜 (Interdigitated Gel Structure Membrane) と呼ばれる特異な膜構造 (向かい合った脂質のアシル鎖が互いにかみ合ったような構造) と通常の二分膜構造が共存する、いわゆる膜の相分離状態であった。指組み膜は、膜の厚みが通常の二分子膜に比べて小さく、また膜の疎水領域のアシル鎖の動きが小さく、堅いのが特徴である。したがって、相分離状態では、膜の相境界での構造の歪みが大きく、不安定であり、漏れが増加したと考えられた。このことは、生体膜の機能の一つである膜透過性制御に、指組み膜構造相の形成が関与している可能性を示唆するとともに、このような膜透過性の亢進がアルコールによってもたらされることを考えると、エタノールによる指組み膜形成とアルコール中毒症や依存症との関連性が示唆された。

Keywords : membrane permeability, liposome, interdigitation

Komatsu, H., Kitajima, A. and Okada, S.: Pharmaceutical characterization of commercially available intravenous fat emulsions: Estimation of average particle size, size distribution and surface potential using photon correlation spectroscopy

Chem. Pharm. Bull., 43, 1412~1415 (1995)

市販の脂質エマルジョン製剤である、高カロリー輸液製剤 (6品目) および脂溶性薬物の輸送担体であるリポ化製剤 (4品目) の平均粒子径、粒子径分布、分散性および長期安定性の指標となる表面電位 (ゼータ電位) を動的光散乱法により評価した。その結果、数換算、体積換算およびZ-平均粒子径、分散比等の粒子径プロファイルが製品により様々であった。また通常製剤評価指標として用いられている平均粒子径は、その製剤を評価するには不十分であり、粒度分布を示す指標、例えば、分散比等を併用することが必要であった。一方、ゼータ電位は、脂質分散系粒子

製剤の長期安定性予測のための有効な指標であることが、改めて確認された。しかし、測定の際の試料の希釈に際し、ゼータ電位が希釈液に依存することが実証され、希釈液の選択に注意を払わなければならないことが明らかとなった。

Keywords : fat emulsion, particle size, zeta potential

Itoh, N.*, Komatsu, H., Handa, T.* and Miyajima, K.*: **Emulsion and vesicle formation of retinol and retinyl palmitate with egg yolk phosphatidylcholine** *J. Colloid Interface Sci.*, **174**, 148~155 (1995)

レチノール (ビタミン A) またはレチニルパルミテート (ビタミン A のパルミチン酸エステル) と卵黄レシチンとの混合性について拡張圧の測定から検討した。その結果、レチノールとレシチンは混合し、超音波処理により 2 分子膜を形成することが示された。一方、レチニルパルミテートとレシチンは混合せず、モル比 1.4 以上において、エマルジョン様粒子以外に過剰のレシチンにより形成されたラメラ構造が凍結切断法による電子顕微鏡写真や X 線小角散乱測定から明らかとなった。しかし、このラメラ構造は、通常見られるものと異なり、繰り返し間隔が 70 nm であり、また ^{31}P -NMR スペクトル測定から、シャープな異方性ピークが観測された。このように、ビタミン A のエステル化やエステルの加水分解は、レチノールとレシチンからなる脂質分子集合体の構造に大きく影響を与えることが明らかとなり、ビタミン A の血中挙動を考える上で重要な指針となった。

Keywords : emulsion, retinol, liposome

* 京都大学薬学部

Suzuki, T.*, Komatsu, H. and Miyajima, K.*: **Effects of glucose and its oligomers on the stability of freeze-dried liposomes**

Biochim. Biophys. Acta., **1278**, 176~182 (1996)

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凍結乾燥時のリポソーム破壊に対する保護作用のメカニズムにつき、リポソーム内の水相に封入した蛍光色素カルセインのリークを指標として、種々のリン脂質からなるリポソームを用いて検討した。その結果、糖の長さが長いオリゴ糖ほど内封物の保持率が低下したが、これは長いオリゴ糖ほど疎水的な性質が増加し、リポソームの凝集や融合を促進するためであることが明らかとなった。また糖の再水和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、ゲル相で他方が液晶相である場合、再水和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した。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・再水和時ともにゲル相となることが示差走査熱分析法により確認され、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。

Keywords : liposome, freeze-dry, saccharide

* 京都大学薬学部

Komatsu, H. and Okada, S: **Increased permeability of phase-separated liposomal membranes with mixtures of ethanol-induced interdigitated and non-interdigitated structure**

Biochim. Biophys. Acta., **1237**, 169~175 (1995)

ジパルミトイルフォスファチジルコリンからなる大きな一枚膜リポソームのエタノールによる膜透過性への影響について、リポソーム内水相に内封した蛍光色素カルセインの漏れを指標として検討した。その結果、0.5 M から 1.3

M のエタノールが共存した場合、膜の透過性が急増した。このエタノール濃度領域では、指組み膜 (Interdigitated Gel Structure Membrane) と呼ばれる特異な膜構造 (向かい合った脂質のアシル鎖が互いにかみ合ったような構造) と通常の二分膜構造が共存する、いわゆる膜の相分離状態となっていた。指組み膜は、膜の厚みが通常の二分分子膜に比べて小さく、また膜の疎水領域のアシル鎖の動きが小さく、堅いのが特徴である。従って、この相分離状態では、膜の相境界での構造の歪みが大きく、不安定であり、漏れが増加したと考えられた。このことは、生体膜の機能の一つである膜透過性制御に、指組み膜構造相の形成が関与している可能性を示唆するとともに、このような膜透過性の亢進がアルコールによってもたらされることを考えると、指組み膜形成とアルコール中毒症や依存症との関連性が示唆された。

Keywords : liposome, ethanol, interdigitation

Komatsu, H. and Okada, S: **Ethanol-induced aggregation and fusion of small phosphatidylcholine liposomes: Participation of interdigitated membrane formation in their processes**

Biochim. Biophys. Acta., **1235**, 270~1719 (1995)

超音波処理した小さなジパルミトイルレシチンリポソームのエタノールによる凝集と膜融合の機構について、動的散光法によるリポソームの見かけの粒子径変化の測定、蛍光エネルギー移動法による膜融合の挙動、およびフリーズフラクチャー法により調製した試料の電子顕微鏡写真撮影等により検討した。その結果、44 mg/ml 以上のエタノールが共存した場合、リポソームの顕著な凝集や融合が見られた。このエタノール濃度領域では、指組み膜 (Interdigitated Gel Structure Membrane) と呼ばれる膜構造 (向かい合った脂質のアシル鎖が互いにかみ合ったような構造) が形成される。この特異な膜構造の形成により、膜表面の疎水性が増し、このことにより膜間の疎水の相互作用が増加し、リポソームの凝集が誘起され、また一部の膜の融合が見られたことが明らかとなった。これらの結果は、このエタノールによる指組み構造膜の形成が、生体膜の機能制御に関与している可能性を示唆するとともに、アルコール中毒症や依存症とエタノールによる指組み構造膜の形成との関連性が示された。

Keywords : liposome, ethanol, interdigitation

津村ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 中塚一美*, 柴田正: **GC による農産物中のプロモブチド脱臭素体およびジメピペレート等 14 種含窒素農薬の分析** *食衛誌*, **36**, 613~621 (1995)

厚生省告示 (1995 年 9 月) 中の 10 種含窒素農薬の一斉分析法を応用して、ジメピペレート, テニルクロール, プロベナゾール, プロモブチドおよびプロモブチド脱臭素体を含む 15 種の化合物の一斉分析法を作成した。

穀類は 10.0 g, 果実, 野菜は 20.0 g をとり, アセトンを加え抽出した後, 酢酸エチルに転溶した。酢酸エチル溶液を脱水して濃縮し, 穀類はアセトニトリル・ヘキサン分配で脱脂した後, 抽出溶液とした。抽出溶液をフロリジルカラムで精製した後アセトンを加えて正確に 5 ml とし, FTD-GC で測定して農薬を定量した。小麦中のエスプロカルブ, ジェトフェンカルブ, チオベンカルブは FTD による検出では妨害ピークのため測定できず, GC/MS (SIM) で定量した。15 種の化合物の 10 種農産物への添加回収率 (添加量: プロベナゾール 0.5 ppm, その他 0.1 ppm) は 65.9~103.4% であった。また検出限界は,

0.005~0.05 ppmであった。

Keywords : dimepiperate, bromobutide, gas chromatography

*¹ 大阪薬科大学

津村ゆかり, 後藤祐之介*¹, 宗形 希*², 中村優美子, 外海泰秀, 柴田 正: GCによる農産物中のフェナリモールおよびレナシルの分析

食衛誌, 37, 119~122 (1996)

著者らが作成した14種の含窒素農薬の一斉分析法を用いてフェナリモールおよびレナシルの定量を行い, この2農薬にも適用可能であることを示した。

穀類は10.0g, 果実, 野菜は20.0gをはかり, アセトンを加え抽出した後, 酢酸エチルに転溶した。酢酸エチル溶液を脱水して濃縮し, 穀類はアセトニトリル・ヘキサン分配で脱脂した後, 抽出溶液とした。抽出溶液をフロリジルカラムで精製した後アセトンを加えて正確に5mlとし, FTD-GCで測定して農薬を定量した。フェナリモールとレナシルの10種農産物への添加回収率(添加量: 果実・野菜は0.1ppm, 穀類は0.2ppm)は72.8~92.2%, 検出限界は0.01ppmであった。

Keywords : fenarimol, lenacil, gas chromatography

*¹ 神戸農林水産消費技術センター

*² 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*, 成田美加子*, 関口幸弘*, 糸山智子*, 鯉口 智*, 長谷川眞住*, 三好智子*, 鎌倉和政*, 前田憲二*, 山名孝善*: ベンフラカルブおよびカルボスルファンのGC分析に及ぼす食品由来成分の影響

食衛誌, 36, 506~515 (1995)

農作物中のベンフラカルブ, カルボスルファン, カルボフランおよび3-ヒドロキシカルボフランを同時に抽出し, GCおよびHPLCで測定する分別定量法を検討した。ベンフラカルブおよびカルボスルファンは試験溶液中に食品成分が共存すると, GC測定時にカルボフランに分解するので, 分解防止には試験溶液をSep-Pakフロリジルなどで十分にクリーンアップする必要がある。

Keywords : benfuracarb, carbosulfan, carbofuran

* 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法による玄米中の各種農薬の簡易, 迅速な系統分析

食衛誌, 36, 516~524 (1995)

玄米中有機リン系43種, 有機含窒素系24種, 有機塩素系14種およびピレスロイド系11種, 合計92種類の農薬についてGCによる系統的分析法を検討した。本法により米国, 中国およびオーストラリアから輸入された玄米246検体について検査し, GC/MSで確認した結果, 米国産3検体, 中国産6検体よりマラチオンが0.01~0.1ppmの範囲で検出された。

Keywords : pesticide, gas chromatography, brown rice

* 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

長谷川眞住*, 関口幸弘*, 鯉口 智*, 鎌倉和政*, 成田美加子*, 平原嘉親*, 三好智子*, 宮田昌弘*, 前田憲二*, 外海泰秀: 畜肉中の残留有機塩素系農薬および合

成抗菌剤の系統的分析法ならびに合成抗菌剤のGC/MSによる確認法の検討

衛生化学, 41, 470~477 (1995)

畜肉中の7種有機塩素系農薬および13種合成抗菌剤を試料からアセトニトリルで同時に抽出し, それぞれをクリーンアップした後, 前者はECD-GC, 後者はUV-HPLCで測定し, スクリーニングする方法について検討した。実試料から検出されたNCZをGC/MSで確認し, TMPについてもGC/MSによる確認法を作成した。

Keywords : organochlorine pesticide, synthetic antibacterial, HPLC

* 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

Ishimitsu, S., Ohmori*, N., Tsuji. S. and Shibata, T.: Formation of a hydroxyl radical from tar dye by photo-illumination

Chem. Pharm. Bull., 43, 1810~1812 (1995)

フェニルアラニン存在下0.1Mクエン酸緩衝液中インジゴカルミン(B-2)を光照射すると水酸化が認められ, 水酸化生成物として*p*-, *m*-および*o*-tyrosineが生成した。しかし, 他の食用色素では水酸化は認められなかった。B-2の水酸化はpH依存性で, pH4.0付近で最大であった。溶液中に溶解している空気を窒素で置換しながら光照射したところ, 水酸化およびB-2の分解は完全に抑制された。一方, 酸素を通気させたところ水酸化およびB-2の分解は促進された。

スーパーオキシドディスムターゼおよびカタラーゼの添加により水酸化は抑制された。ヒドロキシルラジカルの捕捉剤の添加は水酸化を抑制した。これに反して, 一重項酸素の捕捉剤の添加では水酸化は抑制されなかった。これらの結果から, 好氣的条件下B-2を光照射することによりヒドロキシルラジカルが生成すること, また, ヒドロキシルラジカルはスーパーオキシドラジカルと過酸化水素との反応により生成することが明らかとなった。

Keywords : indigo carmine, photochemical reaction, hydroxylradical

* 大阪薬科大学

山田真記子*¹, 加藤喜昭*¹, 中村幹雄*¹, 石光 進, 柴田 正, 伊藤啓志男*²: HPLCによる食用赤色102号中の未反応原料および付随色素の定量法とその実態調査

食衛誌, 36, 417~422 (1995)

食用タール色素の中で食用赤色40号のみ純度試験として未反応原料, 反応中間体および付随色素の規格値およびHPLCによる試験法が設定されている。しかし, 他の11種類のタール色素にはこれらの規格値ならびに試験法は設定されていない。そこで, HPLCを用い食用赤色102号の未反応原料ならびにその不純物であるナフチオン酸(NA), G塩(GS), 7-ヒドロキシ-1,3,6-ナフタレントリスルホン酸塩(TS), R塩(RS), シェファー塩(SS)および付随色素であるボンソー6R(P6R), 食用赤色2号(R-2), ファーストレッドE(FRE)の定量法を作成した。本報での定量限界は, 0.05μg/gであった。市販品の定量を行ったところ, TSは0.005~0.044%, GSは0.044~0.284%, NAは0.013~0.196%であり, RSおよびSSは検出されなかった。付随色素はP6Rが0.008~0.169%, R-2がND~0.279%, FREが0.007~0.100%であった。

Keywords : new coccine, starting materials, subsidiary colors

*¹ 三栄源エフ・エフ・アイ(株)

*² 武庫川女子大学薬学部

矢田朋子^{*1}, 扇間昌規^{*1}, 石橋正博^{*2}, 大澤テイ子^{*3}, 三島靖子^{*3}, 大城善昇^{*4}, 黒田弘之^{*5}, 後藤宗彦^{*6}, 齊藤和夫^{*7}, 西島基弘^{*7}, 佐藤 稔^{*8}, 辻 澄子, 宮川あし子^{*9}, 渡辺哲子^{*9}, 宮部正樹^{*10}, 山本勝彦^{*10}, 森田茂^{*11}, 深澤喜延^{*12}, 細貝祐太郎^{*13}, 広末トシ子^{*13}, 山田 隆, 山本 章^{*14}, 中垣俊郎^{*14}, 森下秀樹^{*14}, 川本明男^{*15}, 伊藤登志男^{*1}: 日本人の A 群食品添加物 (食品の常成分として存在しない食品添加物) の世代別, 食品群別および地域別一日摂取量調査研究
日食化誌, 2, 54~63 (1995)

47種の A 群食品添加物の世代別, 食品群別および地域別一日摂取量を調査した。食品添加物の一日摂取量の合計値は成人が最も高く, 次いで学童, 高齢者の順であった。三世代とも, 摂取量の最も高い食品添加物はプロピレングリコールであった。食品群別摂取量においては, 成人および学童では 4 群 (魚介類, 肉類) および 2 群 (穀類) が高く, 高齢者では 4 群が高かった。地域別摂取量においては三世代とも西部地域が高かった。ADI に対する割合が最も高かったのは学童のプロピレングリコールの 5.9% であり, 低いレベルであることが判明した。

Keywords : food additives, daily intake, ADI

- *1 武庫川女子大学薬学部
- *2 北九州市環境科学研究所
- *3 仙台市衛生研究所
- *4 沖縄県衛生環境研究所
- *5 香川県衛生研究所
- *6 島根県衛生公害研究所
- *7 東京都立衛生研究所
- *8 札幌市衛生研究所
- *9 長野県衛生公害研究所
- *10 名古屋市衛生研究所
- *11 大阪市立環境科学研究所
- *12 山梨県衛生公害研究所
- *13 女子栄養大学
- *14 厚生省生活衛生局食品化学課
- *15 日本食品添加物協会

高 知美^{*1}, 矢田朋子^{*1}, 飛松佳江^{*1}, 浜崎奈津代^{*1}, 田淵佳子^{*1}, 藤井美樹^{*1}, 扇間昌規^{*1}, 辻 澄子, 柴田正, 伊藤登志男^{*1}: 日本人の食用タール色素の一日摂取量調査研究

日食化誌, 2, 64~68 (1995)

加工食品中の食用タール色素の日本人 1 人あたりの 1 日摂取量を, HPLC を用いて加工食品中の残留量を測定することにより求めた結果, 0.9 mg/day であった。最も摂取の多い食品群は 7 群 (果実類, 野菜類, 海藻類) であった。最も摂取の多い色素は黄色 4 号であり, その摂取量は 0.63 mg/day で ADI の 0.17% に相当した。また, 西部地域の摂取量は多く, 東部の 2 倍であった。世代別では成人が最も多く摂取しており, いずれの世代も 7 群 (果実類, 野菜類, 海藻類) からの摂取が多かった。

Keywords : food coal-tar dyes, daily intake

- *1 武庫川女子大学薬学部

木村実加, 梅本美佳, 辻 澄子, 柴田 正, 山田真記子^{*1}, 加藤喜昭^{*1}, 井上哲男^{*1}, 中村幹雄^{*1}, 伊藤登志男^{*2}: 食用青色 1 号アルミニウムレーキ中の水溶性塩化物および水溶性硫酸塩試験法についての検討
食衛誌, 36(6), 717~724 (1995)

公定法 (第 6 版食品添加物公定書) を用いた食用青色 1 号アルミニウムレーキ中の水溶性硫酸塩の添加回収率は極めて低く, また水溶性塩化物の含量は抽出法の相違によ

て異なる値が得られた。そこで同レーキ中の水溶性塩化物および水溶性硫酸塩の試験法を改良した。改良法は塩化物イオン, 硫酸イオンのレーキからの遊離を促すリン酸緩衝液を用いるもので, 食用青色 1 号アルミニウムレーキ 1.000 g を正確に量り, 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7) 10 ml および水 90 ml を加え, 振とう機で 5 分間振とうし, ろ過後イオンクロマトグラフィーで測定するという方法である。この方法で再現性の良い結果が得られた。

Keywords : food blue No. 1 aluminium lake, water soluble chloride, ion chromatography

- *1 三栄源エフ・エフ・アイ(株)

- *2 武庫川女子大学薬学部

Emma, M., Kurosaka, R., Amano, H. and Ogawa, Y.: **Developmental toxicity evaluation of mono-*n*-butyl phthalate in rats**

Toxicol. Lett., 78, 101~106 (1995)

可塑剤 butyl benzyl phthalate および dibutyl phthalate のラットにおける主要な代謝物の一つである mono-*n*-butyl phthalate (MBuP) をラットの器官形成期に投与して, その発生毒性について検討した。250, 500 または 625 mg/kg の MBuP をラットの妊娠 7 日 (精子発見日=妊娠 0 日) から妊娠 15 日まで経口投与し, 妊 20 日に妊娠ラットを帝王切開して胚-胎児に対する影響を調べた。500 および 625 mg/kg 投与群における妊娠ラットの体重増加および飼料摂取量は対照群に比べて有意に低かった。500 mg/kg 以上の投与量で対照群に比べて有意に高い着床後の胚-胎児死亡率, および有意に低い胎児体重が観察された。

奇形を有する胎児の発現頻度は 500 および 625 mg/kg 投与群において対照群に比べて有意に高かった。口蓋裂, 頸椎, 胸椎などにおける椎体および椎弓の癒合および欠損, 胸骨分節癒合, 腎盂拡張などの異常が多く観察された。

Keywords : monobutyl phthalate, developmental toxicity, teratogenicity

Emma, M., Kurosaka, R., Amano, H. and Ogawa, Y.: **Comparative developmental toxicity of butyltin trichloride, dibutyltin dichloride and tributyltin chloride in rats**

J. Appl. Toxicol., 15, 297~302 (1995)

ラットの妊娠 7 日および 8 日 (精子発見日=妊娠 0 日) に 1000, 1500 または 2000 mg/kg の butyltin trichloride (BTCl), 10 または 15 mg/kg の dibutyltin dichloride (DBTCl), 40 または 80 mg/kg の tributyltin chloride (TBTCI) を経口投与し, 妊娠 20 日に帝王切開して胚-胎児に対する影響を調べた。BTCl 投与の結果, 1500 および 2000 mg/kg 投与で妊娠ラットの死亡率が有意に上昇し, 1000 および 1500 mg/kg 投与で妊娠ラットの体重増加が有意に低下したが, 着床後の胚-胎児死亡率および奇形胎児発現頻度の有意の上昇は見られなかった。DBTCl 投与の結果, 妊娠ラットの体重増加および胎児体重の有意の低下, 着床後の胚-胎児死亡率および奇形胎児発現頻度の有意の上昇が両投与群で認められた。外脳症, 下顎裂, 唇裂, 舌癒合, 湾曲足, 椎骨および肋骨異常, 小無眼症などが DBTCl 投与によってみられた。TBTCI 投与群では妊娠ラットの体重増加が有意に低下し, 着床後の胚-胎児死亡率が有意に上昇したが, 奇形胎児の発現率の上昇は見られなかった。これらの結果から, BTCl, DBTCl および TBTCI の発生毒性の感度および発現様式は異なることが示唆された。

Keywords : butyltins, developmental toxicity, teratogenicity

Ema, M., Iwase, T.*, Iwase, Y.* and Ogawa, Y.: **Dysmorphogenic effects of di-*n*-butyltin dichloride in cultured rat embryos**

Toxic. in Vitro, 9, 703~709 (1995)

妊娠8日のラットに投与したときに強い催奇形作用を示す di-*n*-butyltin dichloride (DBTCl) の全胚培養系における奇形誘発作用を検討した。妊娠8日のラット胚を3, 10 または 30 ng/ml の DBTCl を加えた培養液で68時間培養した。30 ng/ml 暴露群において胚および卵黄囊の血管発育良好な胚の頻度, 卵黄囊径, 胚の頭腎長, 胚の体節数の有意の低下が観察された。DBTCl の暴露濃度に比例した形態異常指標の低下および形態異常胚の出現頻度の増加が見られ, これらには10および30 ng/ml 暴露群において対照群との間の有意差が認められた。前神経管閉鎖および頭顔部の異常が高頻度で見られた。これらの結果から, DBTCl は *in vitro* における着床後のラット胚に対して胚毒性を有し, また, 奇形誘発作用をも有することが明らかになった。

Keywords : dibutyltin dichloride, whole embryo culture, embryotoxicity

* Toxicology Laboratory, Yokohama Research Center, Mitsubishi Chemical Co.

Ema, M., Kurosaka, R., Amano, H. and Ogawa, Y.: **Comparative developmental toxicity of di-, tri- and tetrabutyltin compounds after administration during late organogenesis in rats**

J. Appl. Toxicology, 16, 71~76 (1996)

ラットの妊娠13日~15日(精子発見日=妊娠0日)に165または330 $\mu\text{mol/kg}$ の dibutyltin dichloride (DBTCl) または tributyltin chloride (TBTCI), 330, 660, 1320, 2640 または 5280 $\mu\text{mol/kg}$ の tetrabutyltin (TeBT) を経口投与し, 妊娠20日に妊娠ラットを帝王切開して胚-胎児に対する影響を調べた。DBTCl 両投与群において妊娠ラットの体重増加および胎児体重の有意の低下がみられたが, 着床後の胚-胎児死亡率および奇形胎児の発現頻度の上昇は認められなかった。TBTCI 投与の結果, 両投与群における妊娠ラットの体重増加および330 $\mu\text{mol/kg}$ 投与群における胎児体重の有意の低下がみられ, 両投与群において口蓋裂を有する胎児の発現頻度が有意に上昇した。TeBT 投与の結果, 660 $\mu\text{mol/kg}$ 以上の投与量で妊娠ラットの体重増加の抑制, 5280 $\mu\text{mol/kg}$ 投与群において口蓋裂を有する胎児発現頻度の有意の上昇が認められた。これらの結果から, DBTCl, TBTCI および TeBT では発生毒性の発現様式およびその強さが異なることが示唆された。

Keywords : butyltins, developmental toxicity, teratogenicity

中村ゆかり, 黒坂麗子, 村井敏美, 小川義之: **医療用具抽出液のサイトカイン誘導活性およびリムルス活性**
防菌防黴誌, 23, 395~400 (1995)

サイトカイン産生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標として, 人工腎臓, 血漿分離器, および血液濾過器から抽出液を調製し, それらの培養マクロファージに対する発熱性サイトカイン産生誘導活性を調べた。3種の医療用具の中で, セルロース系膜を用いた人工腎臓抽出液にラット肺胞マクロファージに対する腫瘍壊死因子 (TNF) 産生誘導活性

が認められた。この抽出液のリムルス活性を調べたところ, エンドトキシンによるリムルス活性は検出されなかったが, β -グルカンが存在することが明らかになった。これらの成績から, マクロファージを用いる試験系はエンドトキシンだけでなく他の発熱性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として有用であることが示唆された。

Keywords : medical devices, cytokines, Limulus activity

Nakamura, Y., Murai, T. and Ogawa, Y.: **Effect of *in vitro* and *in vivo* administration of dexamethasone on rat macrophage functions: comparison between alveolar and peritoneal macrophages**

Eur. Respir. J., 9, 301~306 (1996)

免疫抑制剤に対するマクロファージの感受性とその生体内での存在部位によって異なるか否かを調べる目的で, ラットの肺胞および腹腔マクロファージについて, それらの食能および腫瘍壊死因子 (TNF) 産生能に及ぼすデキサメタゾン投与の影響を *in vitro* および *in vivo* で比較検討した。その結果, 腹腔マクロファージよりも肺胞マクロファージの方がデキサメタゾンに対する感受性が高く, 機能抑制を受けやすいことが明らかとなった。この理由として, 両マクロファージはそれぞれの存在環境に適合するように分化を遂げており, デキサメタゾンに対する感受性に細胞レベルで差があること, さらにマクロファージの存在する微細環境もデキサメタゾンに対する応答性に影響を及ぼすことが示唆された。

Keywords : alveolar macrophages, peritoneal macrophages, dexamethasone

姉帯正樹*, 兼俊明夫*, 柴田敏郎, 飯田 修, 畠山好雄: **ナイモウオウギを基源とする北海道産黄耆の化学的品質評価**

Natural Medicines, 50(2), 163~169 (1996)

ナイモウオウギは中国の黒龍江省, 吉林省, 河北省, 山西省, 内モンゴル自治区などに分布する多年草で, 国内での栽培試験報告は少ない。北海道薬用植物栽培試験場では大阪大学より種子を導入し, 試作したところ, 2年生根において分枝根の発生, 伸長が著しかった。分枝根は第十二改正日本薬局方の「通例, 分枝することはない」という性状を満たさず, 栽培上最大の問題点である。そこで, 北海道で試験的に栽培した1~3年生のナイモウオウギについて, 基準値以上の太い根と基準値以下の細い根の成分を定量し, 直根性および太さの意義を調べると共に, 年次変化についても検討を加えた。

Keywords : *Astragalus mongholicus*, isoflavonoid, astragaloside

* 北海道立衛生研究所

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**

Natural Medicines, 50(1), 58~64 (1995)

青海省東南部に野生するダイオウは *Rheum tanguticum*, *R. palmatum* もしくは両者の中間型が混在する。ダイオウの他, 冬虫夏草・*Paeonia veitchii*, *Glycyrrhiza uralensis* の自生を確認した。

Keywords : Qinghai province, *Rheum tanguticum*, *Rheum palmatum*

* 三国(株)

柴田敏郎, 畠山好雄, 牧野恵子*, 河野恭広*: *Astragalus mongholicus* BUNGE 根の生育に及ぼす土壌環境の影響

Natural Medicines, 49(4), 455~461 (1995)

発根後, 1, 2, 4 週目に 48 時間たん水状態におき, 発根後 3 か月における生育および分枝根の発生について比較した結果, 根径が太く, 高次の側根を発生する 1 次側根は, たん水処理時期が遅れるほどその発生位置が下方へ移行することが認められた. 主根とほぼ同じ内部形態を示す太い 1 次側根は, たん水処理時の位置に多く認められた.

Keywords: *Astragalus mongholicus*, lateral root, water-logging treatment

* 名古屋大学

Satou, T.*, Mimaki, Y.*, Kuroda, M.*, Sashida, Y.* and Hatakeyama, Y.: A pyrroline glucoside ester and steroidal saponins from *Lilium martagon*

Phytochemistry, 41(4), 1225~1230 (1996)

マルタゴンリリーの新鮮球茎からフェニールプロパノイドエステルの新規物質 1 種とステロイドサポニン 2 種が単離された. マルタゴンリリーはタケシマユリと交配して園芸品種が作られているが, 両者の二次代謝産物はよく似ており, 二次代謝産物と交雑親和性の間には密接な関係がある好例と思われる.

Keywords: *Lilium martagon*, phenylpropanoid esters, steroidal saponins

* 東京薬科大学

姉帯正樹*, 柴田敏郎, 畠山好雄: 吸光光度法と HPLC 法による北海道産黄連中のベルベリン型アルカロイドの定量

道衛研所報, 45, 66~68 (1995)

北海道産黄連 29 試料について, 吸光光度法と HPLC 法によりアルカロイドを定量し, 吸光光度法の実用性について検討を加えたところ, 両者の間には高い相関性がみられたが, 高含量試料では前者は後者より 1 割程度低い値が得られる傾向が認められた.

吸光光度法による定量値は近似値でしかないが, 迅速さ, 簡便さの点で優れており, 一般試験法として適している.

Keywords: *coptis rhizome*, berberine alkaloids, spectrophotometre

* 北海道立衛生研究所

Shibata, T. and Hatakeyama, Y.: Breaking of dormancy in the seeds of *Astragalus mongholicus* BUNGE (Leguminosae)

J. Plant Physiology, 146, 366~368 (1995)

生薬黄耆の基原植物であるマメ科の *Astragalus mongholicus* (ナイモウオウギ) の種子は発芽が不良であるが, この原因は種皮の硬実化に由来すること, この硬実性は種子を水と共に -22°C で 30 日間以上凍結後解凍することにより, 打破できることを明らかにし, 圃場での大量栽培を可能にした.

Keywords: *Astragalus mongholicus*, freezing treatment, hard-seed

Shibata, T., Sakai, E. and Shimomura, K.: Effect of rapid freezing and thawing on hard-seed breaking in *Astragalus mongholicus* BUNGE (Leguminosae)

J. Plant Physiology, 147, 127~131 (1995)

生薬黄耆の基原植物であるマメ科 *Astragalus mongh-*

olicus (ナイモウオウギ) の種子にみられる硬実性は, 種子を水と共に -20°C で急速冷凍し, 24 時間後に急速解凍することにより, 容易に打破でき, 且つ苗への傷害も全く生じないことを明らかにし, 短時間で簡便な実用的処理方法を確立した.

Keywords: *Astragalus mongholicus*, liquid nitrogen, freezing-thawing-treatment

柴田敏郎, 畠山好雄, 牧野佳子*, 河野恭広*: *Astragalus mongholicus* BUNGE 根の生育に及ぼす土壌環境の影響

Natural Medicines, 49(4), 455~461 (1995)

生薬黄耆の基原植物 *Astragalus mongholicus* (ナイモウオウギ) の根の生育・形態に及ぼす土壌環境の影響を検討し, 主根の伸長や分枝根の発生には, 地下水位のレベルが密接に関係していることを明らかにした.

Keywords: *Astragalus mongholicus*, lateral root, water-logging treatment

* 名古屋大学農学部

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

Natural Medicines, 50(1), 58~64 (1996)

中国青海省東南部地域 (青藏高原, 標高 2,000 m~4,200 m) に産する生薬については情報が少ない. 今回現地調査を実施し, そこで見られた生薬大黃, 甘草, 冬虫夏草および川芍薬の基原植物およびそれらの自生環境について報告した.

Keywords: Qinghai province, Rhei Rhizoma, Glycyrrhizoma Radix (甘草)

* 三国(株)

田中俊弘*¹, 大場幸次*², 川原一仁*³, 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

Natural Medicines, 49, 418~424 (1995)

麻黄は, 中国, パキスタン, ロシアなどから輸入される重要な生薬である. 市場品現状の把握を目的に, 過去 19 年間に輸入された生薬麻黄について, エフェドリン系アルカロイドを測定し, 多くの場合主アルカロイドは ephedrine および pseudoephedrine であること, アルカロイド組成に地域差が認められ甘肅省, 青海省からの輸入品で pseudoephedrine 含量が高いことを明らかにした.

Keywords: *Ephedra* spp., crude drug, alkaloid

*¹ 岐阜薬科大学

*² アスゲン製薬

*³ 日野薬品

酒井英二, 柴田敏郎, 川村智子*¹, 久田陽一*¹, 野呂征男*¹, 吉田将士*², 田中俊弘*³: ジュウヤクの生薬学的研究 (2), 遮光条件下で栽培したドクダミの生育およびフラボノイド配糖体含量

Natural Medicines, 50(1), 45~48 (1996)

ドクダミ, *Houttunyyia cordata* THUNB. は, 利尿, 消炎剤として民間で利用されており, 生薬『ジュウヤク』として日本薬局方に収載されている. しかし, その栽培に関する研究は少ない. 今回, 植物の生育に大きな影響を与える光条件について検討し, 遮光することでフラボノイド配糖体含量が低くなることを明らかにした.

Keywords: *Houttunyyia cordata*, cultivation, flavonoid

glycoside content

- *1 名城大学薬学部
*2 本草製薬(株)
*3 岐阜薬科大学

Tada, H.*¹, Shimomura, K. and Ishimaru, K.*:
Polyacetylenes in hairy root of *Lobelia chinensis*
LOUR.

J. Plant Physiology, 146, 199~202 (1995)

Agrobacterium rhizogenes ATCC15834 により誘導したロベリア毛状根を、植物ホルモン無添加 Murashige-Skoog, Gamborg B5, Woody Plant, Root Culture 培地で培養し、ポリアセチレン類, lobetyol, lobetyolin, lobetyolinin の生産を検討したところ、Woody Plant 培地、暗所で培養した毛状根がもっとも高い生産量を示した。照明下で培養すると緑化が認められたが、生育およびポリアセチレン生産への影響は認められなかった。

Keywords: *Lobelia chinensis* LOUR., hairy roots, polyacetylene

- * 佐賀大学農学部

Ishimaru, K.*¹, Nishikawa, K.*¹, Omoto, T.*², Asai, I.*³, Yoshihira, K.*³ and Shimomura, K.: **Two flavone 2'-glucosides from *Scutellaria baicalensis***

Phytochemistry, 40, 279~281 (1995)

コガネバナの根のメタノール-水エキスから、二種の新規フラボン配糖体、5, 2', 6'-trihydroxy-6, 7, 8-trimethoxyflavone 2'-O-glucoside と 5, 2', 6'-trihydroxy-6, 7-dimethoxyflavone 2'-O-glucoside を単離構造決定した。また、同エキスから七種のフェノール類、5, 7, 2', 6'-tetrahydroxyflavone, 5, 7, 2', 5'-tetrahydroxy-8, 6'-dimethoxyflavone, skullcapflacon II, baicalin methyl ester, wogonin 7-glucuronide, 3, 5, 7, 2', 6'-pentahydroxyflavonone を単離した。

Keywords: flavone, *Scutellaria baicalensis*

- *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

Ishimaru, K.*¹, Omoto, T.*², Asai, I.*³, Ezaki, K. and Shimomura, K.: **Taxifolin 3-arabinosides from *Fragaria x ananassa***

Phytochemistry, 40, 345~347 (1995)

イチゴの根から、新規フラボノイド、(+)-taxifolin 3-O- α -L-arabinofuranoside を単離し、化学的性状および分光学的データより構造決定をした。また、この根から、加水分解型タンニンである pedunculagin と縮合型タンニン類、(+)-catechin, (+)-afzelechin-(4 α -8)-(+) -catechin, procyanidin B3, procyanidin B-6 を単離した。

Keywords: *Fragaria x ananassa*, flavonoid, tannin

- *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

Umetsu, H.*¹, Wake, H.*², Saitoh, M.*², Yamaguchi, H.*³ and Shimomura, K.: **Characteristics of cold-preserved embryogenic suspension cells in Fennel, *Foeniculum vulgare* MILLER**

J. Plant Physiology, 146, 337~342 (1995)

不定胚形成能を有するウイキョウの懸濁培養細胞を、4℃で一定期間保存した後25℃で二週間培養し、低温保存

がその後の細胞の性質に与える影響を調べた。低温保存期間が長くなるにつれて、その後25℃で培養したときの生育が不良となり、不定胚形成能の著しい低下が認められた。2, 4週間の低温保存を行った細胞は、正常な不定胚形成およびその後の植物体再生が認められ、また、低温処理を行っていない細胞から得られた対照群の不定胚と同レベルのアネートルが検出されたが、得られた不定胚は、対照群とは異なったアイソザイムパターンを示した。

Keywords: *Foeniculum vulgare*, somatic embryogenesis, cold-preservation

- *1 青森大学工学部
*2 べんてる(株)中央研究所
*3 佐賀県農業指導所

Yamanaka, M.*¹, Shimomura, K., Sasaki, K., Yoshihira, K.*² and Ishimaru, K.*¹: **Glucosylation of phenolics by hairy root cultures of *Lobelia sessilifolia***

Phytochemistry, 40, 1149~1150 (1995)

高い配糖化能を有するロベリア毛状根に、4種のフェノール類を基質として与え、生物変換反応を調べた。その結果、(-)-epicatechin あるいは protocatechuic acid を投与したロベリア毛状根から、新規配糖体、7-O- β -D-glucopyranoside と protocatechuic acid 3-O- β -D-glucopyranoside をそれぞれ単離構造決定した。

Keywords: *Lobelia sessilifolia*, hairy root culture, biotransformation

- *1 佐賀大学農学部
*2 東亜大学大学院

Tanaka, N.*¹, Shimomura, K. and Ishimaru, K.*: **Tannin production in callus cultures of *Quercus acutissima***

Phytochemistry, 40, 1151~1154 (1995)

クヌギのカルスから、13種類のフェノール類、(+)-catechin, gallic acid, β -glucogallin, gallic acid 3-O- β -D-glucopyranoside, 1, 2, 3, 4, 6-penta-O-galloyl- β -D-glucopyranoside, 1-desgalloyleugeniin, eugeniin, pedunculagin, 1-O-galloylpedunculagin, casuarinin, stachyurin, castalagin, vescalagin を単離した。培地から硝酸アンモニウムを除くと、カルスの生長量およびタンニン類の生産量が増加した。IAA と BA を組み合わせて添加し、5%のしょ糖を含むMS培地で培養したカルスは良好に生育し、最も高いタンニン類含量を示した。

Keywords: *Quercus acutissima*, tannin, callus

- * 佐賀大学農学部

Asai, I.*¹, Yoshihira, K.*¹, Omoto, T.*² and Shimomura, K.: **Growth and essential oil production in shoot culture and regenerates of *Anthemis nobilis* L.**

Plant Tissue Culture Letters, 12, 303~311 (1995)

ローマカミツレの若芽から、シュート培養を確立し、精油生産について検討した。ローマカミツレの精油の主成分は angelate 類であることが知られているが、シュート培養では angelate 類とともに geranyl isovalerate が多く生産された。また、無菌植物体の根には angelate 類は検出されず、geranyl isovalerate が認められた。無菌植物体を鉢に植え出して栽培すると、栽培期間が長くなるとともに isobutyl angelate が主精油成分となり、geranyl isovalerate 含量は徐々に低下した。

Keywords : *Anthemis nobilis* L., essential oil, shoot culture

- *1 東亜大学大学院
*2 三栄源エフエフアイ

Yamazaki, M.*¹, Sato, A.*¹, Shimomura, K., Inoue, K.*², Ebizuka, Y.*², Murakoshi, I.*¹ and Saito, K.*¹: **Extraction of DNA and RAPD analysis from dried licorice root**

Natural Medicines, 49, 488~490 (1995)

Glycyrrhiza 属植物の生薬より酸性バッファーおよび CTAB 法を用いて DNA を抽出し, RAPD 分析を行った。生薬と栽培植物を分析した結果, RAPD 分析により販売されている甘草の植物学的同定も可能なことが判った。

Keywords : DNA extraction, random amplified polymorphic DNA (RAPD), *Glycyrrhiza* sp.

- *1 千葉大学薬学部
*2 東京大学薬学部

Sakamoto, K.*¹, Shimomura, K., Komeda, Y.*², Kamada, H.*¹ and Satoh, S.*¹: **A male-associated DNA sequence in a dioecious plant, *Cannabis sativa* L.**

Plant Cell Physiol., 36, 1549~1554 (1995)

性染色体があるといわれている雌雄異株植物アサにおける雄性関連した DNA シークエンスの解析を行った。雄株および雌株それぞれから, DNA を単離し, RAPD 分析を行った。雄株だけに認められた 500 および 730 bp の DNA フラグメントをプローブとして染色体 DNA とのハイブリダイゼーションを行ったところ, 730 bp の DNA フラグメントをプローブとして用いた場合に雄株特有の強いバンドが検出された。このフラグメントは, これまでに報告されてきたシークエンスとは全く異なった配列を持ち, MACDC1 (male-associated DNA sequence in *Cannabis sativa*) と命名した。

Keywords : *Cannabis sativa*, polymorphic DNA, sex chromosome

- *1 筑波大学生物科学系
*2 北海道大学理学部

Zhiri, A.*¹, Jaziri, M.*¹, Guo, Y.*¹, Vanhaelen-Fastré, R.*¹, Vanhaelen, M.*¹, Homès, J.*¹, Yoshimatsu, K. and Shimomura, K.: **Tissue cultures of *Taxus baccata* as a source of 10-deacetylbaconin III, a precursor for the hemisynthesis of Taxol**

Bio. Chem Hoppe-Syler, 376, 583~586 (1995)

10-succinyl-10-deacetylbaconin III を抗原とする抗体を用いた ELISA 法を確立し, ヨーロッパイチイ (*Taxus baccata*) のカルス培養による 10-deacetylbaconin III (抗癌剤 Taxol の前駆体) 生産について検討した。その結果, 葉から誘導したカルスのエキスに最も高い含量が認められた。

Keywords : ELISA, taxoids, *Taxus* sp.

- * ブリュッセル自由大学

Yamanaka, M.*¹, Ishibashi, K.*¹, Shimomura, K. and Ishimaru, K.*¹: **Polyacetylene glucosides in hairy root of *Lobelia cardinalis***

Phytochemistry, 41, 183~185 (1996)

北アメリカ原産のキキョウ科植物 *Lobelia cardinalis* の毛状根を誘導し, polyacetylene 類の生産を検討した。ホ

ルモン無添加 MS 培地 (50 mL) で培養した所, 配糖化された lobetyolin および lobetyolinin をそれぞれフラスコ当たり約 19 mg と 25 mg を生産し, 配糖化能が最も高いことが判明した。

Keywords : *Lobelia cardinalis*, hairy root culture, polyacetylene glucoside

- * 佐賀大学農学部

Ozeki, Y.*¹, Wake, H.*², Yoshimatsu, K. and Shimomura, K.: **A rapid Method for Genomic DNA Preparation from Dried Materials of genus *Panax* for PCR Analysis**

Natural Medicines, 50, 24~27 (1996)

GTC 溶液を抽出バッファーとし *Panax ginseng*, *P. japonicus*, *P. quinquefolium* の乾燥試料からゲノム DNA を効率よく抽出できることを明らかにし, *P. ginseng* のカルスと親植物の根のゲノム DNA が同一の RAPD PCR パターンを示すことを明らかにした。

Keywords : genomic DNA, guanidine isothiocyanate, *Panax*

- *1 東京大学教養学部
*2 べんてる(株)中央研究所

Inoue, K.*¹, Shimomura, K., Kobayashi, S.*¹, Sankawa, U.*¹ and Ebizuka, Y.*¹: **Conversion of furostanol glycoside to spirostanol glycoside by β -glucosidase in *Costus speciosus***

Phytochemistry, 41, 725~727 (1996)

Diosgenin リッチである *Costus speciosus* が furostanol glycoside である protogracillin から spirostanol glycoside である gracillin に変換する β -glucosidase を含むことを見だし, 本酵素の性質を調べた。

Keywords : *Costus speciosus*, post-harvest hydrolysis, β -glucosidase

- * 東京大学薬学部

Tada, H.*¹, Ikeda, Y.*², Omoto, T.*³, Shimomura, K. and Ishimaru, K.*¹: **Rosmarinic acid and related phenolics in hairy root cultures of *Ocimum basilicum* L.**

Plant Tissue Culture letters, 13, 69~71 (1996)

Ocimum basilicum (スイートバジル) の不定根は 8 週間培養で約 6.8% の rosmarinic acid を, また約 0.5% lithospermic acid を生産し, 親植物より高い含量であることを報告した。

Keywords : *Ocimum basilicum* L., rosmarinic acid, adventitious root cultures

- *1 佐賀大学農学部
*2 佐賀県農業指導所
*3 三栄源エフエフアイ

Motoyama, E.*¹, Tada, H.*¹, Shimomura, K., Yoshihira, K.*² and Ishimaru, K.*¹: **Caffeic acid esters in tissue cultures of *Heliotropium peruvianum***

Plant Tissue Culture letters, 13, 73~74 (1996)

ヘリオトロープ (*Heliotropium peruvianum*) の植物体, 茎葉および不定根培養における抗酸化物質の生産を比較し, 特に培養した茎葉に rosmarinic acid の含量が高いことを明らかにした。

Keywords : *Heliotropium peruvianum*, caffeic acid esters, tissue cultures

*1 佐賀大学農学部

*2 東亜大学大学院

Tada, H.*1, Terahara, N.*2, Motoyama, E.*1, Shimomura, K. and Ishimaru, K.*1: **Anthocyanins in *Lobelia chinensis* hairy roots**

Plant Tissue Culture letters, **13**, 85~86 (1996)

Lobelia chinensis の毛状根を照明下で培養すると anthocyanin 類が生産されることを見いだした。2種の anthocyanin を HPLC にて分離定量した結果、B5 培地で培養した毛状根が最も生産することを明らかにした。

Keywords : *Lobelia chinensis*, hairy root cultures, anthocyanins

*1 佐賀大学農学部

*2 南九州大学園芸学部

Ishimaru, K.*1, Yamaguchi, Y.*1, Shimomura, K. and Yoshihira, K.*2: **Polyacetylene production in hairy root cultures of *Lobelia inflata***

Japanese J. Food Chemistry, **2**, 80~84 (1996)

Lobelia inflata 毛状根を Root Culture 培地を用い種々の培養条件 (培地組成: 金属イオン, 添加物, 光等) を検討した結果, ミオイノシトールの添加が最も生育とポリアセチレン類生産を改善することを明らかにした。

Keywords : *Lobelia inflata*, hairy root cultures polyacetylene

*1 佐賀大学農学部

*2 東亜大学大学院

Yoshimatsu, K., Yamaguchi, H.*1, Shimomura, K.: **Traits of *Panax ginseng* hairy roots after cold storage and cryopreservation**

Plant Cell Reports, **15**, 555~560 (1996)

オタネニンジン毛状根の低温およびガラス化法による低温保存について検討した。低温保存期間中は全く根の成長が認められなかったが、25℃でさらに培養すると生育が開始し、4カ月間の保存後においても、根の成長が観察された。しかし、2カ月間以上の低温保存後では、側根の形成が著しく阻害された。一方、根の先端を 0.3 M sucrose と 0.1 mg/l 2,4-D を含む培地で3日間前培養し、ガラス化法で液体窒素に保存した毛状根は、15週間の保存後においても、54%の再生率を示し、25℃で継代培養を行っている対照群と同様、良く生育し、同じジンセノシドパターンおよび含量を示した。

Keywords : *Panax ginseng*, cryopreservation, hairy roots

* 佐賀県薬業指導所

青柳伸男: 製剤の新しい評価

薬事新報, No. 1883, 9~13 (1996)

溶出試験法はバイオアベイラビリティと関連する製剤の重要な試験法である。製剤の新しい評価法に関して溶出試験による製剤評価法を取り上げ、溶出速度とバイオアベイラビリティとの相関性、日局における溶出試験の位置づけ、生物学的同等性評価に果たす溶出試験の役割と有用性について紹介した。

Keywords : dissolution test, bioavailability, bioequivalence

鹿庭なほ子: 分析法バリデーションについて

医薬品研究, **26**, 1002~1023 (1995)

ICH の「分析法バリデーションに関するテキスト」が step 5 に達したのに伴い、医薬品の品質に関する分析法バリデーションの考え方を、以下の観点から解説した。

1.ICH の分析法バリデーションの特徴, 2.分析法バリデーションの目的と意義, 3.対象となる試験法と検討が必要な分析能パラメータ, 4.実施方法

Keywords : Validation of analytical procedures, ICH, validation characteristics

香取典子: 第十三改正日本薬局方の改正点/含量均一性試験および重量偏差試験

薬局, **47**, 721~726 (1996)

第13改正日本薬局方の含量均一性試験および重量偏差試験法の改正案について、案の概要を述べ、改正点の統計的背景等を解説した。

Keywords : content uniformity test, weight variation test, Japanese Pharmacopoeia

Izutsu, K. and Yoshioka, S.: **Stabilization of protein pharmaceuticals in freeze-dried formulations**

Drug Stability, **1**, 11~21 (1995)

タンパク質溶液の凍結、凍結乾燥、保存時の失活機構と添加剤による安定化について考察した。各段階においてタンパク質失活の原因となる物理化学的ストレスについて解説し、添加剤による安定化のメカニズムに関する文献を紹介した。

Keywords : freeze-drying, protein formulation, stability

最所和宏, 石橋無味雄: 医薬品の迅速分析法—β-アドレナリン遮断薬—

月刊薬事, **37**(8), 141~145 (1995)

厚生省薬務局監視指導課の研究班において国立衛生試験所が作成した原案を東京医薬品工業会および大阪医薬品協会にて検討を加え、その結果に基づき作成されたβ-アドレナリン遮断薬の HPLC 法による迅速分析法の概要および試験法を実施するにあたっての注意点等を解説した。

Keywords : β-adrenergic blocker, rapid analysis, HPLC

中原雄二: 毛髪分析による薬物乱用歴の推定

ぶんせき, **10**, 823~829 (1995)

毛髪薬物分析の基本操作を説明し、次いで、以下の項目で毛髪分析による薬物乱用歴の推定について述べた。

(1)毛髪分析の基本 (毛髪について、表面洗浄、分画、抽出法、標準的分析方法 (覚醒剤の例)), (2)毛髪中での薬物の挙動 (毛髪の成長の結果), (3)覚醒剤乱用者の毛髪分析 (毛髪中の薬物分布と薬物使用歴), (4)毛髪中の薬物の安定性, (5)毛髪分析による薬物依存症の診断への試み (薬物使用量と毛髪中薬物濃度の相関, 覚醒剤依存状態の診断), (6)妊婦の薬物乱用と胎児, (7)コカイン, ヘロイン, 多剤乱用, (8)最長過去の部位の検出

Keywords : hair analysis, drug monitoring, drug abuse

川西 徹: 高速走査型共焦点レーザー顕微鏡による細胞内カルシウムイオン濃度のリアルタイムイメージング

現代医療, **3**, 79~81 (1996)

蛍光プローブと蛍光顕微鏡画像解析法による細胞内カルシウムイオン濃度の画像化において、測定機器として高速走査型共焦点レーザー顕微鏡を用いて、空間分解能と時間分解能を両立させながらリアルタイム高分解能画像取得技術を完成させた経緯、画像化例、および将来展望について述べた。

Keywords : confocal microscopy, calcium, imaging

早川堯夫：バイオテクノロジー応用医薬品の品質

月刊薬事, 38, 955~959 (1996)

バイオテクノロジー応用医薬品の品質に関する ICH-3 のトピックスであった 1) ヒトおよび動物細胞株由来のバイオテク製品のウイルス面からみた安全性確保問題, 2) 組換え DNA 応用タンパク質の生産に用いる細胞中の遺伝子発現構成体の分析や安定性評価問題, 3) バイオテクノロジー応用製品/生物起源由来製品の安定性試験のあり方, 4) バイオテクノロジー応用製品/生物起源由来製品の生産に用いられる細胞基材の由来に関する必要条件, 細胞バンクの樹立と特性解析問題について, それぞれのトピックスの ICH-3 での成果と進展, 今後の課題について論述した。

Keywords : ICH-3, biotechnology drug, viral safety

佐竹元吉：第一三改正日本薬局方の改正点 生薬・生薬製剤および油脂関連の改正点

薬局, 47(5), 737~840 (1996)

薬局方の生薬・生薬製剤および油脂関連の改正点を述べた。新規収載はアカメガシワ, インチンコウ, ウイキョウ末, サンヤク末, チョレイ末, トウニン末, トコンシロップの7品目で, その他は既収載品目における一部の改正である。改正の内容としては, (1)成分規格の充実を図り, 定量法を改正および成分含量測定法を新設, (2)基原植物を追加または削除, (3)性状の記載内容を統一又は一部変更し, 成分含有量に関する記載を削除, (4)確認試験の記載を追加・変更し, 有害試薬を削除, (5)成分定量法の充実に伴い乾燥減量を新設又は乾燥時間を追加, (6)醸造の恐れのある生薬には純度試験を新設, (7)別名の漢字を利用しやすい文字に変更, 等である。

Keywords : herbal medicinals, oil and fats, pharmacopoeia

佐竹元吉：伝統薬の更なる発展を求めて

JICWES news, 156(1), 2~5 (1996)

「伝統薬の品質保証」と題して, 第6回必須医薬品製造管理研修ワークショップ [平成7年11月1日, 東京] の総括報告である。参加者はフィリピン, マレーシア, インドネシア, スリランカ, ベトナム, 中国, タイ, ラオス, モンゴル, ミャンマーの10カ国で, 検討された内容をまとめあげた。

1. 薬局方の問題 (伝統薬または原料生薬を薬局方に収載することが必要である。薬局方を有しない国では, 薬品全般に関して薬局方を制定する必要がある)。

2. 伝統薬の規格の国際調和 (同一の生薬, または類似した生薬を用いる国が多いので, 原料生薬の規格のハーモナライゼーションは伝統薬の円滑な流通の面からも必要である)。

3. 微生物汚染および残留農薬 (伝統薬は天然の素材を用いるので, 最終製品における微生物汚染および残留農薬の試験を行い, 安全性を確保する必要がある。また, これらの規制値を作る必要がある)。

Keywords : herbal medicinals, traditional medicines, quality control

中村晃忠：ヘルスケア技術分野における国際規格・基準づくりの ISO/IEC 指針案 (訳)

生体材料, 13, 37~42 (1995)

国際標準化機構 (ISO) などの場で医療用具の国際規格・基準作成あるいは国際調和作業が盛んになっているが,

このような人の保健増進を目的とする製品の規格・基準づくりの一般指針 (案) である。ISO/IEC Publication 51「安全性基準に安全性に関する事項を含めるためのガイド」を補足したもので, これからの国際基準づくりの方向性を決める文書であると考え, 翻訳した。

Keywords : ISO, standardization, health-care products

中村晃忠：プラスチック製医薬品容器および同試験法 薬局, 47, 703~705 (1996)

JPXII の「輸液用プラスチック容器試験法」を改め, JPXIII に「参考情報：プラスチック製医薬品容器」と「一般試験法：プラスチック製医薬品容器試験法」を設定したが, その背景と内容を解説した。

Keywords : JPXIII, plastic containers

中村晃忠：欧州規格案「医療用具のリスク分析」について (翻訳)

生体材料, 14, 86~93 (1996)

現在, 国際標準化機構第210技術委員会 (ISO/TC210) で議論されている課題の原案を翻訳した。医療用具に関する EC 指令の文章「医療用具のリスクは許容されるものでなければならない。」を判断するためのスキームを示したものである。

Keywords : ISO/TC210, risk analysis, medical devices

新谷英晴：BIER の有用性, デルフト会議報告

ファーマテックジャパン, 12, 627~634 (1996)

1995年10月に開催された第8回 ISO 東京会議後の議論の続きを ISO/TC198/WG4 のグループのみで1996年2月にオランダデルフト市に於いて ISO/WD14161 を CD にするための TC198/WG4 会議が開かれた。その結果を基に解説した。

Keywords : biological indicator, BIER, ISO

新谷英晴：BI のバリデーションの検討経過

ファーマテックジャパン, 12, 351~353 (1996)

生物指標を用いて滅菌する際のバリデーションを ISO ドキュメントを基に解説した。

Keywords : biological indicator, validation, ISO

新谷英晴：蒸気滅菌に用いる迅速滅菌生物指標

防菌防微, 23, 658 (1995)

高圧蒸気滅菌の滅菌保証に *Bacillus stearothermophilus* (*B. stearothermophilus*) を濾紙担体に塗布したペーパーストリップ BI (バイオロジカルインジケーター, 生物指標) が一般に用いられている。この場合滅菌効果の結果を得るまでに数日間培養しなければならない。Rapid sterility indicator は *B. stearothermophilus* に特有の酵素を抽出し, それをカプセル内に固定化してガラス管に入れそこに 121°C 0~15 分間蒸気滅菌を行った後, 別に用意した試験液添加し, 10 秒後のカプセルの色調の変化より滅菌の達成度を判定するものである。迅速法と従来法を比較したところ生残曲線は殆ど近似し (相関係数 0.99) それゆえ得られる D 値もほぼ同じであった。このことは迅速 BI が従来の BI と同様に使用できることを意味する。迅速 BI の利点は培養を必要としないために迅速に結果が得られるため出荷速度が早まること, 操作が簡単なこと, 精度が従来法に比べ遜色ないこと, 培地が不要なため BI の培地への無菌操作が不要なこと, 培地が不要なため全体的なコストダウンが達成される等である。

Keywords : biological indicator, autoclave sterilization,

B. *stearothermophilus*

新谷英晴：高圧蒸気滅菌に用いる培養を要しない新規生物指標製品について

医科器械学会誌, 65, 491 (1995)

高圧蒸気滅菌の滅菌保証に *Bacillus stearothermophilus* (B. *stearothermophilus*) ATCC7953 等を濾紙担体に塗布したバイオロジカルインジケータ (生物指標, BI) が一般に用いられている。NAMSA (株)より市販されている Rapid sterility indicator[®] と言われる 121°C 高圧蒸気滅菌用 BI キットは *B. stearothermophilus* に特有の酵素を抽出し、カプセルに酵素を固定化し、それをガラス管に入れ蒸気が通るためのゴム栓を施す。

それに 121°C 0~15 分間蒸気滅菌を行った後、別に用意した試液を 5 滴添加し、10 秒後のカプセルの色調より滅菌の有効性の有無を判定する。

この結果と生物指標評価装置 (BIER) を用いた従来の *B. stearothermophilus* を塗布した BI との結果を比較すると生残曲線は殆ど近似し (相関係数 0.99) それゆえ得られる BI の D 値もほぼ同じであった。Rapid sterility indicator[®] の利点は培養を必要としないために迅速に結果が得られそのため出荷速度が早まること、操作が簡単なこと、精度が従来法に比べ遜色ないこと、培養が不要なため無菌操作が不要なこと、培地が不要なため全体的なコストダウンが達成されること等の利点が挙げられる。

Keywords : biological indicator, autoclave sterilization, moist heat sterilization

Shintani, H.: Formation and elution of toxic compounds from irradiated medical products

Journal of Biomaterials Applications, 10, 23~58 (1995)

ポリウレタンの製造でイソシアネートの組成ならびにポリオール組成ならびに分子量を変えた物にガンマ線照射滅菌、高圧蒸気滅菌、エチレンオキサイド滅菌を行い組成の差ならびに滅菌の違いによる毒性化合物の生成の違いを調べた。

Keywords : gamma-ray irradiation sterilization, autoclave sterilization, ethylene oxide sterilization

Shintani, H.: Formation and residue of toxic compound in sterilized medical products

Radiation Physics Chemistry, 47, 139~148 (1996)

熱硬化性ならびに熱可塑性ポリウレタンに放射線滅菌ならびに高圧蒸気滅菌を行い 4, 4'-メチレンジアニリン (MDA) ならびにその他の変異原性化合物の生成について検討し、毒性化合物の生成の観点から医療用具に対する放射線滅菌あるいは高圧蒸気滅菌の有用性を比較した。

Keywords : gamma-ray irradiation sterilization, autoclave sterilization, methylenedianiline

松村年郎：化学物質による室内空気汚染について
空気清浄, 33, 59~69 (1995)

近年、chemical sensitivity (CB), sick building syndrome (SBS) に関連して、化学物質による室内空気汚染が世界的に注目を集めている。本論文においては、室内空気汚染の経緯、室内発生源の種類、挙動と分布、ヒトへの影響、各国のガイドラインの状況等を著者らの研究報告および内外の文献等を参考に解説した。

Keywords : indoor air pollution, volatile organic compounds (VOC)

村山三徳、齋藤行生：畜水産食品に残留する動物用医薬品の試験法 (その1)—オキシテトラサイクリンの試験法—

食品衛生研究, 46(3), 7~15 (1996)

平成7年度食品衛生法の改正に伴い新たに規格基準の設定された食品中の抗生物質、オキシテトラサイクリンの試験方法について、公定法としての基本的考え方、試験法設定の経緯、試験実施にあたっての注意点などを解説した。

Keywords : oxytetracycline, official analytical method

村山三徳、齋藤行生：畜水産食品に残留する動物用医薬品の試験法 (その2)—イベルメクチン、クロサントル、フルベンダゾールの試験法—

食品衛生研究, 46(4), 53~65 (1996)

平成7年度食品衛生法の改正に伴い新たに規格基準の設定された食品中の内寄生虫用剤、イベルメクチン、クロサントル、フルベンダゾールの試験方法について、試験法設定の経緯、試験実施にあたっての注意点などを解説した。

Keywords : ivermectin, closantel, flubendazole

村山三徳、齋藤行生：畜水産食品に残留する動物用医薬品の試験法 (その3)—ゼラノール、トレンボロンの試験法—

食品衛生研究, 46(5), 7~15 (1996)

平成7年度食品衛生法の改正に伴い新たに規格基準の設定された食品中のホルモン剤、ゼラノール、トレンボロンの試験方法について、試験法設定の経緯、試験実施にあたっての注意点および試験法の精度などについて解説した。

Keywords : zeranol, trenbolone

Ishiwata, H.: Imported food safety assurance

Bull. Dept. Med. Sci., 37, 367~375 (1995)

わが国における輸入食品の検査を例に、食品衛生の傾向と対策について解説した。内容は、輸入食品特有の問題点、輸入手続きと検査、違反事例、安全確保のための方法等である。

Keywords : imported food, inspection, food safety

河村葉子：照射食品検知法の現状

放射線と産業, 69, 29~33 (1996)

照射食品検知法の開発の経緯、試験法としての必要条件および現在開発が進められている ESR 法、熱発光法、PSL 法、インピーダンス法、粘度測定法、揮発性炭化水素法、シクロブタノン法、DNA 法、免疫化学的検出法、DEFT/APC 法、Half-embryo 法について、原理、測定方法、検出限界、対象食品等を紹介するとともに、将来の見通しについても述べた。

Keywords : food irradiation, detection methods, thermoluminescence

山田 隆：食品衛生法の改正と食品添加物

衛生化学, 42, 115~120 (1996)

1947年に制定された食品衛生法が1995年5月に改正された。1982年の改正から20年以上が経過し、この間の食をとりまく環境の変化のため、改正が必要となった。最も大きな変化は、食習慣の変化であり他は輸入食品の量や種類の増加である。人々の健康に関する関心が増し、食事に気を配る人が多くなったこともある。旧法に較べると、改正法で最も重要な変更になった点は、いわゆる「天然添加物」に付いてである。すなわち、改正法施行後は、新しい「天然添加物」を使用する際には厚生大臣の許可が必要と

なる。

改正法施行後は、食品添加物は、以下の4つのグループから成ることになる。「指定添加物(化学的合成品および法改正後の天然添加物を含む)」、「既存天然添加物」、「天然香料」、「一般に食品として使用される添加物」である。「既存天然添加物」のリスト、「天然香料基原物質」および「一般に食品として使用される添加物」の例をあげたリストが出版されている。これらいずれの添加物も、使用した際には原則として表示が必要である。

Keywords : food additives, food sanitation law, natural food additives

手島玲子：**FcεR1のシグナル伝達機構**

アレルギー科, 1(2), 177~184 (1996)

マスト細胞や好塩基球細胞上に存在し、アレルギー発症の要となる高親和性IgE受容体(FcεR1)の構造と受容体の架橋形成を介する情報伝達機構について主として細胞膜上およびその近傍でおこる現象について記述し、さらに核への情報の伝達される可能性、ならびに細胞からのケミカルメディエータの放出について概説した。

Keywords : IgE receptors, mast cell, allergy

澤田純一, 田中東一：**イムノアッセイ**

分析, 1996(4), 277~284 (1996)

ラジオイムノアッセイやエンザイムイムノアッセイの新しい試薬や方法に関する最近の進歩を、抗体工学的手法を含めて解説した。

Keywords : immunoassay, antibody

三瀬勝利：**食品衛生上の国際問題**

家庭科学, 62, 35~41 (1995)

食品病害の現状や輸入食品を巡る食品衛生上の問題を論ずると共に、食品衛生上の規制や試験法の差がもたらす国際間のトラブルについても解説した。こうした現状を踏まえ、相互依存の世界の中で日本がなさねばならないと思うことを言及した。

Keywords : food-poisoning bacteria, imported foods, standard methods of analysis in food safety regulation

三瀬勝利：**非無菌製剤の微生物限度試験法**

防菌防微誌, 23, 355~361 (1995)

JP12局第二追補で新設された非無菌製剤のための微生物限度試験法の全体的な解説を行った。併せて将来設定される可能性のある微生物限度基準ガイドラインについても私見を述べた。

Keywords : Microbial Limit Tests, JPXII suppl. 2

三瀬勝利：**第十二改正日本薬局方第二追補。一般試験法(微生物限度試験法, 無菌試験法)**

医薬品研究, 26, 310~325 (1995)

JP12局第二追補で新設・改訂された微生物限度試験法と無菌試験法について解説を加えた。また、JPXIIIにむけて進行中の微生物試験法についてそのアウトラインを紹介した。

Keywords : JPXII suppl. 2, Microbial Limit Tests, Sterility Tests

三瀬勝利：**日本薬局方関連情報誌とその利用について。微生物限度試験法**

医薬品研究, 26, 494~499 (1995)

微生物限度試験法に関連して、生菌数測定のための自動

化法、最確数法、培地の性能試験に利用される菌株、培地の同一性等に解説を加えた。

Keywords : Microbial Limit Tests, rapid methods, standard type strains for validation

小沼博隆, 品川邦汎^{*1}, 熊谷進^{*2}：**サルモネラ食中毒と鶏卵**

モダンメディア, 41, 230~244 (1995)

最近における鶏卵とサルモネラエンテリティディス(SE)食中毒の調査研究の中から、特に国内外のSE食中毒事例や卵の加工・流通段階および卵製品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、①SE食中毒発生事例、②感染鶏卵による卵のSE汚染、③殻付卵中でのSEの増殖、④卵殻通過によるサルモネラ汚染と侵入性、⑤鶏卵の保存による卵中身の細菌の増殖、⑥殻付き卵のサルモネラ汚染防止対策および⑦卵製品の衛生管理などである。

Keywords : *Salmonella enteritidis*, liquid egg, penetration

^{*1} 岩手大学

^{*2} 国立予防衛生研究所

小沼博隆：**市販カット野菜の微生物汚染状況**

食品衛生研究, 45, 25~37 (1995)

カット野菜の歴史、製造方法、微生物汚染状況と微生物叢および衛生管理について解説した。主な項目は、①カット野菜の製造工程、②一般細菌数、③大腸菌群、④大腸菌、⑤セレウス菌、⑥黄色ブドウ球菌、⑦微生物叢および⑧衛生管理などである。

Keywords : fresh vegetable, microflora, *Bacillus cereus*

小沼博隆：**細菌の検出・測定法の簡易、迅速、自動化機器の現状**

ジャパンフードサイエンス, 35, 25~39 (1996)

食品の日常の微生物検査に活用あるいはその使用が期待される代表的な簡易、迅速、自動化機器類について、その原理、特徴、長所と注意点、適応食品および機器名などを中心に解説した。主な項目は、①従来の微生物検査法を簡易、迅速、自動化した方法、②新しい原理に基づいて微生物検査法を簡易、迅速、自動化した方法および③微生物同定自動化機器などである。

Keywords : HACCP, rapid method, automation

熊谷進^{*1}, 小久保彌太郎^{*2}, 小沼博隆, 豊福肇^{*3}：**危害分析重要管理点(HACCP)システムによる食品の衛生管理**

食衛誌, 37, J1~J7 (1996)

食品の衛生管理の方法として米国で開発されたHACCP(Hazard Analysis Critical Control Point)システムについて、危害分析と重要管理点を中心に総論的に解説した。主な項目は、①HACCPシステムの経緯、②HACCPシステムの基本概念、③従来の衛生管理方法との比較における特徴、④HACCPシステムによる管理計画作成の準備、⑤危害分析方法、⑥HACCP方式による管理に先だって必要な一般的な衛生要件、⑦重要管理点、⑧管理基準、⑨モニタリング法、⑩改善措置、⑪検証方法、⑫記録方法および⑬人的体制などである。

Keywords : HACCP, critical limit, verification

^{*1} 国立予防衛生研究所

^{*2} 都立衛生研究所

^{*3} 国立公衆衛生院

熊谷 進*¹, 小沼博隆, 小久保彌太郎*², 豊福 肇*³:
危害分析重要管理点 (HACCP) システムによる食品の衛生管理

食品衛生研究, 45, 23~40 (1995)

食品の衛生管理の方法として米国で開発された HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) について, 危害分析と重要管理点を中心に総論的に解説した。主な項目は, ① HACCP システムの経緯, ② HACCP システムの基本概念, ③従来の衛生管理方法との比較における特徴, ④危害分析方法, ⑤ HACCP 方式による管理に先だてて必要な一般的な衛生要件, ⑥重要管理点, ⑦管理基準, ⑧モニタリング法, ⑨改善措置, ⑩検証方法, ⑪記録方法および⑫人的体制などである。

Keywords: HACCP, critical limit, verification

*¹ 国立予防衛生研究所

*² 都立衛生研究所

*³ 国立公衆衛生院

神保勝彦*¹, 片岡 潤*¹, 小久保彌太郎*¹, 小沼博隆,
 近藤房生*²: **畜水産食品中の残留抗菌性物質検査における微生物学的簡易検査法の検出感度**

食衛誌, 36, 525~531 (1995)

平成6年7月1日, 厚生省「畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査の実施」が通知された。本通知では, 残留抗菌性物質検査は微生物学的簡易検査法(簡易検査法)でスクリーニングし, 陽性になった食品については分別推定法(簡易系統別検査法)で残留抗生物質を系統別に同定する方法が採用されている。しかし, 分別推定法の各抗生物質に対する検出感度については明らかにされているが, 簡易検査法の検出感度については不明である。そこで, 現在動物用医薬品として使用が許可されている抗生物質の中から代表的な36種類を選び, それら抗生物質に対する簡易検査法の検出感度を食肉および魚介類を対象に調べ, 以下の結果を得た。

1. ペニシリン系抗生物質に対する検出感度は0.2~12.5 µg/gであった。
2. セフェム系抗生物質に対する検出感度は1.56~3.13 µg/gであった。
3. アミノグリコシド系抗生物質に対する検出感度は, 筋肉で3.13~12.5 µg/g, 肝臓で6.25~50.0 µg/gであった。
4. マクロライド系抗生物質に対する検出感度は0.78~12.5 µg/gであった。検出感度は肝臓が筋肉に比べ悪かった。
5. ロイコマイシン, ポリペプチド系, テトラサイクリン系およびその他の抗生物質に対する検出感度は0.1~25.0 µg/gであった。また, 検出感度は検体の種類による影響はみられなかった。

Keywords: residual antibiotics, simplified method, animal food

*¹ 都立衛生研究所

*² 宮崎大学農学部

高島浩介, 李 憲俊*¹: **カビの発生を防ぐ**

Proof, 10(1), 50~52 (1995)

住環境に発生するカビの生態, 分布, 発生条件を述べた。また, 生体に有害となる代表的なカビについてその特徴を記し, これらカビを防御するための具体的手法まとめた。

Keywords: mold, living environment, anti-mold counterplan

*¹ (財)食品薬品安全センター

黒川雄二: **日本における新しい食品添加物安全性ガイドライン**

Food & Food Ingredients Journal of Japan, No. 167, 2~3 (1996)

1995年6月に食品衛生調査会報告として出された「食品添加物の指定および使用規準改正に関する指針(案)」に関して, 特に安全性試験に関する標準的実施方法について概略を記した。

Keywords: food additive, guideline, Food Sanitation Survey Committee

Kurokawa, Y: **Current status of the international toxicology guidelines, focusing on the OECD and ICH guidelines**

J. Toxicol. Sci., 21, 65~67 (1996)

現在国際的に最も重要かつ注目を浴びていると思われる, OECDおよびICHのガイドラインに関して, 特に毒性関連のものについて最新の情報を記した。

Keywords: OECD, ICH, guideline

黒川雄二: **ICH-3の成果と課題, 安全性に関する成果と進展**

月刊薬事, 38, 53~56 (1996)

1995年11月に横浜で開催されたICH-3における安全性分野の進展等について概説した。

Keywords: ICH, guideline, toxicology

黒川雄二: **最大無作用量から無毒性量へ**

食品衛生研究, 46(3), 5 (1996)

農薬および食品添加物のガイドラインにおいて, 最近無毒性量が用いられるに至った経緯を説明した。

Keywords: NOAEL, No toxic dose, guideline

黒川雄二: **Topics on regulatory toxicology (1), ICH概説, 特にICH-3をめぐって**

J. Toxicol. Sci., 21, Appendix, 75~82 (1996)

厚生科学研究費で行われているICH安全性分野における活動状況を, ICH-3を中心に解説した。

Keywords: ICH, guideline, toxicology

平林容子, 井上 達: **連載 遺伝子工学・分子生物学基礎講座 DNA診断, 細胞移植, 遺伝子治療による臨床医学の新たな展開 「4. 細胞から個体への発生工学: 哺乳動物の分子遺伝学と疾患モデル (a) 遺伝子操作哺乳類と疾患モデル」**

造血因子, 6, 81~87 (1995)

生理的あるいは病的素材からクローニングされた遺伝子の機能を明らかにする事の為には, それら遺伝子を用いて, 遺伝子導入(トランスジェニック)マウスや遺伝子欠失(ノックアウト)マウスを作成する事が有力な方法となる。こうした遺伝子改変動物の作製は日を迫って報告数を増しているが, それらの作製法とともにその例をあげて, 進展ぶりを紹介した。筆者自身の取り扱った遺伝子改変動物の特徴も取り上げ, 技術面でも具体的に解説した。

Keywords: transgenic mouse, knock-out mouse, biotechnological recombinant mouse

長嶋洋治*, 井上 達: **今月の主題 検査室の安全対策 バイオハザードとその対策「病理解剖」**

臨床検査, 40, 23~26 (1996)

結核症や, ウイルス感染の場となりやすい病理解剖施設

の改造のための指針を筆者の建築上の経験に照らして解説した。

Keywords : biohazard, autopsy facility

* 横浜市立大学医学部

長嶋洋治*, 井上 達 : 連載 病理領域における業務感染の問題点「新しい病理検査室のあり方・考え方」

病理と臨床, 14, 219~220 (1996)

病理学領域における業務上感染の場の一つとして病理検査室をとりあげ、対策の原則を示した。1) 感染源対策, 2) 汚染防護の考え方, 3) 除染防護の考え方を簡潔にまとめた。

Keywords : occupational infections, anti-biohazard laboratory

* 横浜市立大学医学部

金子豊蔵 : 代替法バリデーションにおいて比較対照となる在来法の評価の重要性について—眼粘膜刺激性を中心に—

組織培養, 22, 218~223 (1996)

Draize 眼粘膜刺激性試験におけるスコアのバラツキの要因について、スコアと病理組織学的な変化の関連を検討するとともに、個体差、系統差、手技上の問題点、観察の問題点について検討し、動物の個体差が最も大きなスコアの変動要因となり、特に moderate irritants に評価される物質を点眼したときに回復期での個体差が大きいことを明らかにした。

Keywords : draize score, variance, individual difference

大野泰雄 : 薬物相互作用—動物実験からヒトへ—
ファルマシア, 31(9), 1020~1022 (1995)

薬物相互作用の発現機構を整理し、それらの内、臨床的に問題となる可能性があり、非臨床試験で検討しておいた方が良いと思われるものを抽出した。

Keywords : drug interaction, non-clinical test

小泉修一 : ATP 受容体と精神分裂病

蛋白質核酸酵素, 40, 1953~1954 (1995)

精神分裂病は病気の実体が最もよく分かっていない精神疾患の一つであり、ハロペリドール (HPD) およびクロルプロマジン (CPZ) はこの疾患の代表的な治療薬である。この様に、臨床的に有効性が認められている薬物がある場合には、その薬理学的プロフィールを片っ端から調べることで、治療効果との因果関係を推測でき、これが逆に病因の解明に結びつく可能性がある。HPD および CPZ は強力なドパミン D2 受容体拮抗薬であり、この作用が治療効果と密接に関係していると考えられているが、他にもカルシウムチャンネル阻害作用およびカルモジュリン阻害作用などが知られている。HPD および CPZ は、上述した薬理作用とは無関係に、ATP 受容体/チャンネルを直接抑制することが明らかとなった。ATP は脳内で神経伝達物質として働いている。従って、ATP による、神経伝達過剰が分裂病と関わっている可能性も無視できなくなってきたわけである。

Keywords : schizophrenia, ATP, antipsychotic drugs

藤森観之助 : 化学物質の規制と安全性評価の国際動向—
農薬を中心として—

植物防疫, 49, 293~300 (1995)

農薬を中心に化学物質の安全性評価に関する国際機関の活動を紹介している。とくに残留農薬の毒性評価に関わる

FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議 (JMPR) における評価作業および関与する国連機関ならびに国際食品規格の組織について、これまでのいきさつと今後の活動予定について解説している。さらに残留農薬の毒性評価法ならびに要求する毒性試験に関するガイドラインについて、改正中の OECD 化学物質毒性試験ガイドラインの紹介ならびに欧州連合 (EU) ガイドラインの動向およびアメリカにおける残留農薬ガイドライン (EPA) における最近の動向について解説している。

Keywords : pesticide residue, JMPR, guideline

高橋道人 : 精巣毒性

静岡実験動物研究会会報, Vol. 22, No. 1, 12~20 (1995)

精巣の解剖学的、生理学的特性の説明に始まり、精巣毒性の発現メカニズムを解説し、精巣毒性を検出するための病理組織標本の作り方まで紹介してある。

1. 精巣の特性 : 1) 生殖細胞の分化, 2) 血液精巣関門, 3) 精巣のホルモン支配, 4) 精子形成サイクル
2. 精巣毒性の発生機序 : 1) 精上皮を直接傷害するもの, (1)精粗細胞の障害, (2)セルトリ細胞の障害, 2) ホルモンを介して間接的に精子形成を阻害するもの, (1)抗アンドロゲン作用, (2)テストステロン合成阻害, (3)性腺刺激ホルモン抑制, (4)プロラクチン分泌の亢進, 3) 精子形成が完了してから精子を傷害するもの, 4) 循環障害を介して実質を傷害するもの

3. 精巣毒性検出のための病理検査 : 1) 精巣の組織標本作製法, 2) 精巣の病理組織評価

Keywords : testes, testicular toxicity, adriamycin

三森国敏 : 動物様医薬品等の残留基準値の設定について
食品衛生研究, 45, 39~52 (1995)

畜産動物に摂取された動物用医薬品等は、農産物に使用される農薬等と異なり、生体内で様々な代謝過程を経て排泄または生体内に残留または生体内組織の一部として吸収されることになる。これらの生体内に残留する残留物には、抽出されてこない結合型残留物があり、これらの残留物の毒性学的な評価を含めた新しい評価方法にもとづく残留基準値 (MRL) の策定が、FAO/WHO 合同食品規格委員会で行われており、米国ではすでに、独自の方法で毒性および残留データから結合型残留物の存在を考慮した残留基準値を設定しているが、ヨーロッパ連合 (EU) においては、FAO/WHO の MRL の概念を導入し、動物用医薬品等の残留基準値の見直しが行われている。このような国際的動きの中で、わが国においても個別物質ごとの安全性評価が可能になり、抗生物質・合成抗菌剤の一律に含有してはならないとする規制は合理性を失いつつあることから、新しい安全性評価法を取り入れた残留基準値の設定の作業が進行中である。

Keywords : veterinary drugs, maximum residue levels

高橋道人 : 医薬品および化学物質の精巣への影響 (2)

医薬品開発における精巣毒性—ICH を中心に—

薬の知識, Vol. 46, No. 8, 17~20 (1995)

ICH の安全性分野で、雄投精能を評価するにはどのくらいの期間必要であるのか議論され、我が国においても安全性を確保でき科学的妥当性を確認するため、国立衛生試験所を中心に製薬企業等 16 機関の協力を得て共同研究を実施した。その結果、最も鋭敏な指標は病理組織学的検査であり、検討された化合物の投与も 4 週間 (28 日) で精巣毒性が検出できることが判明した。そのためには固定が適切であること、病理検査では精子形成サイクルのステー

ジを考慮に入れた検索がときに必要であること、成熟した精子に影響を与えるような物質では精子検査が必要であることなどが分かった。内容は、1) 精巣の特異性、2) 精巣毒性の発生機序機序、3) 精巣毒性検出のための病理検査からなる。

Keywords : testicular toxicity, ICH, pharmaceuticals

能美健彦：突然変異誘発を促進する遺伝子群：大腸菌 *umuDC* 遺伝子とそのホモログ

放射線生物研究, 30, 157~175 (1995)

突然変異誘発を促進する蛋白質である大腸菌の *umuDC* 遺伝子とそのホモログについて、その発現調節機構、変異誘発における役割、生化学的作用機序、真核生物に存在する類似遺伝子について研究の現状を紹介した。

Keywords : mutation, *umuDC*, translesion DNA synthesis

原澤 亮*1, 水沢 博, 竹内昌男*2：動物細胞培養における“コンタミ”の簡易検出

蛋白質・核酸・酵素, 40, 2361~2368 (1995)

培養細胞はしばしば微生物の汚染にみまわれる。しかし、目視により簡単に検出される場合はともかく、細胞と共存してしまうようなマイコプラズマやペスティウイルスによる汚染の場合はしばしば見過ごされてしまったり、研究者に問題意識が無かったりして、汚染細胞が実験に使われてしまうケースが意外に多い。汚染細胞を用いた研究は如何に良い結果であろうと、欧米ではそのような結果は意味が無いものと認識されることが最近では一般的な風潮であることから十分に注意すべきである。汚染を避ける最も確実な方法は、実験中においても適宜汚染の検出を実施し汚染が無いことを確認することである。最近の分子生物学の発展により、様々な汚染微生物を標的にしたプライマーが明らかにされ、PCR法をこのような汚染の検出にも活用する動きが活発になってきているので、大いに活用すべきである。PCR法により増幅された遺伝子領域を、制限酵素により切断して分析したり、塩基配列の解析をすることにより、汚染した事実だけでなく、どのような汚染微生物によるかの特定も可能で、その後の除去にとっても有効な情報を与えてくれるものである。本稿では、マイコプラズマとペスティウイルスによる汚染を検出するためのPCR法を紹介し、あわせて汚染防止のための具体策を示した。

Keywords : contamination, mycoplasma, pestivirus

*1 東京大学医学部附属動物実験施設

*2 財団法人発酵研究所

田辺秀之, 祖父尼俊雄, 水沢 博：Comparative Genomic Hybridization (CGH) 法による細胞ゲノム解析組織培養, 22, 194~198 (1996)

Comparative Genomic Hybridization (CGH) 法は、対象とする細胞（腫瘍細胞）のゲノム DNA のコピー数の変化とその染色体領域を Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) によって特定することができるとする画期的な手法である。CGH 法は細胞ゲノム全体を対象とした品質管理手法として有力であり、国立衛生試験所・細胞バンクに保存されている細胞株の性状把握と個別識別への応用という視点から CGH 法による解析例を挙げて、CGH 法の基本原理・方法と簡便な画像解析法について概説した。

Keywords : comparative genomic hybridization, chromosomal characterization, cell line identification

岡田敏史：日本薬局方標準品

大阪医薬品協会会報, No. 563, p.7~20 (1995)

大阪医薬品協会の技術研究委員会における講演内容をまとめたものであり、日本薬局方標準品の現状と将来展望について概説した。特に、12局以降の標準品供給体制、国立衛生試験所と第三者機関（日本公定書協会）の役割分担、第三者機関における品質試験体制と試験成績の評価体制、日局標準品の規格および試験方法、日局「試薬・試液」中の標準物質などに焦点を当てて解説した。

Keywords : reference standard, Japanese Pharmacopoeia, distribution system

四方田千佳子：キトサンの特定保健用食品としての表示許可

キチン・キトサン研究, 2, 48~49 (1996)

1996年10月にキトサンを含む2種の食品が、特殊栄養食品中の特定保健用食品として表示することが許可された。キトサンは我が国では従来から天然物という扱いで食品に配合されてきたが、今回の表示許可は、キトサンのコレステロール吸収阻害作用という保健効果が、医学・栄養学的に認められたことを意味するものと解釈された。

Keywords : chitosan, food

小松裕明：静注用脂肪乳剤の粒子径測定

日本病院薬剤師会雑誌, 32, 555~556 (1996)

脂質エマルジョン（静脈注射用高カロリー輸液製剤や脂溶性薬物の輸送担体であるリポ化製剤）やリポソーム製剤など脂質微小分散系製剤の粒子径評価法について解説した。一般的な微小分散系粒子のさまざまな粒子径測定法を解説するとともに、USPにおいて公開されている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案について紹介した。また脂肪乳剤の粒子径評価が的確に行える評価因子についても考察を行った。さらに、現在市販されている静注用脂肪乳剤にこの規格案を適用し、動的光散乱法により評価した結果についても言及した。

Keywords : fat emulsion, particle size, liposome

小松裕明：静注用脂肪乳剤の粒子径測定—動的光散乱法—

日本薬剤学会会報, 11, 6~7 (1995)

USPの静注用脂肪乳剤の規格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案が示されている。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光散乱法の原理や特徴について紹介し、リポソーム製剤等を含めた脂質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、その評価結果も示した。

Keywords : fat emulsion, particle size, size distribution

小川義之：日本薬局法関連情報誌とその利用について；エンドトキシン試験法

医薬品研究, 26(7), 500~509 (1995)

日局12におけるエンドトキシン試験法は、日局13で大幅改正する作業が進められているが、日局12での本試験法の問題点と、新たに追加収載される予定の比濁法および比色法の概要を述べた。

Keywords : bacterial endotoxin test, Limulus assay, Japanese Pharmacopoeia

小川義之：エンドトキシン試験法の改正点について

薬局, 47(5), 51~54 (1996)

日局 12 のエンドトキシン試験法は, 日局 13 では大幅に改正されて, ゲル化法 (限度試験法と定量試験法), 比濁法および比色法の 3 種の方法が収載された。各試験方法および試験のバリデーションに関する事項, 本試験法が国際調和案として作成されてきた経緯等について解説した。

Keywords : bacterial endotoxin test, JP13, international harmonization

下村 講一郎 : 薬用植物の形質転換体 (毛状根) による有用物質の生産制御

Natural Medicines, 50, 1~8 (1996)

平成 6 年度日本生薬学会学術奨励賞を中心に薬用植物の形質転換根である毛状根培養による有用二次代謝物, アル

カロイド, フェノール性化合物, テルペン類, ポリアセチレン類等の生産制御について解説した。

Keywords : hairy roots, *Agrobacterium rhizogenes*, secondary metabolites

野口 衛 : 身近な薬草ガイド

雑誌「家の光」, 1995. 4, 別冊付録

身近な薬草, アシタバ, ウイキョウ, ウコン, エビスグサ, キキョウ, ゲンノショコ, トウキ, ドクダミ, ハトムギ, ベニバナ, ミシマサイコ, カミツレ, セージ, ポリジ, ローズマリーを取り上げ, その栽培法, 調製加工法, 食用その他日常生活での利用法について論述した。

Keywords : medical plants, cultivation, utilization for foods

- Aoyagi, N.: "Bio-International 2, Bioequivalence Test for Oral Controlled Release Dosage Forms in Japan", ed, Blume, H. H. and Midha, K. K., Medpharm Scientific Publisher, Stuttgart (1995) pp. 225~232
- 青柳伸男, 香取典子, 石橋無味雄, 米谷民雄, 林 真, 岡田敏史, 谷本 剛, 四方田千佳子, 小川義之他: "日本薬局方技術情報 1996", 厚生省薬務局研究開発振興課監修, 日本公定書協会編集, 薬業時報社, 東京 (1996)
- 川西 徹: "Real Time Imaging—光学顕微鏡によるリアルタイム画像化—", 組織細胞化学 1995 日本組織細胞化学会編, pp. 16~22, 学際企画 (1995)
- 早川 堯夫: "品質に関するトピックの進展と今後の課題—バイオテクノロジー応用医薬品の品質—", ICH-3 横浜に向けて, (財)日本公定書協会編, (株)ミクス, 東京 (1995) pp. 82~112
- 中村晃忠, 土屋利江, 門馬純子, 豊田和弘, 小川義之他: "医療用具及び医用材料の基礎的な生物学的試験のガイドライン 1995 解説", 厚生省薬務局医療機器開発課監修, 薬事日報社, 東京 (1996)
- Hayashi, Y. and Matsuda, R.: "Information Theory of Signal Resolution—Precision of Measurements", Chemometrics in Environmental Chemistry, ed, Einax, J., Springer, Berlin (1995) pp. 145~160
- 山田 隆: "ご存知ですか 食品の安全性", 食生活情報サービスセンター, 東京 (1995) pp. 110~136, 300~303
- 石綿 肇: "くらしの豆知識 '96", 食品添加物の基礎知識, 国民生活センター, 東京 (1995) pp. 186~187
- Ishiwata, H.: "Text book for mycotoxin inspection in food", Chapter 12, Food safety assurance on international trading, concerning microorganisms and preservatives, JICA, Hyogo (1995) pp. 12-1~19
- 米谷民雄他: "健康と元素", 薬学領域における元素, 食品衛生分野における元素, 千葉百子, 鈴木和夫編, 南山堂, 東京 (1996) pp. 185~193, 207~214
- 河村葉子: "衛生試験法・注解 1990 付. 追補 (1995)", 日本薬学会編, 金原出版, 東京 (1995) pp. 1702~1704
- Eklund, M., Richard, J. L. and Mise, K.: "Molecular Approaches to Food Safety. Issues Involving Toxic Microorganisms", Alaken, Fort Collins, Colorado (1995)
- 三瀬勝利, 木村和子, 井関法子, 益山光一, 伊藤 武, 鈴木 昭, 七野 護, 松尾 学, 福田智史, 西尾宏: "食品取扱業者の手洗い衛生指針", 厚生省生活衛生局食品保健課監修, 日本食品洗浄剤衛生協会, 東京 (1995)
- 寺脇良郎, 三瀬勝利, 埴原宏文: "医科細菌学, 改訂二版", 細菌の遺伝と分子生物学, 吉川昌之介編集, 南江堂, 東京 (1995) pp. 55~90
- 三瀬勝利, 寺脇良郎, 橋本一: "再燃する細菌感染症", 薬根出版, 東京 (1996)
- Sekizawa, J., Dobson, S., Hasegawa, R., Hayashi, Y., Hiraga, K., Kurokawa, Y., Matsuoka, A., Morimoto, K., Nakadate, M., Oba, K., Sohuni, T., Takahashi, M., Takei, R., Tanaka, S., Yamaha, T., Yoshikawa, S., Wakabayashi, M., Watanabe, Y.: **Linear Alkylbenzene Sulfonates and Related Compounds**, ed. (in chief) Sekizawa, J., Environmental Health Criteria 154, IPCS, Geneva (1996)
- 関沢 純: "リスクと生きる—リスクの科学と政治—", リスクの科学的な理解: 限界と改善, 林 裕造, 伊東信行監訳, pp. 23~38, 薬事日報社 (1995)
- 関沢 純: "クルマ依存社会—自動車排出ガス汚染から考える—", 第 6 章健康影響評価の現状と今後の課題, 柴田徳衛, 永井 進, 水谷洋一編著, 実教出版社, pp. 120~144 (1995)
- 関沢 純, 山本 都: "MSDS (化学物質安全性データシート) 用語集", 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修, 化学工業日報社, 東京 (1995)
- 降矢 強: "改訂ビルの環境衛生管理" 下巻, ビルの環境衛生管理編集委員会編, (財)ビル管理教育センター, 東京 (1996) pp. 349~352
- 井上 達: "第 7 章 造血器疾患", 病理学 II—疾患の病態と治療・検査, 三杉和章他編, 培風館, 東京 (1995) pp. 109~144
- 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 2 軟部組織および筋・骨格系, ソフトサイエンス社, 東京 (1995)
- 林 真, 松岡厚子: "抗変異原・抗発がん物質とその検索法", 実験動物による検出法—小核を検出する方法, 黒田行昭編, 講談社, 東京 (1995) pp. 374~380
- 水沢 博: "イメージデータを使いこなす—バイオ研究環境のこれから—", 水沢 博編, 共立出版, 東京 (1995) pp. 1~153
- Okada S.: "The Role of Pharmacopoeia in International Harmonization, The Japanese Pharmacopoeia", Importance and Influence of Harmonization of Standards on Industrial Pharmacy, ed. by A.A. Hincal and M. Sumnu, de Sante, Paris (1995) pp. 306~317
- Yomota, T., Okada, S.: "Biomedical Functions and Biotechnology of Natural and Artificial Polymers", ed. Yalpani, M., ATL Press, USA (1996)
- Tanimoto, T.: "Diabetes 1994: Characterization of Aldose Reductase and Its Inhibitors", eds. Baba, S. and

Kaneko, T., Elsevier, Amsterdam (1995)

小松裕明：“応用熱分析：高分子・医薬・電子材料など100種の測定データ解説集”，日本熱測定学会・応用熱測定研究グループ編集，日刊工業新聞社，東京（1995）pp.52～53, pp.60～61

鈴木邦輝，鈴木 力，後藤芳彦，飯田 修，三浦忠一，畠山好雄，水間秀文：“函岳の自然”，函岳自然調査編集委員会編集，名寄自然に親しむ会，名寄（1996）

Ishimaru, K., Hirose, M., Takahashi, K., Koyama, K. and Shimomura, K.: “**Biotechnology in Agriculture and Forestry**, vol. 33 Medicinal and Aromatic Plants VIII”, XXIV *Sanguisorba officinalis* L. (Great Burnet): In Vitro Culture and Production of Sanguin, Tannins, and Other Secondary Metabolites, ed, Bajaj, Y. P. S., Springer-Verlag Berlin Heidelberg (1995)

Shimomura, K., Yoshimatsu, K., Ishimaru, K. and Sauerwein, M.: “**Studies in Natural Products Chemistry**, vol. 17” Tropane Alkaloids in Root Cultures of Solanaceous Plants, ed, Atta-ur-Rahman, Elsevier Science B. V., The Netherland (1995)

下村講一郎：“バイオテクノロジーとヒューマンライフ，第II巻，21世紀の動植物資源”植物組織培養と薬用成分，鎌田 博，堀 秀隆編，日本経済評論社，東京（1995）pp.173～208

赤須通範，磯田 進，香月茂樹，加藤 篤，北中 進，木村孟淳，児島 脩，後藤勝実，指田 豊，佐橋紀男，正山征洋，菅谷愛子，滝戸道夫，田中靖子，布万里子，野呂征男，三卷祥浩，山本久子，吉村 衛，米田該典：“カラーグラフィック薬用植物—第2版—”，滝戸道夫，指田 豊編集，廣川書店，東京（1995）

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8年3月厚生省薬務局研究開発振興課に報告。

一般用医薬品の品質試験方法に関する研究：石橋無味雄

厚生科学研究（平成4年4月～），平成8年3月厚生省薬務局審査課に報告。（主任研究者：真弓忠範大阪大学教授）

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7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8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8年3月厚生省医薬品先端技術振興室に報告。

医薬品規格および試験方法に関する研究：石橋無味雄，小嶋茂雄

日本公定書協会研究費（昭和56年4月～），平成8年3月に日本公定書協会（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7年11月厚生省薬務局監視指導課に報告。

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7年4月～平成8年3月），平成8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7年4月～平成8年3月），平成8年4月厚生省薬務局麻薬課に報告。

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：中村晃忠

厚生科学研究（平成7年4月～平成8年3月），平成8年4月厚生省薬務局医療機器開発課に報告。

摘出インプラント用具データシステムの構築に関する研究：中村晃忠

厚生科学研究（平成7年4月～平成8年3月），平成8年4月厚生省厚生科学課に報告。

高分子有機材料中のモノマーの体液中における残留量の定量分析に関する基礎的研究：中村晃忠，佐藤道夫

厚生科学研究（平成7年4月～平成8年3月），平成8年4月厚生省厚生科学課に報告。

N, N'-di-methylphenyl-*p*-phenylenediamine, 2,5-di-

tert-butyl-hydroquinone, 2,3,3,3,2',3',3',3'-octachlorodipropylether, *p*-*tert*-butylphenyl salicylate 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6年7月～平成7年6月），平成7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7年4月～平成8年3月），平成8年7月環境庁大気保全局自動車環境対策第二課へ報告。

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-クロロプロピル)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7年11月～平成8年3月），平成8年5月厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室へ報告。

化粧品の安全性評価ガイドラインに関する研究：安藤正典，徳永裕司，内野 正

厚生科学研究（平成7年4月～平成8年3月），平成8年4月厚生省薬務局審査課に報告。

化粧品原料成分の品質試験方法に関する研究：木嶋敬二，内野 正，徳永裕司，安藤正典，鈴木助治*1，中野 弘*1，坂口 洋*2

厚生科学研究（平成7年4月～平成8年3月），平成8年4月厚生省薬務局審査課に報告。

*1 東京都立衛生研究所

*2 北里大学薬学部

化粧品原料規格作成に関する研究：木嶋敬二，内野 正，徳永裕司，安藤正典

厚生本省医薬品等審査業務庁費（平成7年4月～平成8年3月），平成8年3月厚生省薬務局審査課化粧品審査室に報告。

食品中のダイオキシン類汚染実態調査研究：斎藤行生

厚生科学研究（平成7年4月～平成8年3月），平成8年4月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

食品中の有害物質等の評価に関する研究：斎藤行生

厚生科学研究（平成7年4月～平成8年3月），平成8年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

残留農薬迅速分析法の開発に関する研究：根本 了，佐々木久美子，斎藤行生

食品等試験検査費（平成7年4月～平成8年3月），平成8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調査—カプタールおよびキャプタンの植物成分による分解の防止：根本 了，佐々木久美子，斎藤行生

食品等試験検査費（平成7年4月～平成8年3月），平成8年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

ジクロメジンの分析法：佐々木久美子，斎藤行生

食品等試験検査費（平成7年4月～平成8年3月），平成

7年6月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

ハルフェンプロックスの分析法：佐々木久美子，斎藤行生
食品等試験検査費（平成7年4月～平成8年3月），平成8年1月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

有機塩素系農薬の分析法：佐々木久美子，斎藤行生
食品等試験検査費（平成7年4月～平成8年3月），平成8年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

農作物における有機リン系農薬の残留分布および調理加工による減衰：佐々木久美子，斎藤行生
食品等試験検査費（平成7年4月～平成8年3月），平成8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，試験法等に関する調査研究；分析法の評価に関する調査：松田りえ子
厚生科学研究（平成7年4月～平成8年3月），平成8年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

畜水産食品中の残留動物薬の試験法—オキシテトラサイクリン，イベルメクチン，クロサンテル，フルベンダゾール，ゼラノール，トレンボロン—：村山三徳，斎藤行生
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。

ミネラルウォーターの衛生確保に関する研究—ミネラルウォーター中の異物発生原因とその対策（ミネラル成分について）：近藤一成，村山三徳，鈴木隆，斎藤行生
食品等試験検査費（平成7年10月～平成8年1月），平成8年1月厚生省生活衛生局食品保健課へ報告。

未経験食品の安全性に関する研究：宮原 誠，豊田正武，斎藤行生
食品検査費（平成7年4月～平成8年3月），平成8年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

食品等の規格基準の設定等に係わる試験検査；オクラトキシンの実態調査：穂山浩，豊田正武，斎藤行生
厚生科学研究（平成7年4月～平成8年3月），平成8年4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の衛生確保に関する研究—ミネラルウォーター中の異物発生原因とその対策（異物について）：豊田正武，斎藤行生
食品等試験検査費（平成7年10月～平成8年1月），平成8年1月厚生省生活衛生局食品保健課へ報告。

必須アミノ酸製品等による健康影響に関する研究：豊田正武，高井克治，斎藤博士
厚生科学研究費（平成7年4月～平成7年3月），平成8年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

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，川崎洋子，米谷民雄，佐藤恭子
食品添加物規格基準設定費（平成7年4月～平成8年3月），平成8年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

鉄および銅クロロフィリンナトリウムの成分に関する研究：武田由比子，石綿 肇，山田 隆
食品添加物安全性再評価試験検査費（平成7年12月～平成8年3月），平成8年4月厚生省生活衛生局食品化学課

に報告。

食品中のアルギン酸ナトリウムの分析法について：川崎洋子，石綿 肇，山田 隆
食品添加物安全性再評価等試験調査費（平成7年10月～平成8年3月），平成8年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品添加物公定書におけるクリーンアナリシスに関する研究，特にハロゲン化物イオンの検出に用いられるクロロホルムの代替え有機溶媒の検討：石綿 肇，武田由比子，川崎洋子，山田 隆
食品添加物安全性再評価等試験調査費（平成7年4月～平成7年10月），平成7年12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の検出量実態調査：山田 隆，石綿 肇
厚生科学研究（平成7年4月～平成8年3月），平成8年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品中の指定外添加物，ポリソルベートおよびターシャリーブチルヒドロキノンの分析法の開発：石綿 肇，山田隆，石橋 亨^{*1}，水野竹美^{*1}，太田光恵^{*2}，成田美加子^{*2}，三好智子^{*2}，宮田昌弘^{*2}，鎌倉和政^{*2}，前田憲二^{*2}
厚生科学研究（平成7年4月～平成8年3月），平成8年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

^{*1} 日本医療食協会・食品検査センター

^{*2} 神戸検疫所輸入食品・検疫検査センター

精製カラギナン，加工ユーケマ藻類，ユーケマ藻末の市販製品における硫酸基と酸不溶性物質の分析：米谷民雄，久保田浩樹，山田 隆
食品添加物規格基準設定費（平成7年4月～平成7年10月），平成8年1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グレープフルーツ種子抽出物の成分分析：坂元史歩，佐藤恭子，米谷民雄，山田 隆
食品添加物規格基準設定費（平成7年10月～平成8年3月），平成8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レモン果皮抽出物の成分分析：坂元史歩，佐藤恭子，米谷民雄，山田 隆
食品添加物規格基準設定費（平成7年10月～平成8年3月），平成8年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

ビートルドの成分規格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7年4月～平成8年3月），平成8年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品中の化学的合成品以外の食品添加物の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7年4月～平成8年3月），平成8年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

木製器具中の過酸化水素に関する研究：山田 隆，河村葉子，杉田たき子
厚生科学研究（平成7年4月～平成8年3月），平成8年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

保冷剤含有プラスチック製品の実態に関する調査研究：山田 隆，河村葉子，森 悦男*¹，杉田たき子，渡辺悠二*²，平山クニ*³，西村正美*⁴，下村康夫*⁵
厚生科学研究 (平成7年4月～平成8年3月)，平成8年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

- *¹ 川崎市衛生研究所
- *² 東京都衛生研究所
- *³ 神奈川県衛生研究所
- *⁴ (財)日本食品分析センター
- *⁵ (財)日本日用品プラスチック工業組合

保冷剤含有プラスチック製品の物理的強度試験：山田 隆，河村葉子，杉田たき子，下村康夫*
厚生科学研究 (平成7年4月～平成8年3月)，平成8年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

- * (財)日本日用品プラスチック工業組合

ミネラルウォーター異物混入における容器およびプラスチック製混入物に関する研究：河村葉子，渡辺悠二*¹，高野忠夫*²，板倉 武*³，池川豊吉*³，杉田たき子
厚生科学研究 (平成7年4月～平成8年3月)，平成8年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

- *¹ 東京都立衛生研究所
- *² (財)高分子素材センター
- *³ PET ボトル協議会

ステンレス製品からの金属の溶出に関する調査研究：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7年4月～平成8年3月)，平成8年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

ポリエチレン中の酸化防止剤および紫外線吸収剤の分析：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7年4月～平成8年3月)，平成8年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

ダイオキシンの免疫毒性について：澤田純一
厚生科学研究 (平成7年4月～平成8年3月)，平成8年2月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

トリス(2-クロロエチル)ホスフェートのラットにおける吸入代謝試験：高橋 惇，嶺岸謙一郎，紅林秀雄
既存化学物質委託費 (平成6年11月～平成7年3月)，平成7年9月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室へ報告。

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*¹，小久保彌太郎*²，豊福 肇*³
厚生科学研究 (平成8年3月～)，平成8年3月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

- *¹ 国立予防衛生研究所
- *² 東京都立衛生研究所
- *³ 国立公衆衛生院

期限表示と保存方法の設定に関する研究：七野 護*¹，小沼博隆，山本茂貴*²，金子賢一*³，山田隆昭*⁴
厚生科学研究 (平成8年3月～)，平成8年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

- *¹ (財)日本食品衛生協会
- *² 東京都立衛生研究所

- *³ 国立公衆衛生院
- *⁴ 東京都衛生局生活環境部

ミネラルウォーターの衛生確保に関する研究：齋藤行生，豊田正武，鈴木 隆，小沼博隆，山本茂貴*²，金子賢一*³，山田隆昭*⁴
厚生科学研究 (平成8年3月～)，平成8年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

- *¹ (財)日本食品衛生協会
- *² 東京都立衛生研究所
- *³ 国立公衆衛生院
- *⁴ 東京都衛生局生活環境部

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*¹，加藤保博*²
残留農薬安全対策総合調査研究 (平成7年4月～平成8年3月)，平成8年3月に厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

- *¹ 東京農業大学
- *² 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*¹，黒川雄二，関沢 純，内藤克司，香川順*²，山中すみへ*¹，小野 宏*³，高月峰夫*⁴，八十川欣勇*⁵
厚生科学研究 (平成7年4月～平成8年3月)，平成8年3月に厚生省薬務局安全課に報告。

- *¹ 東京歯科大学
- *² 東京女子医科大学
- *³ 食品薬品安全センター
- *⁴ 化学品検査協会
- *⁵ 海事検定協会

環境に起因する健康リスク対策のあり方に関する研究：内山巖雄*¹，関沢 純，池田三郎*²，酒井泰弘*²，草間朋子*³，盛岡 通*⁴，大島輝夫*⁵
環境庁委託研究 (平成8年1月～平成8年3月)，平成8年3月に環境庁環境保健部に報告。

- *¹ 国立公衆衛生院
- *² 筑波大学
- *³ 東京大学
- *⁴ 大阪大学
- *⁵ 化学品安全管理研究所

指定化学物質 (2,4-ジアミノトルエンおよび2-(チオシアナトメチルチオ)ベンゾチアゾール) 摂取量予測調査：山本 都
家庭用品等調査研究費 (平成7年4月～8年3月)，平成8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：化学物質による被害防止のための情報提供に関する研究：神沼二真
厚生科学研究 (平成7年4月～8年3月)，平成8年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

医薬品等化学物質の急性毒性の分類と評価に関する研究：高江洲義矩*¹，香川 順*²，井上 達，黒川雄二，山中すみへ*¹，小野 宏*³，関沢 純，高月 峰夫*⁴，内藤克司，八十川欣勇*⁵
厚生科学研究 (平成7年4月～平成8年3月)，平成8年3月厚生省薬務局安全課に報告。

- *¹ 東京歯科大学

- *² 東京女子医科大学
- *³ 食品薬品安全センター
- *⁴ 化学品検査センター
- *⁵ 海事検定協会

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：関田清司、小川幸男、小野 敦、降矢 強
厚生科学研究（平成7年4月～8年3月）、平成8年3月厚生省薬務局麻薬課に報告。

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：林 裕造、黒川雄二、降矢 強、関田清司、小野 敦、児玉幸夫、小川幸男、祖父尼俊男、鈴木孝昌、本間正充、松岡厚子、林 真、高橋道人、西川秋佳、古川文夫、豊田和弘、小野寺博志、松本清司*
製剤評価研究事業（平成6年4月～7年3月）、平成7年5月厚生省薬務局安全課に報告。

* 信州大学医学部

防かび剤 N-(fluorodichloromethylthio)phthalimide のラットを用いた急性毒性試験、28日間反復経口投与毒性試験、小核試験およびV79細胞を用いた細胞毒性試験（最終報告）：松島裕子、内藤克司、齊藤 実、川崎 靖、門馬純子、北嶋 聡、伊佐間和郎、鹿庭正昭、土屋利江、五十嵐良明、鈴木孝昌、林 真、祖父尼俊雄、中村晃忠、金子豊蔵、津田充宥、井上 達
家庭用品等調査研究費（平成5年4月～平成6年3月）、平成7年5月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

アルミン酸ナトリウム、塩化アルミニウム六水和物、過塩素酸カリウムの急性経口毒性試験、急性経皮毒性試験および皮膚刺激性試験：松島裕子、川崎 靖、鈴木幸子、金子豊蔵、井上 達
厚生省薬務局毒物劇物指定のための調査研究費（平成6年4月～平成7年3月）、平成8年5月厚生省薬務局安全課に報告。

ジメチルジチオカルバミン酸亜鉛のラットにおける急性毒性試験（強制経口投与試験）：齊藤 実、北嶋 聡、松島裕子、門馬純子、津田充宥、井上 達
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12月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

発癌抑制の評価法に関する研究：黒川雄二、佐井君江、長谷川隆一
がん研究助成金（林班）（平成5年3月～平成7年3月）、平成8年3月国立がんセンターに報告。

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経口投与催奇形性試験：大野泰雄、津田充宥、宇佐見誠、酒見和枝
既存化学物質等試験検査費（平成6年4月～平成7年3月）、平成7年9月に厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

モルホリン脂肪酸塩のラットを用いた経口投与催奇形性試験：大野泰雄、津田充宥、宇佐見誠、酒見和枝
食品等試験検査費（平成5年4月～平成6年3月）、平成8年4月に厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

メタベンズチアズロンの肝腫瘍プロモーター作用に関する試験（中間報告）：豊田和弘、高田幸一、畝山智香子、高橋道人
農薬衛生対策推進等試験検査経費（平成7年4月～平成8年3月）、平成8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8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8年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

β-サイクロデキストリンの亜慢性毒性試験（中間報告）：豊田和弘、高田幸一、畝山智香子、高橋道人
食品添加物安全性再評価費（昭和63年4月～平成3年3月）、平成8年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

β-サイクロデキストリンの慢性毒性・発癌性試験（最終報告）：豊田和弘、高田幸一、畝山智香子、高橋道人
食品添加物安全性再評価費（昭和63年4月～平成8年3月）、平成8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（最終報告）：古川文夫、今沢孝喜、西川秋佳、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8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8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、高田幸一、畝山智香子、高橋道人
食品添加物安全性再評価費（平成2年4月～平成5年3月）、平成8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ラットにおける癌原性試験（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9年3月）、平成8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、西川秋佳、高橋道人
食品等試験検査費（平成4年4月～平成7年3月）、平成8年3月厚生省生活衛生局乳肉衛生課へ報告。

クロロフィルの90日間毒性試験（中間報告）：古川文夫、今沢孝喜、西川秋佳、高橋道人
食品添加物安全性再評価費（平成7年4月～平成8年3月）、平成8年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

カロブ色素の90日間毒性試験(中間報告): 高田幸一, 豊田和弘, 畝山智香子, 高橋道人
食品添加物安全性再評価費(平成7年3月~平成8年3月), 平成8年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

ファフィア色素の90日間毒性試験(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7年3月~平成8年3月), 平成8年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

ニトロフラソンの精巢毒性に関する試験(中間報告): 豊田和弘, 高田幸一, 畝山智香子, 高橋道人
畜水産食品中の残留有害物質に係るモニタリング検査等の実施等経費(平成7年4月~平成8年3月), 平成8年3月厚生省生活衛生局乳肉衛生課へ報告

食品添加物の変異原性に関する研究—天然添加物の哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験: 松岡厚子, 坂本浩子, 本間正充, 鈴木孝昌, 林 真, 祖父尼俊雄
(昭和63年10月~平成8年3月), 平成8年3月厚生省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: 松井道子, 松井恵子, 渡辺雅彦, 山田雅巳, 能美健彦, 祖父尼俊雄
(平成3年4月~平成8年3月), 平成8年3月厚生省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8年3月), 平成8年3月労働省労働基準局化学物質調査課に報告。

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: 林 真, 松岡厚子, 本間正充, 鈴木孝昌, 祖父尼俊雄
(平成5年4月~平成8年3月), 平成8年3月環境庁企画調整局環境技術課に報告。

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: 能美健彦, 松井道子, 渡辺雅彦, 山田雅巳, 松井恵子, 祖父尼俊雄
(平成6年4月~平成11年3月), 平成8年3月科学技術庁原子力局技術振興課に報告。

化学物質による健康リスク評価法に関する研究: 能美健彦, 松井道子, 松井恵子, 祖父尼俊雄
(平成5年4月~平成8年3月), 平成8年3月厚生省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, 能美健彦, 祖父尼俊雄
(平成4年4月~平成8年3月), 平成8年3月厚生省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: 水沢 博, 増井 徹, 田辺秀之, 祖父尼俊雄
(平成6年4月~平成8年3月), 平成8年3月厚生省厚生科学課に報告。

培養細胞マスターバンクの維持に必須な品質管理手法の開発に関する総合的研究: 増井 徹, 田辺秀之, 水沢 博,

祖父尼俊雄
(平成6年4月~平成8年3月), 平成8年3月厚生省厚生科学課に報告。

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, 齊藤行生, 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8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, 広瀬明彦, 鎌田栄一
厚生科学研究(平成5年4月~平成10年3月), 平成8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。

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8年3月厚生省薬務局審査課に報告。

ダイオキシンのリスクアセスメントに関する研究: 黒川雄二, 小島康平*1, 金城芳秀*2, 井上 達, 大野泰雄, 高橋道人, 祖父尼俊雄, 中館正弘, 田中 悟, 澤田純一
厚生科学研究(平成7年4月~平成9年3月), 平成8年3月厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室に報告。

*1 麻布大学環境保健学部

*2 国立がんセンター研究所疫学部

OECD/HPV点検化学物質安全性調査: 中館正弘, 鎌田栄一, 広瀬明彦
家庭用品等試験検査費(平成3年4月~平成13年3月), 平成8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。

一般医薬品の品質試験法に関する研究: 真弓忠範*1, 石橋無味雄, 四方田千佳子, 岩上正蔵*2, 岩佐 曜*3, 大住優子*4, 東海則明*5, 二之宮昭夫*6, 林 信一*7, 横田洋一*8, 吉田乗継*9
厚生科学研究(平成8年4月~平成9年3月), 平成8年5月厚生省薬務局審査課に報告。

*1 大阪大学薬学部

*2 大阪府公衆衛生研究所

*3 エスエス製薬(株)

*4 奈良県薬事指導所

*5 武田薬品工業(株)

*6 三共(株)

*7 ロート製薬(株)

*8 富山県薬事研究所

*9 大正製薬(株)

医薬品の迅速分析法: 谷本 剛, 吉井公彦, 岡田敏史
厚生省薬務局監視指導課迅速分析法作成費(昭和57年3月~), 平成7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: 谷本 剛
国際厚生事業団研究費(平成5年4月~), 平成8年3月国際厚生事業団(厚生省大臣官房国際課)に報告。

食品中残留農薬簡易分析法開発検討委員会平成7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7年4月～平成8年3月），平成8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，新開発食品素材の健康障害に関する研究，ギムネマ酸の健康障害に関する研究：中村優美子，津村ゆかり，外海泰秀，柴田 正
厚生科学研究（平成7年4月～平成8年3月），平成8年3月厚生省厚生科学課に報告。

米中のテクロフタラムの分析法の検討：津村ゆかり，中村優美子，外海泰秀，柴田正
農薬衛生対策推進費，食品残留農薬告示分析検討費（平成7年4月～平成8年3月），平成8年4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；テクロフタラムおよびテクロフタラムイミドの分別定量法の検討：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7年4月～平成8年3月），平成8年5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，新しい分析法の開発，天然酸化防止剤の分析法：辻 澄子，石光 進，柴田 正
食品等試験検査費（平成7年4月～平成8年3月），平成8年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

化学的合成品以外の食品添加物の規格基準の設定，トコフェロールの分析：辻 澄子，石光 進，柴田 正
食品等試験検査費（平成7年4月～平成8年3月），平成8年5月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品添加物の規格基準および試験法の改良，食用アルミニウムレーキ中のバリウム試験法へのICP 発光分析法の適用：石光 進，三島郁子，辻 澄子，柴田 正
食品等試験検査費（平成7年4月～平成8年3月），平成8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；輸入食品中トリアジン系およびフェノキシ酢酸系農薬のGC，GC/MSによる多成分一斉分析法の検討：外海泰秀，津村ゆかり，中村優美子，柴田 正
厚生科学研究（平成7年4月～平成8年3月），平成8年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

青柳伸男：経口放出制御製剤の評価：放出に及ぼす機械的
刺激の影響および結腸での放出性
平成6年度官民共同プロジェクト研究成果シンポジウム
(1995.5)

青柳伸男：製剤の新しい評価
平成7年度国公立病院薬剤部職員研修会 (1995.5)

Aoyagi, N.: **Bioequivalence Test for Oral Dosage
Forms in Japan**
The 44th Annual Meeting of The Pharmaceutical Soci-
ety of Korea, Seoul, Korea (1995.10)

鹿庭なほ子：崩壊・溶出試験の試験液
全国薬事指導所協議会 (1995.10)

青柳伸男：溶出性と生物学的同等性
医薬品添加剤学術シンポジウム (1996.2)

青柳伸男：生物学的同等性の評価法
日本薬学会第116年会 (1996.3)

青柳伸男，香取典子，小島茂雄：摩耗による経口徐放性製
剤の放出促進の個人差
日本薬学会第116年会 (1996.3)

香取典子，青柳伸男，小島茂雄：製剤からの薬物放出と消
化管内の機械的刺激—マルチプルユニット型徐放性製剤か
らの *in vivo* 薬物放出挙動と食事の影響
日本薬学会第116年会 (1996.3)

鹿庭なほ子，青柳伸男，小嶋茂雄：市販製剤の溶出速度
(4)
日本薬学会第116年会 (1996.3)

Aoyagi, N.: **Use of Dissolution Tests for Bioequivalen-
ce Assessment in Japan**
FIP Bio-international 96 Conference, Tokyo (1996.4)

Kaniwa, N.: **Application of the NONMEM to the
Bioequivalence Evaluation**
FIP Bio-international 96 Conference, Tokyo (1996.4)

Aso, Y., Yoshioka, S. and Kojima, S.: **Effect on γ -
irradiation in the drug release characteristics of poly
(d,l-lactide) microspheres**
22nd International symposium on controlled release of
bioactive materials, Washington, USA (1995.7)

阿曾幸男，吉岡澄江，小島茂雄：2H-NMR緩和時間によ
る医薬品添加剤に吸着した水分子の運動性の評価
第34回NMR討論会 (1995.11)

吉岡澄江，阿曾幸男，小嶋茂雄：マトリキシング法によ
って推定される医薬品製剤の有効期間
日本薬学会第116年会 (1996.3)

吉岡澄江，阿曾幸男，小嶋茂雄：スピン-スピン緩和時間
によって表される凍結乾燥BSAおよび γ -グロブリンの

分子運動性とアグリゲーションに対する安定性
日本薬学会第116年会 (1996.3)

阿曾幸男，吉岡澄江，小嶋茂雄：ポリビニルアルコールハ
イドロゲルからの薬物放出速度と水および高分子の運動性
との関係
日本薬学会第116年会 (1996.3)

Izutsu, K., Yoshioka, S. and Kojima, S.: **Effect of
molecular compatibility between poly (ethylene gly-
col) and other excipients on phase separation and
eutectic crystallization in frozen solutions**
211th American Chemical Society National Meeting,
New Orleans, USA (1996.3)

石橋無味雄：不正医薬品迅速分析法
第二回中日分析技術討論会 第二回中日分析技術セミナー，
天津 (1995.11)

Uchida, K., Ishibashi, M., Okuda, A., Okuda, H.,
Kawamura, J., Kojima, S., Tonooka, H. and Mizuno, S.:
**One of the Countermeasures Against Counterfeit/
Substandard Drugs in Developing Countries**
第10回国際保険医療学会 東京 (1995.10)

最所和宏，石橋無味雄，小嶋茂雄：カンゾウ含有感冒薬中
のグリチルリチン酸と感冒薬有効成分のキャピラリー電気
泳動による一斉定量
日本薬学会第116年回 (1996.3)

Nakahara, Y., Takahashi, K., and Kikura, R.: **Effect of
structural factors on incorporation of drugs into hair**
1995 International Conference for Hair Analysis in
Forensic Toxicology, Abu Dhabi, UAE (1995.11)

Nakahara, Y., Takahashi, K., Kikura, R., Mieczkowski,
T.*¹, Taglioro, F.*² and Foltz, R. L.*³: **New findings of
hair analysis for hallucinogens (LSD, MDA/MDMA
and PCP)**
1995 International Conference for Hair Analysis in
Forensic Toxicology, Abu Dhabi, UAE (1995.11)

*¹ Univ. of south Florida, USA

*² Institute of Forensic Medicine, Univ. of Verona,
Italy

*³ Center for human Toxicology, Univ. of Utah, USA

中原雄二，木倉瑠理，小嶋茂雄：薬物乱用歴推定のための
毛髪分析 XVI. エフェドリン系薬物のラット毛髪への取
込率とエフェドリン使用者の毛髪分析への応用
日本薬学会第116年会 (1996.3)

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 XVII. Furfenorex およびその代謝物の毛髪へ
の移行と覚せい剤使用との識別
日本薬学会第116年会 (1996.3)

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 XVIII. Fenethylline 投与の動物およびヒト毛
髪中の薬物の検索

日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)

栗原 久^{*1}, 関根均^{*2}, 中原雄二: 覚醒剤とタバコの喫煙によって生じる N-cyanomethamphetamine の行動薬理作用: マウスの移動運動による検討
第 5 回神経行動薬理若手研究者の集い (1996. 3)

^{*1} 群馬大学医学部

^{*2} 埼玉県警科学捜査研究所

中村 竜^{*1}, 川西 徹, 田中 光^{*2}, 加藤由充^{*2}, 重信弘毅^{*2}: カルシウムスパークのミリ秒単位での 2 次元画像化と解析
レーザー顕微鏡研究会第 15 回講演会 (1995. 6)

^{*1} (株)ニコン顕微鏡設計

^{*2} 東邦大学薬学部

田中 光^{*}, 川西 徹: 高速走査型共焦点レーザー顕微鏡によって明かにされた心筋細胞のカルシウムイオンのダイナミクス
第 10 回単離細胞研究会 (1995. 7)

^{*} 東邦大学薬学部

川西 徹: リアルタイムイメージング
第 20 回組織細胞化学講習会 (1995. 8)

川西 徹: 高分解能リアルタイムイメージング法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 33 回日本生物物理学会シンポジウム (1995. 9)

木内猛仁^{*}, 川西 徹, 太田美矢子, 大幡久之^{*}, 横田椅江, 百瀬和享^{*}, 早川堯夫: 蛍光プローブと蛍光顕微鏡画像解析法を用いた細胞内カルシウムイオン貯蔵の画像化法の検討
第 4 回日本バイオイメーキング学会学術集会 (1995. 10)

^{*} 昭和大学薬学部

山垣浩司^{*}, 中村 竜^{*}, 川西 徹: 共焦点レーザー走査顕微鏡と蛍光プローブを用いた pH 測定の最適条件の検討
第 4 回日本バイオイメーキング学会学術集会 (1995. 10)

^{*} (株)ニコン顕微鏡設計

川西 徹: 蛍光顕微鏡画像解析法による細胞内カルシウムイオンの動的観測
日本食品科学工学会第 11 回非破壊計測シンポジウム (1995. 11)

川西 徹: 医薬品の併用による副作用発現の可能性
第 12 回日本毒性病理学会シンポジウム (1996. 1)

川西 徹, 石崎 悟^{*}, 木内猛仁^{*}, 太田美矢子, 横田椅江, 大幡久之^{*}, 百瀬和享^{*}, 早川堯夫: ラット初代培養肝細胞におけるカルシウムウェーブのメカニズムについて—受容体の局在との関係について—
第 69 回日本薬理学会年会 (1996. 3)

^{*} 昭和大学薬学部

木内猛仁^{*}, 太田美矢子, 横田椅江, 大幡久之^{*}, 早川堯夫, 百瀬和享^{*}, 川西 徹: トリプチル錫によるラット肝細胞の細胞内カルシウムイオン貯蔵の枯渇
第 69 回日本薬理学会年会 (1996. 3)

^{*} 昭和大学薬学部

田中 光^{*1}, 西丸和秀^{*1}, 川西 徹, 中村 竜^{*2}, 山垣浩司^{*2}, 重信浩毅^{*1}: 高速走査型共焦点レーザー顕微鏡による心筋細胞内カルシウムスパークの解析
第 69 回日本薬理学会年会 (1996. 3)

^{*1} 東邦大学薬学部

^{*2} (株)ニコン顕微鏡設計

川西 徹, 畝山智香子, 豊田和弘, 高橋道人, 横田椅江, 太田美矢子, 早川堯夫, 木内猛仁^{*}, 大幡久之^{*}, 百瀬和享^{*}: 初代培養肝細胞の cyclic AMP 変動へのトリプチル錫の影響—細胞内カルシウム変動への影響との比較—
日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)

^{*} 昭和大学薬学部

甚内知子^{*}, 山城孝司^{*}, 渡辺直子^{*}, 小林芳朗^{*}, 田中光^{*}, 重信弘毅^{*}, 川西 徹: ヒト NK 細胞株 (YTN) と標的細胞との相互作用におけるカルシウムの動的観測
日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)

^{*} 東邦大学

川西 徹, 太田美矢子, 横田椅江, 早川堯夫, 豊田和弘, 畝山智香子, 高橋道人, 加藤誠司^{*}, 朝生弘樹^{*}, 大幡久之^{*}, 百瀬和享^{*}: 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ェーブの解析
レーザー顕微鏡研究会第 17 回講演会シンポジウム (1996. 6)

^{*} 昭和大学薬学部

山垣浩司^{*}, 川西 徹: 共焦点レーザー走査顕微鏡と蛍光プローブを用いた細胞内 pH の画像化条件の検討
レーザー顕微鏡研究会第 17 回講演会 (1996. 6)

^{*} (株)ニコン顕微鏡設計

中村 竜^{*1}, 川西 徹, 田中 光^{*2}, 西丸和秀^{*2}, 重信弘毅^{*2}: 共焦点ミリ秒画像化の課題
レーザー顕微鏡研究会第 17 回講演会シンポジウム (1996. 6)

^{*1} (株)ニコン顕微鏡設計

^{*2} 東邦大学薬学部

森本和滋, A. F. A. Alim, 川崎ナナ, 早川堯夫: 蛍光体支援糖質電気泳動法 (FACE) 法による糖鎖含有タンパク質の糖鎖解析への応用
日本薬学会第 116 年会 (1996. 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および諸性質の検討
第 68 回日本生化学会大会 (1995. 9)

春日井勲, 森本和滋, 早川堯夫: TPA による M-CSF レセプター高発現 HL-60 細胞の分化
日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)

川崎ナナ, 森本和滋, 早川堯夫: K562 細胞におけるトランスフェリン鉄による増殖・ヘモグロビン合成調節機構
第 8 回金属の関与する生体関連反応シンポジウム (1996. 5)

川崎ナナ, 森本和滋, 早川堯夫: K562 細胞の赤芽球分化過程における細胞内鉄動態とヘモグロビン合成調節機構について

- 日本薬学会第116年会 (1996.3)
- 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ヘム合成調節機構について**
第7回金属の関与する生体関連反応シンポジウム(1995.6)
- 小木美恵子, 山口照英, 山口高正, 押澤 正, 鈴木和博, 岩田明子, 田中寿一, 吉川 昭*, 高橋 惇, 早川堯夫: **G-CSFによるHL-60細胞の活性酸素生成酵素の機能的成熟とそれに関わる因子の解析**
日本分子生物学会第18回年会 (1995.12)
* 埼玉日赤血液センター
- 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チロシンキナーゼによる調節**
第2回肝細胞研究会 (1995.6)
- 新見伸吾, 山口照英, 早川堯夫: **ラット初代培養肝細胞におけるグルココルチコイド受容体のチロシンキナーゼによる調節**
第68回日本生化学会大会 (1995.9)
- 小林 哲, 福岡正道, 早川堯夫, 多賀 徹*: **精巢毒性に関するフタル酸エステルの構造活性相関**
日本薬学会第116年会 (1996.3)
* 京都大学薬学部
- 早川堯夫: **遺伝子治療用医薬品の品質および安全性の確保平成7年度遺伝子治療臨床研究シンポジウム** (1996.3)
- Hayakawa, T.: **Issues Related to Harmonization of Testing Requirements for Viral Safety**
International Scientific Conference on Viral Safety and Evaluation of Viral Clearance from Biopharmaceutical Products, Bethesda, USA (1995.6)
- Hayakawa, T.: **Future Development Harmonized Guidelines**
International Scientific Conference on Viral Safety and Evaluation of Viral Clearance from Biopharmaceutical Products, Bethesda, USA (1995.6)
- Hayakawa, T.: **Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin**
The Third International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Yokohama, Japan (1995.12)
- Hayakawa, T.: **Global Perspective on Specifications for Biotechnology Products—Perspective from Japan—**
International Symposium on Development of Specifications for Biotechnology Pharmaceutical Products, San Francisco, USA (1996.5)
- 佐竹元吉: **薬用植物資源の現状と問題点**
第10回天然薬物の開発と応用シンポジウム (1995.8.3.)
- 佐竹元吉: **生薬の品質と薬局方**
- 第15回漢方学術大会 特別講演 漢方処方に用いる生薬の品質 (1995.11.19.)
- 佐竹元吉: **薬用植物の保護と保存**
日本薬学会第116年会 アジアの生薬資源シンポジウム (1996.3.28.)
- 佐竹元吉: **生薬の品質と薬局方**
日本東洋医学会第47回学術総会 生薬資源シンポジウム (1996.5.10.)
- 尾崎幸紘: **生薬の薬効評価に対する含有成分の薬理的関与について**
第7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 (1995.11)
- 尾崎幸紘: **麻黄の薬効・薬理**
第11回生薬に関する懇談会 (1995.12)
- 鈴木英世, 佐竹元吉: **局方生薬と成分定量**
日本薬学会第116年会 (1996.3)
- 刑 魯建, 尾崎幸紘, 佐竹元吉: **中国産 *Trichosanthes kirilowii* Maxm. の果実の抗炎症作用**
第69回日本薬理学会年会 (1996.3)
- 江崎勝司, 関田節子, 佐竹元吉, 矢口貴志*¹, 宇田川俊一*²: ***Chromoclestea malachitea* の代謝産物の研究**
日本薬学会第115年会 (1996.3)
*¹ 明治製薬薬品総合研究所
*² 東京農業大学
- 鎌倉浩之, 佐竹元吉: **ノルエフェドリン光学異性体のラット組織血流におよぼす影響**
日本薬学会第116年会 (1996.3)
- 蟹田理英*, 筒井夫美子*, 松田宗人*, 山下 明*, 小坂昇*, 関田節子, 佐竹元吉: **当帰の子宮平滑筋に対する作用**
日本生薬学会第42回年会 (1995.9)
* 鐘紡漢方研
- 代田 修, 滝沢謙二, 熊倉守彦, 関田節子, 佐竹元吉: **南米産生薬の成分研究—ペルー生薬 “*Palo de sangre*” および “*Ayrampo*” の成分について**
日本生薬学会第42回年会 (1995.9)
- Sekita, S.: **Pharmaceutical Standardization of Japanese Herbal Medicines**
Standardization and Quality Assurance of Herbal medicines, Science Forum, Manila, Davao, Philippine (1996.3)
- 代田 修, 関田節子, 佐竹元吉, 谷美智士*: **草珊瑚 (*Sarcandra glabra*) の成分に関する研究**
日本薬学会第116年会 (1996.3)
* タニ・クリニック
- Pathak Vibha, 代田 修, 関田節子, 佐竹元吉: **Studies on the chemical Constituents of *Dalbergia colchichinensis***

日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)

Hossain Chowdhury F., 関田節子, 佐竹元吉: **Chalcone of *Lepedeza bicolor* (Yamahagi)**
日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)

川原信夫, Ayer, W. A.*¹, 平塚保之*², Chakravarty, P.*²: ***Lecytophora hoffmannii* の産生する新規抗真菌物質 lecytophorin の構造**
日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)

*¹ アルバート大学

*² Northern Forestry Centre

杉山玲子, 小野景義, 佐竹元吉: **インターネット利用を目的とした粉末生薬画像データベースの構築**
日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)

小野景義, 阪本英二*¹, 眞崎知生*², 佐竹元吉: **エンドセリン A 受容体脱感作一種差と受容体塩基配列**
第 69 回日本薬理学会年会 (1996. 3)

*¹ 東京大学医学部

*² 京都大学医学部

Nakamura, A.: **Standards of Biological Evaluation for Biomaterials**

The 2nd Far-Eastern Symposium on Biomedical Materials (1995. 10)

中村晃忠: **防水スプレー事故の原因究明と防止対策**
第 24 回有機溶剤中毒研究会 (1995. 10)

中村晃忠: **二つの安全性問題—エチレンオキサイド滅菌とゴム手袋**
第 54 回中材業務研究会 (1996. 2)

佐藤道夫, 中村晃忠, 奚 廷斐*: **ポリウレタンの埋植による生体内変化 (4) NMR によるポリウレタンの解析**
第 17 回日本バイオマテリアル学会大会 (1995. 10)

* 中国薬品生物製品検定所

佐藤道夫, 矢上 健, 中村晃忠: **医療用具の放射線滅菌と揮発性物質に関する研究**
第 32 回全国衛生化学協議会年会 (1995. 11)

矢上 健, 中村晃忠: **ラテックスアレルギーと植物の生体防御タンパク質**
The 3rd Symposium of Asthma in Tokyo (1995. 12)

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に由来する β -1,3-グルカナーゼとの関連**
日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)

* しょうの皮膚科

鹿庭正昭, 伊佐間和郎, 都 深*¹, 西岡和恵*², 中森三千代*³: **農作業用ゴム長靴およびゴム製エプロンによるアレルギー性接触皮膚炎の原因化学物質: アミン系老化防止剤**
第 3 回日本職業アレルギー学会 (1995. 7)

*¹ 島根医科大学皮膚科

*² 山口赤十字病院皮膚科

*³ 東海大学医学部皮膚科

鹿庭正昭, 門馬純子, 伊佐間和郎, 中村晃忠: **アミン系老化防止剤によるアレルギー性接触皮膚炎 原因究明, およびアレルギー性, 交差反応性の確認**
第 32 回全国衛生化学技術協議会 (1995. 11)

鹿庭正昭, 伊佐間和郎, 中村晃忠: **ゴム製品などによるアレルギー性接触皮膚炎における原因製品と原因化学物質の関連性 (1980~1995)**
第 20 回日本接触皮膚炎学会 (1995. 12)

伊佐間和郎, 鹿庭正昭, 門馬純子, 北嶋 聡, 津田充裕, 黒川雄二, 中村晃忠: **アルデヒド類のモルモット皮膚感作性と物理化学的性質との相関性について**
第 22 回日本毒科学学会学術年会 (1995. 7)

伊佐間和郎, 鹿庭正昭: **インターネットによる家庭用品の安全性情報の提供**
第 32 回全国衛生化学技術協議会年会 (1995. 11)

中岡竜介, 土屋利江, 中村晃忠: **ポリエチレンによる細胞間連絡阻害作用とコラーゲン修飾による阻害抑制効果**
第 24 回医用高分子シンポジウム (1995. 6)

中岡竜介, 土屋利江, 中村晃忠: **ポリエチレンによる細胞間連絡阻害作用とタンパク修飾による作用変化**
第 12 回生体繊維と生医学材料に関するシンポジウム (1995. 6)

中岡竜介, 土屋利江, 中村晃忠: **高分子材料の発ガンプロモーター作用に関する研究 (2); 種々のタンパク質によるポリエチレンの表面修飾が代謝協同阻害作用に与える影響**
第 17 回日本バイオマテリアル学会 (1995. 10)

土屋利江, 中岡竜介, 出川宏規, 中村晃忠: **ポリウレタンの発癌性のイニシエーションとプロモーション作用解析**
第 12 回生体繊維と生医学材料に関するシンポジウム (1995. 6)

土屋利江, 五十嵐良明, 小栗育子, 出川宏規, 中村晃忠, 豊田和弘, 高橋道人, 土居 寿*¹, 米山隆之*¹, 浜中人士*¹: **鉄-クロム合金の生体適合性に関する研究 (4) 8ヶ月間埋植したラットでの生体内イオン溶出挙動**
第 17 回日本バイオマテリアル学会 (1995. 10)

* 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: **高分子材料の生体適合性に関する研究 (1) ポリウレタンによる細胞形質転換過程でのギャップ結合蛋白, コネキシンの変化**
第 17 回日本バイオマテリアル学会 (1995. 10)

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ション活性について**
第 17 回日本バイオマテリアル学会 (1995. 10)

出川宏規, 土屋利江, 中村晃忠: **ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の発ガンプロモーション作用について**
日本動物実験代替法学会第 9 回大会 (1995. 11)

土屋利江, 小栗育子, 山越葉子, 宮田直樹: **マウス胎仔軟骨および神経発生分化に及ぼすフラーレンの影響**

第9回フラーレン総合シンポジウム (1995.7)

土屋利江, 大島雄一, 山越葉子, 宮田直樹, 増野匡彦*¹, 廣部雅昭*¹: **水溶性フラーレン誘導体の軟骨分化促進作用について**

第10回フラーレン総合シンポジウム (1996.1)

* 東京大学薬学部

土屋利江: **医薬品プラスチック容器における細胞毒性試験について**

臨時東西合同 ED 委員会講演会 (1996.2)

Tsuchiya, T., Takahara*¹, A., Cooper, S. L.*², Nakaoka, R., Degawa, H., and Nakamura, A.: **A new hypothesis; Inhibitory potentials of the gap-junctional intercellular communication play an important role in the tumorigenesis induced by biomaterials**

15th Southern Biomedical Engineering Conference, Dayton, USA (1996.3)

*¹ 九州大学工学部

*² College of Engineering, University of Delaware

五十嵐良明, 土屋利江, 出川宏規, 中岡竜介, 中村晃忠, 豊田和弘, 高橋道人, 土居 寿*, 小林郁夫*, 米山隆之*, 浜中人士*: **チタン, ジルコニウム合金の生体適合性に関する研究 (1): 組織反応性と感作性**

第17回日本バイオマテリアル学会大会 (1995.10)

* 東京医科歯科大学医用器材研究所

五十嵐良明, 別府正敏*, 菊川清見*: **ビタミン E の接触感作性免疫反応に対する増強効果**

日本薬学会第116年会 (1996.3)

* 東京薬科大学薬学部

Shintani, H.: **Leaching of toxic and carcinogenic additives and residual monomer from dental plate**

30th Annual AAMI Meeting & Exposition, Anaheim, CA (1995.5)

Shintani, H.: **What are the safest sterilization methods for medical devices?**

30th Annual AAMI Meeting & Exposition, Anaheim, CA (1995.5)

Shintani, H.: **Automated system of the combination of solid phase extraction and dialysis for pretreatment of blood urea analysis**

1995 Preparative Chromatography Symposium, Washington, DC (1995.6)

新谷英晴: **高圧蒸気滅菌のバリデーション**
PDA 教育セミナー (1995.7)

新谷英晴: **滅菌のバリデーション**
PDA 教育セミナー (1995.8)

Shintani, H.: **Differential uremic toxin analysis using combination of automated dialysis, automated solid phase extraction and automated HPLC**

4th International Congress of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology, Vienna (1995.9)

Shintani, H.: **Review presentation on comparison of several methods for blood urea analysis**

Invited lecture at 49th Slovakia Chemical Society Symposium (1995.9)

Shintani, H.: **Comparison of efficiency of blood pretreatment between automated solid phase extraction and automated dialysis**

Applications of HPLC and HPCE in the Biosciences, Prague, Czech Republic (1995.9)

Shintani, H.: **Which method for urea analysis is more appropriate between C-18 HPLC combined with immobilized enzyme and cation exchange chromatography?**

International ion chromatography symposium, Dallas, TX, USA (1995.10)

新谷英晴: **生物指標の D 値に及ぼす担体, 懸濁液, 培地組成の影響**

日本 PDA 第3回年回 (1995.11)

Shintani, H.: **Hyphenated system of combination of solid phase extraction, automated dialysis and HPLC for blood uremic toxin analysis**

International Symposium on Hyphenated Techniques in Chromatography HTC 4, Hyphenated Chromatographic Analyzers, Antwerpen, Belgium (1996.2)

新谷英晴: **ISO/TC198 東京国際会議報告 WG4, 生物指標**

第7回医用器材研究会 (1996.3)

Shintani, H.: **How to attain appropriate condition for blood urea analysis**

Invited presentation at Korean Institute of Science Technology (1996.4)

Shintani, H.: **Several parameters affecting to D value of biological indicator**

31st Annual AAMI Meeting & Exposition, Philadelphia, PA (1996.6)

Shintani, H.: **Newly toxic compounds detection and determination from dental material**

Preparative chromatography, Ion exchange, adsorption/desorption process, and related separation techniques, Washington (1996.5)

Shintani, H.: **Automated system of solid phase extraction for toxic compound analysis**

Washington chromatography discussion group, Washington (1996.5)

林 譲, 松田りえ子: **分析機器から得られる観測量の確率的性質について 測定によって区別できる最小濃度差について**

日本分析化学会第44年会 (1995.9)

林 譲, 松田りえ子: **分析機器から得られる観測量の確率的性質について 分析値は正規分布を示すか?**

日本分析化学会第44年会 (1995.9)

- 林 讓, 松田りえ子: 定量分析の精度を予測するためのコンピュータソフトの開発
日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)
- 松村年郎, 関田 寛, 安藤正典, 希代 誠*: パラジクロロベンゼンの室内および個人暴露濃度の測定結果について
第 1 回室内空気研究大会 (1995. 9)
* ガステック㈱
- 松村年郎: 化学物質による室内汚染について
第 36 回大気環境学会 (旧称・大気汚染学会) (1995. 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 (16) 室内空気中の酸性ガスの定量法の検討とそのアプリケーションについて
第 36 回大気環境学会 (1995. 11)
* ガステック㈱
- 松村年郎, 関田 寛, 安藤正典: 化学物質による室内汚染 (17) 室内空気中の有機リン化合物の定量法の検討とそのアプリケーションについて
第 36 回大気環境学会 (1995. 11)
- 松村年郎, 関田 寛, 安藤正典, 渡辺文雄*: 化学物質による室内汚染 (18) NO₂ 測定用パッシドジチューブの開発
第 36 回大気環境学会 (1995. 11)
* ガステック㈱
- 村松 学*¹, 松村年郎, 岡本繁雄*²: 都立学校の空気環境調査について
第 36 回大気環境学会 (1995. 11)
*¹ 武蔵野女子大学
*² 日本大学薬学部
- 徳永裕司, 木嶋敬二, 安藤正典: メチルパラベン, エチルパラベンおよびサリチル酸を透過指標物質とした界面活性剤の剥離皮膚への影響
第 32 回全国衛生化学技術協議会年会 (1995. 11)
- 徳永裕司, 木嶋敬二, 安藤正典: メチルパラベン, エチルパラベンあるいはサリチル酸を透過指標物質とした非イオン性界面活性剤のポリオキシエチレン (EO) 鎖の剥離皮膚への影響
日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)
- 内野 正, 木嶋敬二, 安藤正典: ヘマトポルフィリン—UVA 増感の赤血球中の過酸化脂質および溶血に与える影響
第 3 回生体パーオキサイド研究会 (1995. 5)
- 内野 正, 木嶋敬二, 安藤正典: 3 次元培養細胞 (skin²) に対する UVA の影響
日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)
- 埴岡伸光, 神野透人, 西村哲治, 安藤正典: トルエン代謝に關与するイヌ肝ミクロゾームのシトクロム P450 分子種
第 4 回環境化学討論会 (1995. 6)
- 石井祐次*, 鶴田和興*, 高見篤子*, 埴岡伸光, 小栗一太*: Gunn ラットにおける Phenobarbital 誘導性 p-Nitrophenol UDP-グルクロン酸転移酵素の欠損につい
- て
第 22 回日本毒科学会学術年会 (1995. 7)
* 九州大学薬学部
- 西村哲治, 相澤貴子*, 埴岡伸光, 神野透人, 眞柄泰基*, 安藤正典: イソプロチオラン塩素処理副生成物の細胞毒性と遺伝毒性
第 68 回日本生化学会大会 (1995. 9)
* 国立公衆衛生院
- 神野透人, 埴岡伸光, 西村哲治, 安藤正典: ジフェニルエーテル系除草剤による培養ラット肝細胞の薬物代謝酵素誘導
第 1 回エコトキシコロジー研究会・バイオアッセイ研究会合同研究発表会 (1995. 9)
- 神野透人, 西川佐和子*, 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変異原性と肝細胞毒性
第 21 回環境トキシコロジーシンポジウム (1995. 10)
* 共立薬科大学
- 西村哲治, 埴岡伸光, 神野透人, 安藤正典: バイオアッセイによる水道水質の安全性評価
第 32 回全国衛生化学技術協議会年会 (1995. 11)
- 西村哲治, 埴岡伸光, 神野透人, 安藤正典, 相澤貴子*, 眞柄泰基*: マウス白血病細胞を用いた塩素処理副生成物の遺伝子毒性評価
第 30 回日本水環境学会年会 (1996. 3)
* 国立公衆衛生院
- 西村哲治, 埴岡伸光, 神野透人, 安藤正典: マウスリンフォーム試験による水環境中の化学物質の評価法の検討
日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)
- 神野透人, 西川佐和子*, 埴岡伸光, 西村哲治, 与田玲子*, 安藤正典: イソプロチオランの消毒副生成物であるクロロマロン酸ジイソプロピルの肝細胞毒性
日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)
* 共立薬科大学
- 土屋悦輝*¹, 大橋則雄*¹, 安藤正典, 西村哲治, 内海英雄*², 中室克彦*³, 広瀬義文*⁴, 深沢喜延*⁵, 吹野秀危*⁶, 伏脇裕一*⁷, 森 康明*⁸: 環境試験法・水質試験法・アンチモンおよびセレン
日本薬学会第 116 年会・公衆衛生協議会 (1996. 3)
*¹ 東京都立衛生研究所
*² 九州大学薬学部
*³ 摂南大学薬学部
*⁴ 埼玉県衛生研究所
*⁵ 山梨県衛生研究所
*⁶ 環境管理センター
*⁷ 神奈川県環境センター
*⁸ 神奈川県衛生研究所
- 土屋悦輝*¹, 大橋則雄*¹, 安藤正典, 西村哲治, 内海英雄*², 中室克彦*³, 広瀬義文*⁴, 深沢喜延*⁵, 吹野秀危*⁶, 伏脇裕一*⁷, 森 康明*⁸: 環境試験法・水質試験法・トリハロメタン生成能

日本薬学会第116年会・公衆衛生協議会 (1996.3)

- *1 東京都立衛生研究所
- *2 九州大学薬学部
- *3 摂南大学薬学部
- *4 埼玉県衛生研究所
- *5 山梨県衛生研究所
- *6 環境管理センター
- *7 神奈川県環境センター
- *8 神奈川県衛生研究所

西村哲治, 相澤貴子*, 埴岡伸光, 神野透人, 眞柄泰基*, 安藤正典: 哺乳動物細胞を用いた水道水質の安全性評価
第47回全国水道研究発表会 (1996.5)

* 国立公衆衛生院

中川順一*1, 西村哲治, 高木博夫*2, 高橋清*3, 島垣純*4, 沖恒二*5, 梶正一*6, 寺嶋勝彦*7, 木村繁夫*8: **CNP代替農薬の分析方法**
第47回全国水道研究発表会 (1996.5)

- *1 東京都立衛生研究所
- *2 国立環境研究所
- *3 仙台市水道局
- *4 東京都水道局
- *5 横浜市水道局
- *6 大阪府水道局
- *7 大阪市水道局
- *8 福岡県南広域水道事業団

岡和子*, 神野透人, 細末次郎*, 埴岡伸光, 加納茂*, 西村哲治, 水藤正道*, 安藤正典: **GC/MSによるアルデヒド類分析法の検討**
第47回全国水道研究発表会 (1996.5)

* 広島市衛生研究所

豊田正武: **アフラトキシンの分析法の改良**
マイコトキシン研究会第42回学術講演会 (1996.1)

豊田正武, 宮原誠, 穂山浩, 斎藤行生: **簡易型高感度濁度計および液中微粒子計数器による市販ミネラルウォーター中微粒子の計測**
日本食品衛生学会第71回学術講演会 (1996.5)

松田りえ子, 林譲, Russell B. Poe, 佐々木久美子, 斎藤行生: **分析機器から得られる観測量の確率的性質について; キャピラリー電気泳動の精度向上のための方法**
日本分析化学会第44年会 (1995.9)

松田りえ子, 林譲, 佐々木久美子, 斎藤行生: **分析機器から得られる観測量の確率的性質について; 検量線から逆推定される定量値の確率論**
日本分析化学会第44年会 (1995.9)

松田りえ子, 林譲, 佐々木久美子, 斎藤行生: **検量線によって推定された試料濃度の信頼性について III. 標準添加法のデザインと精度について**
日本薬学会第116年会 (1996.3)

高附巧, 佐々木久美子, 斎藤行生: **有機リン系農薬28種の一斉分析法の検討**
第32回全国衛生化学技術協議会年会 (1995.11)

五十嵐敦子, 佐々木久美子, 斎藤行生: **食品汚染物質モニタリングデータの解析 (1) —魚体重差における汚染状況について—**
第32回全国衛生化学技術協議会年会 (1995.11)

Suzuki, T., Yamada, H.*1, Yamamoto, I.*2, Saito, Y.: **Molecular Species of Organotin Compounds in the Seawater and their Seasonal Variations**
41st International Conference on Analytical Sciences and Spectroscopy (August 16, 1995, Windsor, Canada)

*1 National Research Institute of Fisheries Sciences
*2 Division of Food, Hokkaido Institute of Public Health

Murayama, M., Saito, Y.: **Official analytical method for residual antiparasitic drugs in animal products**
15th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, Yokohama, Japan (1995.9)

清水孝重*1, 加藤喜昭*1, 中村幹雄*1, 三浦博史*2, 北村美江*2, 溝辺圭子*2, 渡邊正己*2, 池永敏彦*2, 米谷民雄, 合田幸広: **ハマボウフウ (*Glehnia littoralis*) 培養細胞のアントシアニン生産性と生産色素の構造**
日本食品化学学会第2回総会学術大会 (1996.5)

*1 三栄源 FFI (株)
*2 長崎大学薬学部

合田幸広, 中村裕道, 坂元史歩, 米谷民雄: **トウガラシ色素成分の光安定性について**
日本食品化学学会第2回総会学術大会 (1996.5)

山田真記子*, 加藤喜昭*, 中村幹雄*, 合田幸広, 米谷民雄, 山田隆: **食用赤色2号中の不純物とその実態調査**
日本食品衛生学会第71回学術講演会 (1996.5)
* 三栄源 FFI (株)

Miyahara, M., Akiyama, H., Toyoda, M. and Saito, Y.: **Some Phytochemicals in Vegetables as Potent Inhibitors of Human DNA Topoisomerase II**
International Conference on Food Factors: Chemistry and Cancer Prevention, Hamamatsu (1995)

Miyahara, M., Akiyama, H., Narui, T.*1, Toyoda, M., Okuyama, T.*2 and Saito, Y.: **Anthraquinones and Flavonoids in Food as Potent Inhibitors of Human DNA Topoisomerase II**
1995 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Honolulu (1995)
* 明治薬科大学

宮原誠, 穂山浩, 豊田正武, 斎藤行生: **レーザー蛍光検出器を用いるオルトチロシンの分析**
日本薬学会第116年会 (1996.3)

穂山浩, 宮原誠, 豊田正武, 斎藤行生: **固相抽出法を用いたピーナッツ等中のアフラトキシンの迅速定量法**
日本食品衛生学会第70回学術講演会 (1995.10)

穂山浩, 宮原誠, 豊田正武, 斎藤行生: **食品および飼料中のフモニシン分析について**

第 32 回全国衛生化学技術協議会年会 (1995. 11)

穂山 浩, 手島玲子, 豊田正武, 澤田純一, 斎藤行生, 神田智正*, 柳田顕郎*, 田辺正行*: リンゴ未熟果実ポリフェノールの RBL-2H3 細胞株における細胞内カルシウム濃度上昇の抑制

日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)

*¹ ニッカウキスキー(株)

穂山 浩, 豊田正武, 斎藤行生, 植木銘衣子*¹, 神田智正*², 柳田顕郎*², 田辺正行*²: I 型アレルギーモデルを用いた試験によるリンゴ未熟果実ポリフェノールの抗アレルギー活性の評価

日本食品衛生学会第 71 回学術講演会 (1996. 5)

*¹ 共立薬科大学

*² ニッカウキスキー(株)

西島基弘*, 伊藤誉志男, 加藤嘉昭*, 川名清子*, 斎藤和夫, 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*: D-ソルビトール, D-マンニトールおよびキシリトール: イオン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 116 年会 (1996. 3)

* 日本薬学会衛生試験法部会 食品添加物専門委員会

太田光恵*, 成田美加子*, 三好智子*, 糸山智子*, 木村実加*, 小林美穂*, 越智礼子*, 関口幸弘*, 鯉口 智*, 平原嘉親*, 長谷川真住*, 宮田昌弘*, 鎌倉和政*, 前田憲二*, 乙益道隆*, 石綿 肇: GC および GC/MS によるチューインガム中の酸化防止剤 (BHA, BHT, TBHQ) の同時分析法の検討

日本食品衛生学会第 70 回学術講演会 (1995. 10)

* 神戸検疫所輸入食品・検査検査センター

米谷民雄, 鈴木資子, 久保田浩樹, 山田 隆: アルミニウムをマルトールとともに投与した時の肝中タウリンの減少第 7 回金属の関与する生体関連反応シンポジウム (1995. 6)

米谷民雄, 久保田浩樹, 山田 隆: HPLC-ICP 直結法によるカラメル色素中イオウの存在状態の分析

日本食品化学学会第 1 回総会学術大会 (1995. 7)

米谷民雄, 久保田浩樹, 鈴木資子, 山田 隆: 真空型 ICP 発光分析法によるイオウ含量を指標とした市販カラギナン類の識別

第 32 回全国衛生化学技術協議会年会 (1995. 11)

山田真記子*, 加藤喜昭*, 中村幹雄*, 合田幸広, 米谷民雄: 食用黄色 5 号中の不純物について

日本食品化学学会第 1 回総会学術大会 (1995. 7)

* 三栄源 FFI(株)

合田幸広, 坂元史歩, 中西俊元, 米谷民雄, 山田 隆: パブリカ (トウガラシ) 中の主色素成分の構造について

日本食品化学学会第 1 回総会学術大会 (1995. 7)

山田真記子*, 加藤喜昭*, 中村幹雄*, 合田幸広, 米谷民雄, 山田 隆: 食用赤色 102 号中の不純物について

日本食品衛生学会第 70 回学術講演会 (1995. 10)

* 三栄源 FFI(株)

合田幸広, 坂元史歩, 中村裕道, 米谷民雄, 山田 隆: トウガラシ中のカプサンチンのエステル化について

第 9 回カロテノイド研究談話会 (1995. 11)

Goda, Y., Sakamoto, S., Nakanishi, T., Nakamura, H., Maitani, T., and Yamada, T.: Esterified carotenoids in *Capsicum oleoresin*

2nd International Congress and Symposium on Natural Colorants, Acapulco, Mexico (1996. 1)

佃 昌俊*, 合田幸広, 千野 誠*, 武田明治*: 食用青色 1 号に含まれる付随色素 (副成色素) について

日本食品科学工学会第 43 回大会 (1996. 3)

* 日本大学農獣医学部

佐藤恭子, 合田幸広, 柴田 博, 坂元史歩, 米谷民雄, 山田 隆: 市販ベニコウジ色素の主色素成分の構造

日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)

佐藤恭子, 坂元史歩, 柴田 博, 合田幸広, 米谷民雄: 市販ベニコウジ色素の分析

日本食品化学学会第 2 回総会学術大会 (1996. 5)

Ishikawa, K.*¹, Janos, T.*¹, Sakamoto, S., Goda, Y., and Nunomura, O.*²: The genetic analysis of capsaicinoids contents in *Capsicum annum L.*, *C. chinense Jacq.* and their backcross generation

IXth Meeting on Genetics and Breeding on Capsicum and Eggplant, Budapest, Hungary (1995. 8)

*¹ Chiba University

*² Nihon Horticultural Production Institute

久保田浩樹, 佐藤恭子, 米谷民雄, 山田 隆: Gly 欠損型フィトケラチンの誘導に対するグルタチオンおよび γ -グルタミルシステインの影響

日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)

久保田浩樹, 佐藤恭子, 山田 隆, 米谷民雄: 色素産生植物培養細胞での Fe によるフィトケラチンの誘導能について

第 8 回金属の関与する生体関連反応シンポジウム (1996. 5)

河村葉子, 杉田たき子, 山田 隆, 斎藤行生: Half-embryo test による照射柑橘類検知法の collaborative study について

日本食品照射研究協議会第 31 回大会 (1996. 1)

河村葉子: 照射食品の検知技術

第 6 回放射線プロセスシンポジウム (1996. 1)

辰濃 隆*, 河村葉子, 杉田たき子, 大出 譲*, 風間成孔*, 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*, 渡辺悠二*: アミン類; 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 116 年会 (1996. 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, 三浦麻記子, 杉田たき子, 山田 隆, 武田明治*: 高速液体クロマトグラフィーによるポリエチレン中

の酸化防止剤および紫外線吸収剤の一斉分析法

日本食品化学学会第2回学術大会 (1996. 5)

* 日本大学農獣医学部

宮田直樹：ニトロ多環芳香族炭化水素の化学反応と毒性発現機構

未規制大気汚染物質の挙動と毒性—発がん関連物質シンポジウム (1995. 6)

世良暢之*¹, 常盤寛*², 山越葉子, 宮田直樹：C60と発がん物質との相互作用：突然変異誘発能の抑制
第9回フラーレン総合シンポジウム (1995. 7)

*¹ 福岡県保健環境研究所

*² 九州女子大

栗原正明, 袴田 航, 宇賀神正代, 伊東幸子, 堤のぞみ, 宮田直樹：ジオキシランを用いた立体選択的エポキシ化反応

第21回反応と合成の進歩シンポジウム (1995. 11)

大森清美*, 岸美知子*, 中岡正吉*, 宮田直樹：ニトロアレーン類の変異原性に及ぼすナフトキノンの影響
日本環境変異原学会第24回大会 (1995. 11)

* 神奈川県衛生研究所

世良暢之*¹, 常盤 寛*², 山越葉子, 宮田直樹：フラーレンの突然変異誘発機構の解析

日本環境変異原学会第24回大会 (1995. 11)

*¹ 福岡県保健環境研究所

*² 九州女子大

Tanno, M., Sueyoshi, S., and Miyata, N.: Solid-State Thermolysis of Aromatic N-Nitrosoureas: Selective Formation of Nitric Oxide and Triazene

1995 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (1995. 12)

宮田直樹, 丹野雅幸, 末吉祥子：NOの基礎：NO発生化合物

第27回放医研シンポジウム (1995. 12)

Tokiwa, H.*¹, Sera, N*², and Miyata, N.: Singlet Oxygen Generated by Fullerenes; Mechanism of Lipid Peroxidation and Mutagenicity

International Conference on Food Factors: Chemistry and Cancer Prevention (1995. 12)

*¹ Kyushu Women's Univ.

*² Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences

山越葉子, 山崎恵美子, 末吉祥子, 宮田直樹：光照射下におけるC60の溶血作用

第10回フラーレン総合シンポジウム (1996. 1)

世良暢之*, 高田 智*, 近藤隆一郎*, 坂井克己*, 山越葉子, 宮田直樹：白色腐朽菌 *Phanerochaete chrysosporium* によるフラーレンの分解

第10回フラーレン総合シンポジウム (1996. 1)

* 福岡県保健環境研究所

丹野雅幸, 末吉祥子, 宮田直樹：一酸化窒素発生化合物の設計, 合成, 作用解析

高度化推進 (大学院重点) 特別経費公開シンポジウム (1996. 3)

宮田直樹：スーパーオキシドの発生・反応・消去—毒物化学の立場から—

12th Clinical Conference on Free Radicals (1996. 3)

栗原正明, 亀田まり, 宮田直樹：ジオキシランを用いたアリルアルコール誘導体のエポキシ化反応

日本薬学会 116 年会 (1996. 3)

Pathak, Ashish K., 林 多恵子, 栗原正明, 宮田直樹：光学活性ジオールを用いた不斉アセタール化反応

日本薬学会 116 年会 (1996. 3)

末吉祥子, 丹野雅幸, 宮田直樹：アミドオキシム誘導体の一酸化窒素発生能

日本薬学会 116 年会 (1996. 3)

丹野雅幸, 末吉祥子, 宮田直樹：芳香族 N-ニトロソ化合物の固体状態における熱分解：トリアゼンと一酸化窒素の選択的生成反応

日本薬学会 116 年会 (1996. 3)

山越葉子, 矢上 健, 末吉祥子, 宮田直樹：アクリジン残基を有する [60] フラーレン誘導体の合成

日本薬学会 116 年会 (1996. 3)

小林茂樹*, 浜島 肇*, 小林拓軌*, 圧地なほみ*, 石井耀子*, 田中 彰*, 宮田直樹：平行二重鎖ペプチド類縁体の MIC 値より得られる構造-活性相関について

日本薬学会 116 年会 (1996. 3)

* 昭和薬科大学

小林茂樹*, 中村嘉秀*, 浜島 肇*, 新井武利*, 田中彰*, 宮田直樹：制ガン剤シスプラチン結合 DNA と DNA トポイソメラーゼ作用について

日本薬学会 116 年会 (1996. 3)

* 昭和薬科大学

宮田直樹, 山越葉子, 末吉祥子, 世良暢之*¹, 常盤寛*²：光照射下における C60 の生物作用：活性酸素種による生体分子損傷反応の解析

第18回磁気共鳴医学会 (1996. 5)

*¹ 福岡県保健環境研究所

*² 九州女子大

中島 治, 蜂須賀暁子, 山崎 壯, 澤田純一：オピオイド結合タンパク (OBCAM) の cDNA クローニングと大腸菌における発現

第68回日本生化学会大会 (1995. 9)

斎藤嘉朗, 山崎 壯, 池淵秀治, 澤田純一：プロテアーゼによるヒト成長ホルモン結合蛋白の放出

第68回日本生化学会大会 (1995. 9)

Saito, Y., Teshima, R., Yamazaki, T., Ikebuchi, H., and Sawada, J.: Ligand-Induced Internalization and Phosphorylation-Dependent Degradation of Human

Growth Hormone Receptor

9th International Conference on Second Messengers & Phosphoproteins, Nashville, Tennessee, USA (1995. 10)

池淵秀治, 斎藤嘉朗, 田中東一, 手島玲子, 澤田純一, 二本芳人*¹, 一戸正勝*²: **A. Fumigatus 抗原によるアレルギー診断の簡易測定法について**
第29回日本医真菌学会 (1995. 10)

*¹ 川崎医科大学

*² 東京家政大学

Teshima, R., Ikebuchi, H., Kitani, S.*¹, Furuno, T.*², Nakanishi, M.*², and Sawada, J.: **Stimulatory effects of pervanadate on calcium signals, histamine secretion and CD63 antigen expression in RBL-2H3 cells**

9th International Congress of Immunology, San Francisco, California, USA (1995. 7)

*¹ University of Tokyo

*² Nagoya City University

Furuno, T.*, Teshima, R., and Nakanishi, M.*: **Confocal fluorescence microscopy for studying the surface expression of CD63 antigen in rat basophils and mast cells**

9th International Congress of Immunology, San Francisco, California, USA (1995. 7)

* Nagoya City University

Teshima, R., Akasaka, R., Saito, Y., Ikebuchi, H., Sawada, J., Kitajima, S., Momma, J., Inoue, T., and Kurokawa, Y.: **Emptying of intracellular calcium stores by some hydroquinones permits degranulation of RBL-2H3 cells in the presence of phorbol ester**

9th International Conference on Second Messengers & Phosphoproteins, Nashville, Tennessee, USA (1995. 10)

手島玲子, 斎藤嘉朗, 池淵秀治, 澤田純一, 中西 守*: **変異 IgE 受容体導入肥満細胞の蛋白質チロシンリン酸化反応の解析**

第68回日本生化学会大会 (1995. 9)

* 名古屋市立大学薬学部

今井優樹*¹, 古野忠秀*¹, 手島玲子, 澤田純一, 木谷誠一*², 中西守*¹: **抗 CD63 抗体を用いた脱顆粒反応の画像解析**

第68回日本生化学会大会 (1995. 9)

*¹ 名古屋市立大学薬学部

*² 東京大学医学部

赤坂玲子, 北嶋 聡, 門馬純子, 井上 達, 黒川雄二, 手島玲子, 池淵秀治, 澤田純一: **好塩基球細胞からの脱顆粒反応への種々の抗酸化剤の影響について**

第68回日本生化学会大会 (1995. 9)

古野忠秀*¹, 手島玲子, 今井優樹*¹, 木谷誠一*², 澤田純一, 中西守*¹: **肥満細胞の脱顆粒反応と CD63 (AD1) 抗原の動態**

第17回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム (1995. 10)

*¹ 名古屋市立大学薬学部

*² 東京大学医学部

手島玲子: **種々の化学物質による培養ラット好塩基球細胞からの脱顆粒 (ヒスタミン遊離) の促進について**
第9回日本動物実験代替法学会 (1995. 11)

赤坂玲子, 手島玲子, 池淵秀治, 澤田純一: **好塩基球細胞の Ca²⁺ 応答および leukotriene C₄ 遊離に対する3種の Ca²⁺-ATPase 阻害剤の影響**
日本薬学会第116年会 (1996. 3)

古野忠秀*, 今井優樹*, 中西 守*, 手島玲子, 澤田純一: **IgE レセプター導入肥満細胞を用いた画像解析法による脱顆粒反応の研究**

日本薬学会第116年会 (1996. 3)

* 名古屋市立大学薬学部

鈴木真弓*, 古野忠秀*, 中西 守*, 手島玲子, 澤田純一: **PC12 細胞の神経突起の伸長とカルシウムシグナル**
日本薬学会第116年会 (1996. 3)

* 名古屋市立大学薬学部

鈴木和博, 山口照英, 田中寿一, 川西 徹, 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 細胞の活性化時におけるコフィリンの脱リン酸化と膜への移行**

第68回日本生化学会大会 (1995. 9)

* 東京大学薬学部

Suzuki, K., Yamaguchi, T., Tanaka, T., Nishimaki-Mogami, T., Kawanishi, T., Yamamoto, K.*, Tsuji, T.*, Irimura, T.*, Hayakawa, T., and Takahashi, A.: **Activation induces dephosphorylation of cofilin and its translocation to plasma membranes in neutrophil-like HL-60 cells**

9th International Conference on Second Messengers & Phosphoproteins, Nashville, Tennessee, USA (1995. 10)

* 東京大学薬学部

最上(西巻)知子, 鈴木和博, 大河内江里子, 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細胞からの VLDL 分泌調節機構**
第68回日本生化学会大会 (1995. 9)

大河内江里子, 最上(西巻)知子, 鈴木和博, 高橋 惇: **Perfluorooctanoic acid による肝細胞からの VLDL 分泌の低下**

日本薬学会第116年会 (1996. 3)

三瀬勝利: **製剤原料の微生物限度試験法**

第7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 (1995. 11)

三瀬勝利: **非無菌製剤の品質保証のための微生物限度試験**
第14回環境殺菌分野事例研究会 (1996. 1)

安住聡子, 小島保彦*¹, 高橋徹*¹, 谷村顕雄*², 棚元憲一: **桂皮中に存在する内毒素活性抑制物質の性状と作用機構**

第42回日本生薬学会年会 (1995. 9)

*¹ 山之内製薬・健康科学研

*² 昭和女子大

棚元憲一, 配島由二, 隅田泰生*, 深瀬浩一*, 楠本正一*: 内毒素アタゴニスト構造誘導を決定する構造因子の解析

第69回日本細菌学会総会 (1996.3)

* 大阪大学理学部

安住聡子, 谷村顕雄*, 棚元憲一: 桂皮中に存在する内毒素活性抑制物質は抗菌活性を有する

第69回日本細菌学会総会 (1996.3)

* 昭和女子大

加藤仁美, 配島由二, 飯田貴敏, 田中 彰*, 棚元憲一: 低毒性リピド A におけるハイブリッドバックボーンの特徴

第69回日本細菌学会総会 (1996.3)

* 昭和薬科大学

加藤仁美, 安住聡子, 配島由二, 田中 彰*, 棚元憲一: 低毒性 *Flavobacterium meningosepticum* リピド A の特徴的な生物活性

第68回日本細菌学会総会 (1996.3)

* 昭和薬科大学

熊田秀文, 中務朝紀*, 梅本俊夫*, 配島由二, 棚元憲一: *Selenomonas sputigena* リピド A の構造解析

第69回日本細菌学会総会 (1996.3)

* 神奈川歯科大

細瀬和成*, 配島由二, 棚元憲一: $^{60}\text{Co}-\gamma$ 線によるエンドトキシンの不活化

第23回日本防菌防微学会年次大会 (1996.5)

* 東京都立アイソトープ総合研究所

Kobatake, M., Sato, A.*¹, Tonogai, Y., Tumura, Y., Ito, Y.*² and Terao, M.*³: Production of styrene by yeasts from foods

7th International Symposium on Microbial Ecology, Santos, Saõ Paulo, Brazil (1995.8)

*¹ 新潟県立女子短期大学

*² 現, 武庫川女子大学薬学部

*³ 新潟県立衛生公害研究所

Sato, A.*¹, Kobatake, M., Tonogai, Y., Tumura, Y., Ito, Y.*² and Terao, M.*³: Antifungal effect of garlic extract against styrene-producing yeasts

7th International Symposium on Microbial Ecology, Santos, Saõ Paulo, Brazil (1995.8)

*¹ 新潟県立女子短期大学

*² 現, 武庫川女子大学薬学部

*³ 新潟県立衛生公害研究所

宮原美知子, 小沼博隆, 三瀬勝利: *Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌) からの制限酵素の検索

日本食品衛生学会第70回学術講演会 (1995.10)

宮原美知子: 制限酵素 *StyD4I* 関連遺伝子の解析

第18回日本分子生物学会 (1995.12)

宮原美知子: DNA(cytosine-5)methyltransferase 産生遺伝子の検索

日本薬学会第116年会 (1996.3)

上田成子*¹, 安形則雄*², 小沼博隆, 品川邦汎*³, 桑原祥浩*¹: 精白米の *Bacillus thuringiensis* に関する研究

日本防菌防微学会第22回年次大会 (1995.5)

*¹ 女子栄養大学

*² 名古屋市衛生研究所

*³ 岩手大学

上田成子*¹, 品川邦汎*², 小沼博隆, 桑原祥浩*¹: BT 剤散布後のキャベツ圃場における *Bacillus thuringiensis* の消長

第16回日本食品微生物学会学術総会 (1995.12)

*¹ 女子栄養大学

*² 岩手大学

小沼博隆: カット野菜の微生物汚染実態

日本食品衛生学会第69回学術講演会 (1995.5)

後藤公吉*¹, 栗原健志*², 今井忠平*², 小沼博隆, 品川邦汎*³: 卵殻表面採卵農場から GP (格付け・包装) センターまでの各工程での卵殻表面の細菌汚染

第16回日本食品微生物学会学術総会 (1995.12)

*¹ 新潟県衛生公害研究所

*² (株)キューピー

*³ 岩手大学

小沼博隆: 製造管理における衛生管理と品質保証—国際動向とわが国の現状

日本防菌防微学会環境殺菌分野事例研究会 (1996.1)

上野泰昭*¹, 上田成子*², 小沼博隆, 小野勝彦*¹, 品川邦汎*¹: 豆腐原料大豆と豆腐の *Bacillus thuringiensis* について

第121回日本獣医学会学術総会 (1996.4)

*¹ 岩手大学

*² 女子栄養大学

酒井綾子: BALB/3T3 細胞トランスフォーメーションに対するプロテインチロシンホスファターゼ阻害剤, パナジン酸塩の作用

第54回日本癌学会総会 (1995.10)

末岡榮三郎*¹, 岡部幸子*¹, 菅沼雅美*¹, 小森敦正*¹, 末岡尚子*¹, 坂井雄三*¹, 酒井綾子, 藤木博太*¹: 内因性発癌プロモーター, TNF- α の標的臓器における発現と発癌プロモーション活性

第54回日本癌学会総会 (1995.10)

*¹ 埼玉がんセンター研究所

酒井綾子, 山越葉子, 宮田直樹: 光照射による C₆₀ の細胞毒性の発現とトランスフォーメーション活性

第10回フラーレン総合シンポジウム (1996.1)

松谷佐知子: IS114B 蛋白質の IS DNA と転移ホットスポットへの距離依存的な作用

第18回日本分子生物学会年会 (1995.12)

高鳥浩介, 朴鍾吉吉, 鈴木明子, 成田紀子, 齊藤紀子*: *Cladosporium* のプラスチック類への汚染

第69回日本食品衛生学会 (1995.5)

* 東京農業大学

太田利子*, 鈴木明子, 成田紀子, 高鳥浩介: **衣服に付着する真菌アレルゲンの分布**
第22回日本防菌防黴学会年次大会 (1995. 5)

* 相模女子大学

Takatori, K., Park, J.-C., Lee, H.-J.*¹, Ohta, T.*², Yasueda, H.*³, Akiyama, K.*³: **Fungal allergens in house dust and the allergenicity**
第3回日中国際真菌学会議 (1995. 9)

*¹ (財)食品薬品安全センター

*² 相模女子大学

*³ 国立相模原病院

中田琴子: **神経回路網によるタンパク質の二次構造予測**
第33回日本生物物理学会年会 (1995. 9)

Nakata, K.: **Receptor Database Representation Genome Informatics Workshop VI**
Yokohama (1995. 12)

Nakata, K.: **Protein Secondary Structure Analysis International Workshop on Structural Biology of DNA, RNA and Proteins**
Tsukuba (1996. 3)

中野達也, 長谷川式子, 山本 都, 神沼二真, 平山令明*¹, 川出 達*²: **構造情報と相互作用情報を有する医薬品データベースの開発**
日本薬学会第116年会 (1996. 3)

*¹ 東海大学開発工学部

*² データインデックス(株)

大竹千代子, 中野達也, 神沼二真: **インターネットによる化学物質安全性情報の案内システムの開発**
第25回ドクメンテーション・シンポジウム (1995. 6)

Sekizawa J., Takei R.*¹, Shimai S.*², Sugimori S.*³: **Risk communication on consumer chemical products Abstracts of Annual Meeting of Society for Risk Analysis and the Japan Section of SRA** (1995. 12)

*¹ ライオン(株)

*² 神戸女学院大学

*³ 東京家政大学

Sekizawa J., Yamagami T.*¹, Ohmura E.: **Environmental risk assessment of pesticides using an integrated database system**
Abstracts of International Workshop on Chemical Safety Research. (1996. 1)

*¹ 東京農業大学

関沢 純, 中村幸二*¹, 吉田喜久雄*²: **農薬の環境動態予測へのPRZMモデルのわが国での適用**
日本農薬学会第21回大会 (1996. 3)

*¹ 埼玉県農業試験場

*² 三菱化学安全科学研究所

Igarashi, T., Nadaoka, Y.*, and Kaminuma T.: **A data**

and knowledge base for cell signaling networks
Genome Informatics Workshop VI, Yokohama, Japan (1995. 12)

* Tokyo Metro.Inst.of Medical Science

五十嵐貴子, 灘岡陽子*¹, 石川恵司*², 神沼二真: **インターネット上の分散データベースとしてのWWWとCSN-DBの統合**
第18回情報化学討論会 (1996. 11)

*¹ (財)都臨床研

*² (株)アドイン研究所

灘岡陽子*¹, 石川恵司*², 五十嵐貴子, 福島佐知子*³, 山口明美*³, 細矢治夫*³, 神沼二真: **インターネット上の分散データベースとしてのWWWとSybaseの統合**
第18回情報化学討論会 (1996. 11)

*¹ (財)都臨床研

*² (株)アドイン研究所

*³ お茶の水大学

黒川雄二: **教育講演: 毒性試験法の国際的動向—OECD, ICHなどの動きを中心に**
第4回日本毒科学会サテライトシンポジウム (1995. 7)

Kurokawa, Y.: **Internatinal harmonization of toxicology requirements for pharmaceuticals—Male fertility VIIth International Congress of Toxicology** (1995. 7)

梅村隆志, 佐井君江, 長谷川隆一, 黒川雄二: **臭素酸カリウム投与によるラット腎DNA中の8-hydroxydeoxy-guanosine生成における性差について**
第54回日本癌学会総会 (1995. 10)

梅村隆志, 長谷川隆一, 加藤君江, 井上 達, 西川秋佳, 古川文夫, 高橋道人, 内田浩二*¹, 豊國伸哉*², 黒川雄二: **鉄ニトリロ三酢酸が引き起こすラット腎酸化的ストレスに対するチオール化合物の抑制効果**
第12回日本毒性病理学会 (1996. 1)

*¹ 名古屋大学

*² 京都大学

Umemura, T., Hirabayashi, Y., and Inoue, T.: **Delayed expression of apoptosis after radiation exposure in the hemopoietic spleen colonies derived from p53-deficient mice**
Cancer Susceptibility Genes and Molecular Carcinogenesis; A Special Conference of American Association for Cancer Research (1996. 2)

梅村隆志, 内田雄幸, 内藤克司, 井上 達: **ベンズイミダゾール系ゴム酸化防止剤経口投与によるラット甲状腺および下垂体病変**
第85回日本病理学会総会 (1996. 4)

古坊真一*, 松本清司*, 小川幸男, 関田清司, 小野 敦, 降矢 強, 黒川雄二: **顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) は新生児ラットの成長を抑制しなかった**
第22回日本毒科学会学術年会 (1995. 7)

* 信州大学医学部

小野 敦, 関田清司, 広瀬明彦, 小川幸男, 斉藤 実, 内

藤克司, 金子豊蔵, 降矢 強, 松本清司, 田中 悟, 黒川雄二: **Toluene 妊娠ラット吸入暴露による生殖発生毒性 I 胎児の器官形成期暴露試験**
第22回日本毒科学会学術年会 (1995. 7)

野村 護*, 海野 隆*, 守田伸子*, 長谷川浩之*, 林裕*, 松澤利明*, 関田清司, 小野 敦, 降矢 強, 黒川雄二, 林 裕造: **臨床病理検査に関するサンプルサーベイランス (1) 実施方法と血液学的検査成績**
第22回日本毒科学会学術年会 (1995. 7)

* 日本製薬工業協会

林 裕*, 海野 隆*, 長谷川浩之*, 松澤利明*, 野村護*, 関田清司, 齊藤 実, 降矢 強, 黒川雄二, 林 祐造: **臨床病理検査に関するサンプルサーベイランス (2) 血液化学的検査成績**
第22回日本毒科学会学術年会 (1995. 7)

* 日本製薬工業協会

関田清司: **強化効果に関する薬物相互作用**
第17回日本学術会議毒科学研連シンポジウム (1995. 7)

Suzuki, S., Ogawa, Y., Naito, K., Saitoh, M., Hirose, A., Kaneko, T., Kurokawa, Y.: **Biological Effects of 4 Rare Earth Metals the Vth COMTOX Symposium on Toxicology and Clinical Chemistry of Metals, Vancouver, British Columbia Canada** (1995. 7)

鈴木幸子, 小川幸男, 内藤克司, 齊藤 実, 広瀬明彦, 金子豊蔵, 井上 達, 黒川雄二: **微量生体内希土類元素の測定**
理研シンポジウム 生体微量元素 '96 (1996. 3)

金子豊蔵, 井上 達, 鈴木登志郎, 加藤利博, 杉山千生, 柿島 博, 中村恒彰, 辰見 寿, 萩野滋延, 門馬純子, 大野泰雄: **化粧品原料の安全性評価のための眼粘膜刺激性試験代替法の二次バリデーション (1) 計画および *in vivo* 試験結果**
第22回日本毒科学会学術年会 (1995. 7)

金子豊蔵, 門馬純子, 熊川順子, 井上 達, 大野泰雄, 鈴木登志郎, 柿島 博, 中村恒彰, 辰見 寿, 萩野滋延: ***in vivo* ウサギ眼粘膜刺激性試験における特性**
日本動物実験代替法学会第9回大会 (1995. 11)

熊川順子, 金子豊蔵, 門馬純子, 広瀬明彦, 川崎 靖, 鈴木幸子, 井上 達, 黒川雄二: **眼粘膜刺激性試験代替試験の評価基準となる Draize 評点の変動の解析**
日本動物実験代替法学会第9回大会 (1995. 11)

北嶋 聡, 津田充宥, 江下希美, 松島裕子, 齊藤 実, 門馬純子, 黒川雄二: **リポ多糖 (LPS) 投与ラットにおける血中および尿中 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ の著増と血液細胞数変動との相関について**
第22回日本毒科学会学術年会 (1995. 7)

北嶋 聡, 門馬純子, 津田充宥, 黒川雄二, 手島玲子, 澤田純一: **ラット株化好塩基球性白血球細胞による偽アレルギー反応系を用いた毒性評価の試み**
第2回免疫毒性研究会 (1995. 10)

Kitajima, S., Mitsumori, K., Kawashima, K., Imazawa, T., Onodera, H., Takahashi, M., Kurokawa, Y., and Inoue, T.: **Changes in the fine structure of the peripheral nerve endings of the rat caused by a single oral administration of a microsomal Ca^{2+} ATPase inhibitor, 2,5-di(*tert*-butyl)-1,4-hydroquinone**
1996 Keystone Symposia on Molecular & Cellular Biology; Neural Peptides (1996. 2)

北嶋 聡, 三森国敏, 川島邦夫, 今沢孝喜, 小野寺博志, 高橋道人, 黒川雄二, 井上 達: **小胞体 Ca^{2+} ATPase 阻害剤 2,5-ジ-*tert*-ブチル-1,4-ハイドロキノロン投与による, ラット末梢神経終末への影響**
第69回日本薬理学会年会 (1996. 3)

門馬純子, 北嶋 聡, 関口裕巳, 伊佐間和郎, 鹿庭正昭, 津田充宥, 澤田純一, 黒川雄二: **アルデヒド類のモルモットにおける皮膚感作性ならびに交差反応性の構造活性相関について**
第22回日本毒科学会学術年会 (1995. 7)

門馬純子, 北嶋 聡, 鹿庭正昭, 川島邦夫, 井上 達: ***p*-Phenylenediamine 系ゴム老化防止剤のモルモットにおける皮膚感作性ならびに交差反応性について**
第20回日本接触皮膚炎学会 (1995. 12)

加藤(佐井)君江, 梅村隆志, 長谷川隆一, 黒川雄二: **ペンタクロロフェノールによるマウス肝酸化的 DNA 損傷に対する抗酸化物質および緑茶の抑制効果**
第54回日本癌学会総会 (1995. 10)

長谷川隆一, 加藤(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 酸化的損傷および肝毒性に対する緑茶の予防効果**
第54回日本癌学会総会 (1995. 10)

Sai-Kato, K., Umemura, T., Hasegawa, R., Inoue, T. and Kurokawa, Y.: **Oxidative DNA Damage in Mouse Liver Induced by Pentachlorophenol: Protective Effect of Antioxidants and Green tea**
Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology; Oxidant Stress; From Molecules to Man, Santa Fe, New Mexico (1996. 1)

甲斐幸恵*, 谷村顕雄*, 梅村隆志, 佐井君江, 長谷川隆一, 黒川雄二, 井上達: **ペンタクロロフェノールによるマウス肝の酸化的 DNA 損傷および細胞増殖に対する緑茶の予防効果**
第71回日本食品衛生学会学術講演会 (1996. 5)

* 昭和女子大学生生活機構研究科

田中 悟: **GLP (good laboratory practice) について**
第6回日本毒科学会・基礎教育研修会 (1995. 7)

田中 悟: **医薬品の三極調整生殖毒性検索試験法ガイドライン—考え方と特徴—**
第35回日本先天異常学会・教育講演 (1995. 7)

Nababe, S., Yamoto, T., Tanabe, K., Sehata, S., Kaneko, Y., Takaoka, M., Matsunuma, N., and Kodama, Y.: **An application of c-Ha-ras transgenic mice to the short-**

term carcinogenicity study

日本毒性病理学会毒性病理セミナー (1995. 5)

児玉幸夫: 実験動物施設の廃棄物処理について
第7回実験動物環境研究会 (1995. 12)川島邦夫, 門馬純子, 高木篤也, 北嶋 聡: **CASA-System (HTM-IVOS) を用いた精子試験 I. α -chlorohydrin**
第22回日本毒科学会学術年会 (1995. 7)川島邦夫, 門馬純子, 高木篤也, 北嶋 聡, 黒川雄二: **画像解析装置を用いた Nitrobenzene による精子運動性障害の検索**
第35回日本先天異常学会 (1995. 7)平林容子, 井上 達, 三井秀昭^{*1}, 吉田和子^{*2}: **実験的 P53 欠失骨髄細胞の造血器腫瘍発症リスク**
第84回日本病理学会総会 (1995. 4)

- *1 横浜市立大学医学部
- *2 放射線医学総合研究所

平林容子, 三井秀昭^{*1}, 西中村隆一^{*2}, Richard Murray^{*3}, 新井賢一^{*2}, 井上 達: **実験的サイトカイン受容体欠損症 -IL-3 レセプター共有 β 鎖 (β C) 欠失マウスにおける病態の特徴について**
第84回日本病理学会総会 (1995. 4)

- *1 横浜市立大学医学部
- *2 東京大学医科学研究所

平林容子, 三井秀昭^{*1}, 松村啄也^{*1}, 松田 基^{*1}, 佐々木秀樹^{*1}, 新井賢一^{*2}, 横田 崇^{*2}, 宮島 篤^{*3}, 吉田和子^{*4}, 井上 達: **マウス IL-3 受容体各サブユニット遺伝子の機能と造血幹細胞制御**
第57回日本血液学会総会 (1995. 6)

- *1 横浜市立大学医学部
- *2 東京大学医科学研究所
- *3 米国 DNAX 研究所
- *4 放射線医学総合研究所

松村啄也^{*1,2}, 平林容子, 三井秀昭^{*1}, 松田 基^{*1}, 佐々木秀樹^{*1}, 倉本和直^{*3}, 元吉和夫^{*2}, 吉田和子^{*4}, 井上達: **プロモデオキシウリジン投与と近紫外照射を組み合わせた S 期細胞殺傷試験 (BrdUrd-UV cytocide 法) による造血幹細胞の細胞動態の研究: 老・若マウスの比較**
第57回日本血液学会総会 (1995. 6)

- *1 横浜市立大学医学部
- *2 防衛医科大学校
- *3 東京都老人研
- *4 放射線医学総合研究所

松田 基^{*}, 佐々木秀樹^{*}, 松山秀介^{*}, 平林容子, 三井秀昭^{*}, 松村啄也^{*}, 井上 達: **ヒト-c-myc 遺伝子導入マウスにおける造血幹細胞動態の解析**
第57回日本血液学会総会 (1995. 6)

- * 横浜市立大学医学部

井上 達: **癌原性評価における新しい科学技術の導入**
第22回日本毒科学会学術年会ワークショップ(1995. 7)Hirabayashi Y, Moriya N^{*1}, Matuda M^{*1}, MatsumuraT^{*1}, Mitsui H^{*1}, Yoshida K^{*2}, Sasaki H^{*1}, Aizawa S^{*3}, Inoue T: **Lesser radiosensitivity and residual apoptotic damages: Radiation survival curve for hemopoietic stem cells (CFU) from the p53-deficient mice**
The 10th International Congress of Radiation Research (1995. 8)

- *1 横浜市立大学医学部
- *2 放射線医学総合研究所
- *3 熊本大学

Murray R^{*1}, Inoue T, Hirabayashi Y, Arai K^{*2}, Miyajima A^{*1}, Ninakamura R^{*2}: **The in vivo role of cytokines in hemopoietic reconstitution and in response to infection**

The 24th Annual Meeting of the International Society for Experimental Hematology (1995. 8)

- *1 米国 DNAX 研究所
- *2 東京大学医科学研究所

Hirabayashi Y, Matuda M^{*1}, Matsumura T^{*1}, Mitsui H^{*1}, Sasaki H^{*1}, Tsukada T^{*2}, Aizawa S^{*2}, Yoshida K^{*3}, Inoue T: **Delayed expression of radiation-apoptosis during proliferation of the irradiated hemopoietic stem-cell from the p53-deficient mice—possible relevance to radiation leukemogenesis**
The 24th Annual Meeting of the International Society for Experimental Hematology (1995. 8)

- *1 横浜市立大学医学部
- *2 熊本大学
- *3 放射線医学総合研究所

Sasaki H^{*1}, Matuda M^{*1}, Lu Y^{*1}, Ikuta K^{*1}, Matsuyama S^{*1}, Hirabayashi Y, Mitsui H^{*1}, Muramatsu M^{*2}, Tsukada T^{*3}, Aizawa S^{*3}, Inoue T: **Disruption of wild-type p53 gene caused resistance to TGF β inhibition in murine early hemopoietic progenitor cells**
The 24th Annual Meeting of the International Society for Experimental Hematology (1995. 8)

- *1 横浜市立大学医学部
- *2 東京大学医科学研究所
- *3 熊本大学

平林容子, 松田 基^{*1}, 松村啄也^{*1}, 三井秀昭^{*1}, 佐々木秀樹^{*1}, 塚田輝代^{*2}, 相澤慎一^{*2}, 吉田和子^{*3}, 井上達: **P53 遺伝子欠失マウスの造血幹細胞に観察される放射線アポトーシス発現の遅延と放射線誘発腫瘍**
第54回日本癌学会総会 (1995. 10)

- *1 横浜市立大学医学部
- *2 熊本大学
- *3 放射線医学総合研究所

Inoue T: **Regulatory and scientific experience with biothech products in Japan**
BTS/CMR Workshop (1995. 10)Hirabayashi Y, Matsuda M^{*1}, Matsumura T^{*1}, Mitsui H^{*1}, Sasaki H^{*1}, Tsukada T^{*2}, Aizawa S^{*2}, Yoshida K^{*3}, and Inoue T: **The p53-deficient hemopoietic stem cells: Their resistance to radiation-apoptosis, but lasted transiently**

The XVIII Symposium of the International Association for Comparative Research on Leukemia and Related Diseases (1995. 11)

- *1 横浜市立大学医学部
- *2 熊本大学
- *3 放射線医学総合研究所

Inoue T, Cronkite EP^{*1}, Hirabayashi Y, Bullis Jr. JE^{*1}, Mitsui H^{*2}, Umemura T: **Lifetime treatment of mice with AZT produces myelodysplasia**

The XVIII Symposium of the International Association for Comparative Research on Leukemia and Related Diseases (1995. 11)

- *1 米国国立ブルックヘブン研究所
- *2 横浜市立大学医学部

Yoshida K^{*1}, Inoue T, Matsumura T^{*2}, Hirabayashi Y, Nemoto K^{*1}, Sado T^{*1}: **Radiation-induced myeloid leukemia in mice under caloric restriction**

The XVIII Symposium of the International Association for Comparative Research on Leukemia and Related Diseases (1995. 11)

- *1 放射線医学総合研究所
- *2 横浜市立大学医学部

平林容子, 梅村隆志, 児玉幸夫, 相澤慎一*, 井上 達: **Li-Fraumeni 症候群モデルとして p53 欠失マウスにおける造血幹細胞の細胞動態と造血器腫瘍発生**
第12回日本疾患モデル学会総会 (1995. 11)

- *1 熊本大学

Inoue T: **Promotion of further safety research on biotechnology products**
ICH3 Safety Symposium (1995. 11)

平林容子, 松村琢也^{*1}, 倉本和直^{*2}, 松田 基^{*3}, 佐々木秀樹^{*3}, 吉田和子^{*4}, 梅村隆志, 井上 達: **プロモデオキシリジン投与と近紫外線を組み合わせた幹細胞動態解析法 (BUUV 法) の改良樹立によるいくつかの基本的条件下での幹細胞動態に関する新発見**
第58回日本血液学会総会 (1996. 4)

- *1 防衛医科大学校
- *2 横浜市立大学医学部
- *3 東京都老人研
- *4 放射線医学総合研究所

佐々木秀樹^{*1}, 陸 媛^{*1}, 生田孝一郎^{*1}, 船曳哲典^{*1}, 甲斐純夫^{*1}, 半沢典夫^{*1}, 関口晴之^{*1}, 松田 基^{*1}, 松山秀介^{*1}, 平林容子, 戸所一雄^{*2}, 井上 達: **巨核芽球系前駆細胞と巨核芽球性白血病細胞株に対する Thrombopoietin の増殖促進作用: 無血清培養による検討**
第58回日本血液学会総会 (1996. 4)

- *1 横浜市立大学医学部
- *2 理化学研究所筑波ライフサイエンス研究センター

平林容子, 松田 基*, 井上 達: **BrdUrd-UV cytocide (BUUV) 法を用いた骨髓造血幹細胞の細胞動態—ヒト c-myc 遺伝子導入マウスにおける特異な変化**
第85回日本病理学会総会 (1996. 4)

- *1 防衛医科大学校

井上 達, 小野 敦, 平林容子: **老化機構と造血幹細胞の老化**
第36回日本網内系学会総会 (1996. 5)

大野泰雄: **トキシコキネチクスと GLP, その意義と問題点**
日本 QA 研究会第4回行政部会総会講演会 (1995. 6)

大野泰雄: **トキシコキネチクスおよび反復投与組織分布試験について**
医薬品産業情報研究会 (PI フォーラム) ICH 研究分科会 (1995. 7)

大野泰雄, 金子豊蔵, 小林敏明^{*1}, 井上 達, 吉田武美^{*2}, 林 真, 門馬純子, 大野忠夫^{*3}, 藤井昭男^{*1}, 増田光輝^{*1}, 秋山純一^{*1}, 板垣 宏^{*1}, 大越健自^{*1}, 奥村秀信^{*1}, 柿島博^{*1}, 笠井裕^{*1}, 栗下昭弘^{*1}, 小島肇夫^{*1}, 西條 薫^{*3}, 坂本一民^{*1}, 杉浦秀次^{*1}, 高野勝弘^{*1}, 辰見 寿^{*1}, 谷尚子^{*1}, 千葉勝由^{*1}, 中村恒彰^{*1}, 松川清治^{*1}, 松重知保^{*1}: **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バリデーション—計画および経過—**
第22回日本毒科学会学術年会ミニシンポジウム1 (1995. 7)

- *1 日本化粧品工業連合会
- *2 昭和大学 (薬, 毒物)
- *3 理研 (ジーンバンク)

金子豊蔵, 井上 達, 鈴木登志郎^{*1}, 加藤利博^{*2}, 杉山千生^{*2}, 柿島 博^{*2}, 中村恒彰^{*2}, 辰見 寿^{*2}, 萩野滋延^{*2}, 門馬純子, 大野泰雄: **化粧品原料の安全性評価のための眼粘膜刺激性試験代替法の二次バリデーション (1) 計画および In vivo 試験結果**
第22回日本毒科学会学術年会ミニシンポジウム1 (1995. 7)

- *1 (株)日本セイゲケン総合研究所
- *2 日本化粧品工業連合会

萩野滋延*, 木下成美*, 谷 尚子*, 中村恒彰*, 小野菜穂子*, 小西貴美代*, 小島肇夫*, 大野泰雄: **ドレイズ眼粘膜刺激性試験代替法の二次バリデーション (2) 有精鶏卵の漿尿膜 (CAM) を用いる方法**
第22回日本毒科学会学術年会ミニシンポジウム1 (1995. 7)

- * 日本化粧品工業連合会

岡本裕子*, 大越健自*, 大内淳子*, 柿島 博*, 小川朋康*, 板垣 宏*, 津田孝也*, 古本 勉*, 小島肇夫*, 金子豊蔵, 岩淵佳美, 門馬純子, 大野泰雄: **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 (3) 赤血球試験**
第22回日本毒科学会学術年会ミニシンポジウム1 (1995. 7)

- * 日本化粧品工業連合会

畑尾正人*, 村上賢子*, 坂本一民*, 瀧野嘉延*, 大沼美由紀*, 柿島 博*, 小川朋康*, 松重知保*, 金子豊蔵, 門馬純子, 岩淵佳美, 小島肇夫*, 千葉勝由*, 松川清治*, 増田邦夫*, 大野泰雄: **ドレイズ眼粘膜刺激性試験代替法の二次バリデーション (4) ヘモグロビン変性試験**
第22回日本毒科学会学術年会 (1995. 7)

- * 日本化粧品工業連合会

加藤俊則^{*1}, 古本 勉^{*1}, 中沢 晴^{*1}, 杉浦秀次^{*1}, 宇佐美雅仁^{*1}, 柿島 博^{*1}, 桑原裕史^{*1}, 大内淳子^{*1}, 笠井

裕^{*1}, 岡本裕子^{*1}, 小島肇夫^{*1}, 柴田道男^{*1}, 津田孝也^{*1}, 風間明美^{*2}, 大野泰雄: ドレイズ眼刺激性試験代替法の二次バリデーション (5) Skin 2 (ZK1100 および ZK1200 モデル) 試験

第 22 回日本毒科学会学術年会 (1995. 7)

^{*1} 日本化粧品工業連合会

^{*2} オリエンタル酵母工共(株)

大内淳子^{*1}, 笠井 裕^{*1}, 小島肇夫^{*1}, 奥村秀信^{*1}, 荒島雅樹^{*1}, 加藤俊則^{*1}, 古本 勉^{*1}, 木下成美^{*1}, 谷 尚子^{*1}, 中村恒彰^{*1}, 鈴木幸一^{*1}, 石橋卓也^{*2}, 堀 洋^{*2}, 西川多美子^{*2}, 大野泰雄: 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 (6) MATR-EXTM による刺激性試験

第 22 回日本毒科学会学術年会 (1995. 7)

^{*1} 日本化粧品工業連合会

^{*2} 東洋紡績(株)

内山貴司^{*1}, 秋山純一^{*1}, 宮井恵里子^{*1}, 坂本一民^{*1}, 大沼美由紀^{*1}, 大越健自^{*1}, 岡本裕子^{*1}, 森戸由美子^{*1}, 小島肇夫^{*1}, 奥村秀信^{*1}, 澤村淳子^{*1}, 千葉勝由^{*1}, 牧野育代^{*1}, 山本良平^{*2}, 鳥島 久^{*2}, 柳瀬 浩^{*2}, 大野泰雄: 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 (7) ウサギ角膜初代培養細胞 (Corne-Pack) を用いた細胞毒性試験

第22回日本毒科学会学術年会ミニシンポジウム1 (1995. 7)

^{*1} 日本化粧品工業連合会

^{*2} 倉敷紡績(株)

谷 尚子^{*1}, 木下成美^{*1}, 岡本裕子^{*1}, 小谷麻由美^{*1}, 板垣 宏^{*1}, 村上賢子^{*1}, 杉浦秀次^{*1}, 加藤久美子^{*1}, 小島肇夫^{*1}, 大野忠夫^{*2}, 西條 薫^{*2}, 加藤麻矢子^{*1}, 大野泰雄: 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 (8) ウサギ角膜由来細胞 (SIRC 細胞) を用いる試験

第 22 回日本毒科学会学術年会 (1995. 7)

^{*1} 日本化粧品工業連合会

^{*2} 理化学研究所

千葉勝由^{*}, 牧野育代^{*}, 大内淳子^{*}, 笠井 裕^{*}, 津雲勝義^{*}, 柿島 博^{*}, 宮井恵里子^{*}, 秋山純一^{*}, 岡本裕子^{*}, 鶴見淑子^{*}, 奥村秀信^{*}, 加藤久美子^{*}, 杉浦秀次^{*}, 宮島敦子^{*}, 大野泰雄: 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 (9) 哺乳類培養細胞株 (HeLa 細胞) を用いた細胞毒性試験

第22回日本毒科学会学術年会ミニシンポジウム1 (1995. 7)

^{*} 日本化粧品工業連合会

奥村秀信^{*}, 荒島雅樹^{*}, 大内淳子^{*}, 笠井 裕^{*}, 津雲勝義^{*}, 柿島 博^{*}, 小谷麻由美^{*}, 小島肇夫^{*}, 中澤 晴^{*}, 大澤宏行^{*}, 加藤俊則^{*}, 宮島敦子^{*}, 大野泰雄: 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 (10) 哺乳類組細胞株 (CHL 細胞) を用いた組細胞毒性試験

第 22 回日本毒科学会学術年会 (1995. 7)

^{*} 日本化粧品工業連合会

松川清治^{*1}, 増田邦夫^{*1}, 柿島 博^{*1}, 小川朋康^{*1}, 島康世^{*1}, 松重知保^{*1}, 中村恒彰^{*1}, 水谷秋子^{*1}, 新海輝夫^{*2}, 大野泰雄: 化粧品原料の安全性評価のための眼粘膜炎

刺激性試験代替法の二次バリデーション (11) EYTEX を用いる試験

第 22 回日本毒科学会学術年会 (1995. 7)

^{*1} 日本化粧品工業連合会

^{*2} *In Vitro* International Co.

北嶋 聡, 津田充有, 江下希美, 松島裕子, 齊藤 実, 門馬純子, 黒川雄二: リポ多糖 (LPS) 投与ラットにおける血中および尿中 NO₂⁻/NO₃⁻ の著増と血液細胞数変動との相関について

第 22 回日本毒科学会学術年会 (1995. 7)

篠内桃子, 張 宝旭, 宮島敦子, 内藤克司, 降矢 強, 井上 達, 大野泰雄: シフェニルエーテル系農薬の犬肝チトクローム P450 代謝酵素系に及ぼす影響について

日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)

中澤憲一, 大野泰雄: アフリカツメガエル卵母細胞発現系における神経型 ATP 受容体チャネルの選択的陽性制御

第 65 回日本薬理学会総会 (1996. 3)

伊東華奈子^{*}, 中澤憲一, 小泉修一, 井上和秀, 竹内幸一^{*}, 大野泰雄: ハロペリドールおよびクロロプロマジンによる電位依存性 K⁺ チャネル抑制の作用機序—PC12 細胞を用いた検討—

第 65 回日本薬理学会総会 (1996. 3)

^{*} 明治薬科大学

小泉修一, 井上和秀: ラット海馬初代培養細胞における ATP 受容体を介する Ca²⁺ シグナル

第 69 回日本薬理学会学術年會シンポジウム (1996. 3)

宇佐見誠, 酒見和枝, 大野泰雄: ラット初期着床胚の培養に必要な血清胚栄養因子の部分精製

第 35 回日本先天異常学会学術集會 (1995. 7)

大野泰雄: トキシコキネチクスと GLP, 第一回 GLP 研修会—GLP の現状と GLP 実施上の技術的問題点—

医薬品機構講演会 (1995. 9)

大野泰雄: 毒性研究に行政の側から望むこと

文部省科学研究費総合 B 公開シンポジウム, 科学物質による細胞障害機構 (1995. 9)

仲井培雄^{*1}, 三輪晃一^{*1}, 木南伸一^{*1}, 佐原博之^{*1}, 松本尚^{*1}, 藤村 隆^{*1}, 宮崎逸夫^{*1}, 中村信一^{*1}, 津田充有, 服部隆則^{*2}: 幽門機能不全によるラット胃発癌

日本癌学会第 54 回総会 (1995. 10)

^{*1} 金沢大学医学部

^{*2} 滋賀大学医学部

三輪晃一^{*1}, 仲井培雄^{*1}, 木南伸一^{*1}, 藤村 隆^{*1}, 宮崎逸夫^{*1}, 津田充有, 服部隆則^{*2}: チオプロリンの胃発癌抑制効果—十二指腸胃逆流ラットへの投与—

日本癌学会第 54 回総会 (1995. 10)

^{*1} 金沢大学医学部

^{*2} 滋賀大学医学部

小島肇夫^{*1}, 井上 達, 金子豊蔵, 森川良広^{*1}, 吉田武美^{*2}, 林 真, 門馬純子, 大野忠夫^{*3}, 藤井昭男^{*1}, 増田光輝^{*1}, 秋山純一^{*1}, 池田紀和^{*1}, 板垣 宏^{*1}, 今西 豊^{*1},

宇佐見雅仁*¹, 大越健自*¹, 奥村秀信*¹, 柿島博*¹, 笠井裕*¹, 栗下昭弘*¹, 西条薫*³, 坂本一民*¹, 高野勝弘*¹, 辰見寿*¹, 谷尚子*¹, 千葉勝由*¹, 中村恒彰*¹, 松川清治*¹, 渡辺理絵*¹, 大野泰雄: **化粧品原料の眼刺激性試験代替法の施設間バリデーション結果**
第9回日本動物実験代替法学会 (1995. 11)

*¹ 日本化粧品工業連合会

*² 昭和大学 (薬, 毒物)

*³ 理研 (ジーンバンク)

大野泰雄: **薬物動態指針について**
ヒューマンサイエンス振興財団 第4回創薬科学シンポジウム「薬物の代謝・動態研究から創薬へ」 (1996. 1)

津田充有: **TKとその実施上の留意点**
日本薬学会関東支部シンポジウム「トキシコキネティクスとヒトへの外挿」 (1996. 1)

黒沢英俊*, 永松国助*, 長谷川明*, 大野泰雄: **カルバメート系農薬誘発高血糖の作用機序に関する研究**
日本薬学会第116年会 (1996. 3)

* 日本大学薬学部

白神歳文*¹, 岩崎一秀*¹, 戸塚善三郎*¹, 山添康*², 大野泰雄: **ウサギ肝アミンスルホトランスフェラーゼの精製とその諸性質**
日本薬学会第116年会 (1996. 3)

*¹ 藤沢薬品工業㈱

*² 東北大学薬学部

籾内桃子, 張宝旭, 宮島敦子, 酒見和枝, 大野泰雄: **PyrethroidおよびDiphenylether系農薬のラット肝細胞およびそのCytochrome P450代謝酵素に及ぼす影響**
日本薬学会第116年会 (1996. 3)

井上和秀, 小泉修一, 高島明彦*¹, 村山洋*²: **P2X受容体遺伝子を導入したラット・グリオーマ由来C6BU-1細胞でのATP刺激による細胞内Ca濃度変化**
第69回日本薬理学会年会 (1996. 3)

*¹ 三菱化学生命研

*² 大阪母子医療センター

小泉修一, 中沢憲一, 大野泰雄, 井上和秀: **P2U受容体刺激により誘発される容量性Ca²⁺流入と開口放出**
第69回日本薬理学会年会 (1996. 3)

池田真, 小泉修一, 田中賢一*, 百瀬和孝*, 井上和秀: **PC12細胞においてカフェインにより惹起された容量性Ca²⁺流入とドパミン放出**
第69回日本薬理学会年会 (1996. 3)

* 昭和大薬学部

小浜とも子, 小泉修一, 大野泰雄, 井上和秀: **ラット海馬アストログリア細胞におけるATPによるCa²⁺シグナル**
第69回日本薬理学会年会 (1996. 3)

津田充有: **レギュラトリーの立場からみたTK試験導入の意義とその実施上の問題点**
第10回日本薬物動態学会ワークショップ「実験動物からヒトへ」 (1996. 4)

Ohno, Y.: **International harmonization of drug metabolism and toxicokinetics for new drug development. Current understanding in Japan**

International Symposium on Strategy of Drug Metabolism study for New Drug Development (1995. 6)

Koizumi, S., Inoue, K., Kumakura, K.*¹, Matsuda, Y.*², Yuda, Y.*², Sakurai, T.*³ and Nonomura, Y.*³: **Myosin-actin interaction is involved in exocytosis of dopamine from pheochromocytoma PC12 cells stimulated by ATP**

The 15th International Symposium for Neurochemistry, Satellite Symposium (1995. 6)

*¹ 上智大生命研

*² 協和発酵

*³ 東京大医学部

Inoue, K.: **The function of ATP receptor/channel on synaptic transmission**

The second joint meeting of the Physiological Societies of Japan and UK., Nagoya, Japan (1995. 4)

Inoue, K.: **ATP receptor-mediated synaptic responses including intracellular calcium increase in hippocampal neurons**

15th International Society for Neurochemistry Biennial Meeting, Kyoto, Japan (1995. 7)

Koizumi, S., Nakazawa, K. and Inoue, K.: **Characterization of P2-purinoceptors in cultured rat hippocampal neurons**

The 15th International Symposium for Neurochemistry (1995. 7)

Koizumi, S. and Inoue, K.: **The regulation by zinc ion of P2-purinoceptor-mediated responses in PC12 cells**
生理研シンポジウム (1995. 7)

Ohno, Y.: **How does animal testing for cosmetics fit into the overall picture for reductions in animal experimentation**

Annual meeting of European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association (COLIPA) (1995, 11)

Koizumi, S., Nakazawa, K. and Inoue, K.: **Inhibition by Zn²⁺ of UTP-evoked Ca²⁺-influx but not Ca²⁺-mobilization in rat pheochromocytoma cells**

Society for Neuroscience 25th Annual Meeting, San Diego (1995. 11)

Tsuda, M.: **Formation of Thioproline, An Effective Nitrite Trapping Agent in the Human Body, by Cooking of Various Vegetables, Mushrooms and Beans**

International Conference on Food Factors: Chemistry and Cancer Prevention, Hamamatsu, Japan (1995. 12)

M. Akaike*, S. Takayama*, M. Takahashi, K. Kawashima, and Y. Kurokawa: **The collaborative work on male reproductive toxicity (1)**

International Congress of Toxicology-VII (1995. 2)

* Japan Pharmaceutical Manufacturers' Assoc

M. Takahashi, S. Takayama*, M. Akaike*, K. Kawashima, and Y. Kurokawa: **The collaborative work on male reproductive toxicity (2)**

International Congress of Toxicology-VII (1995. 2)

* Japan Pharmaceutical Manufacturers' Assoc

西川秋佳, 古川文夫, 池崎信一郎, 豊田和弘, 高橋道人:
N-Nitrosopyrrolidine の反復投与によるラット肝内胆管線維症の誘発

第 84 回日本病理学会総会 (1995. 4)

古川文夫, 西川秋佳, 阿部 寛*, 須田耕一*, 高橋道人:
ハムスター腓ラ島に対するエストロゲンおよびプロゲステロンの影響

第 84 回日本病理学会総会 (1995. 4)

* 順天堂大学医学部

林 裕造*¹, 三森国敏, 山本 慧*²: **c-Ha-ras トランスジェニックマウスを用いた短期発癌評価システム**

第 42 回実験動物学会シンポジウム (1995. 6)

*¹ 北里大学薬学部

*² 慶応大学医学部

古川文夫, 西川秋佳, 池崎信一郎, 高橋道人: **ハムスター BOP 誘発肺病変における血液型 A 物質の発現**

第 22 回日本毒科学会 (1995. 7)

西川秋佳, 古川文夫, 池崎信一郎, 今沢孝喜, 吉田敏則*, 原田孝則*, 真板敬三*, 高橋道人: **ペルオキシゾーム誘導剤によるラット肝小増殖巣に対するオルニチン脱炭酸酵素の免疫組織化学的検討**

第 22 回日本毒科学会 (1995. 7)

* 残留農薬研究所毒性

安原加寿雄, 三森国敏, 高橋道人: **雄授精能評価方法の確立のための研究—病理検索での問題点—**

第 22 回日本毒科学会 (1995. 7)

小野寺博志, 三森国敏, 安原加寿雄, 務台 衛*¹, 北浦敬介*², 森下克美*², 前川明彦*³, 高橋道人: **テオウレアの血中甲状腺ホルモン低下作用機序に関する研究**

第 22 回日本毒科学会 (1995. 7)

*¹ 三菱化学

*² 大塚製薬

*³ 佐々木研究所病理

高橋道人: **発癌評価における短期試験の有用性**

第 22 回日本毒科学会 ワークショップ (1995. 7)

豊田和弘, 正田俊之, 畝山智香子, 高田幸一, 高橋道人: **細胞増殖と細胞死を指標とした免疫毒性の組織学的評価法の検討**

第 2 回免疫毒性研究会 (1995. 9)

竹川 潔, 小野寺博志, 三森国敏, 下 武男, 安原加寿雄, 高橋道人: **ピペロニル・プトキサイド投与ラットに発現したリンパ組織萎縮に関する研究**

第 2 回免疫毒性研究会 (1995. 9)

三森国敏, 小野寺博志, 務台 衛*¹, 北浦敬介*², 高橋正一*³, 安原加寿雄, 高橋道人: **Thiourea と Vitamin A 複**

合投与ラットの甲状腺腫瘍発生促進における肝薬物代謝酵素誘導の変動

第 54 回日本癌学会総会 (1995. 10)

*¹ 三菱化学

*² 大塚製薬

*³ 佐々木研究所病理

小野寺博志, 三森国敏, 務台 衛*¹, 北浦敬介*², 高橋正一*³, 安原加寿雄, 高橋道人: **Thiourea と Phenobarbital 複合投与ラットの甲状腺腫瘍発生促進機序に関する研究**

第 54 回日本癌学会総会 (1995. 10)

*¹ 三菱化学

*² 大塚製薬

*³ 佐々木研究所病理

今沢孝喜, 西川秋佳, 古川文夫, 池崎信一郎, 吉村博之, 高橋道人: **4-Hydroxyaminoquinoline 1-oxide 投与ラット腓における p53 蛋白と Apoptosis の経時的観察**

第 54 回日本癌学会総会 (1995. 10)

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: **L-ヒスチジン塩酸塩の F344 ラットにおける癌原性試験**

第 54 回日本癌学会総会 (1995. 10)

西川秋佳, 古川文夫, 今沢孝喜, 池崎信一郎, 林 裕造, 高橋道人: **ハムスター BOP 誘発肺腫瘍発生に対する 3-phenylpropyl isothiocyanate の抑制効果**

第 54 回日本癌学会総会 (1995. 10)

古川文夫, 西川秋佳, 今沢孝喜, 池崎信一郎, 林 裕造, 高橋道人: **魚粉および亜硝酸の同時投与によるラット腎腫瘍の発生**

第 54 回日本癌学会総会 (1995. 10)

安原加寿雄, 三森国敏, 林 新茂*, 森 郁生*, 今沢孝喜, 小野寺博志, 野々山孝*, 高橋道人, 林 裕造: **MNUR により誘発されたハムスター肺腫瘍の K-ras 遺伝子変異**

第 54 回日本癌学会総会 (1995. 10)

* 武田薬品・薬安研

豊田和弘, 畝山智香子, 川西 徹, 三森国敏, 高田幸一, 高橋道人: **ポリウレタンシート皮下埋植で誘発されたラット MFH の発生過程の組織学的検討**

第 54 回日本癌学会総会 (1995. 10)

下 武男*¹, 三森国敏, 小野寺博志, 高橋正一*², 上野芳夫*³, 高橋道人: **サルファジメトキシン間欠投与によるラット甲状腺増殖性病変発育の亢進**

第 54 回日本癌学会総会 (1995. 10)

*¹ 北陸製薬研究所

*² 佐々木研究所病理

*³ 東京理科大学薬学部

林 修次*, 岩田裕之*, 北野光昭*, 古川文夫, 高橋道人, 福島昭治*: **ラット胃粘膜増殖性病変における PCNA・AgNORs 二重染色による細胞増殖活性の解析**

第 54 回日本癌学会総会 (1995. 10)

* 大阪市立大学医学部

菅野 純*¹, 豊田和弘, 高橋道人, 林 裕造*²: 下剤によるラット結腸上皮の変化とプロスタグランディン
第54回日本癌学会総会 (1995.10)

*¹ 東京医科歯科大学医学部

*² 北里大学薬学部

堀 高明*¹, 鰐淵英機*¹, 高田信康*¹, 大年辰幸*¹, 西川秋佳, 高橋道人, 中江 大*², 小西陽一*², 福島昭治*¹: 水浸拘束ストレスによるラット消化管上皮細胞の増殖
第54回日本癌学会総会 (1995.10)

*¹ 大阪市立大学医学部

*² 奈良医科大学がんセンター

山崎幸苗*, 影山裕一*, 古川文夫, 高橋道人, 奥野洋明*: 2次元電気泳動とキラル活性染色による動物組織内エステラーゼの立体選択性の解析
第39回日本薬学会関東支部大会 (1995.10)

* 工業技術院生命研究所

豊田和弘, 正田俊之, 畝山智香子, 高田幸一, 高橋道人: 細胞増殖と細胞死を指標とした免疫系組織の細胞動態解析法の検討
第12回日本毒性病理学会 (1996.1)

高田幸一, 豊田和弘, 畝山智香子, 正田俊之, 門馬純子, 高橋道人, 黒川雄二: Tris-CPによる腎発癌過程にみられた尿管上皮過形成および巨核化の意義
第12回日本毒性病理学会 (1996.1)

正田俊之, 豊田和弘, 畝山智香子, 高田幸一, 高橋道人: β -cyclodextrin の F344 ラットにおける癌原性試験
第12回日本毒性病理学会 (1996.1)

池崎信一郎, 西川秋佳, 古川文夫, 田中丸善洋, 金 亨津, 鈴木孝昌, 伊藤俊明, 林 真, 祖父尼俊雄, 高橋道人: Big Blue マウスにおける dimethylnitrosamine 誘発の遺伝子突然変異と細胞増殖活性の相関性
第12回日本毒性病理学会 (1996.1)

西川秋佳, 古川文夫, 田中丸善洋, 池崎信一郎, 金 亨津, 内田浩二*¹, 豊國伸哉*², 北浦敬介*³, 泉 啓介*³, 高橋道人: LECラットにおける脂質過酸化生成物 4-hydroxy-nonenal の局在
第12回日本毒性病理学会 (1996.1)

*¹ 名古屋大学農学部

*² 京都大学医学部

*³ 徳島大学医学部

今沢孝喜, 三森国敏, 北嶋 聡, 小野寺博志, 西川秋佳, 古川文夫, 井上 達, 黒川雄二, 高橋道人: 2,5-Di(tert-butyl)-1,4-hydroquinone 経口投与ラットにおける運動終板の超微形態学的検索
第12回日本毒性病理学会 (1996.1)

古川文夫, 西川秋佳, 池崎信一郎, 今沢孝喜, 田中丸善洋, 金 亨津, 高橋道人: ラット MNNG 誘発胃癌発生における魚粉および亜硝酸の影響
第12回日本毒性病理学会 (1996.1)

田中丸善洋, 西川秋佳, 古川文夫, 池崎信一郎, 金 亨津, 今沢孝喜, 田中卓二*, 高橋道人: ラット MNNG 誘発胃

発癌におけるオルニチン脱炭酸酵素阻害剤の影響
第12回日本毒性病理学会 (1996.1)

* 岐阜大学医学部

Hyoun-Chin Kim*¹, Chang-Su Ha*¹, Shin-Woo Cha*¹, Jung-Koo Roh*¹, Yong-Soon Lee*², Nishikawa, A., Furukawa, F., Tanakamaru, Z., Ikezaki, S. and Takahashi, M.: Cancer risk assessment by a medium-term carcinogenicity bioassay using repeated administration of D-galactosamine
第12回日本毒性病理学会 (1996.1)

*¹ KRICT, Daejeon

*² Seoul Natl. Univ.

小野寺博志, 三森国敏, 畝山智香子, 今沢孝喜, 伊藤聖一*, 竹川 潔, 安原加寿雄, 高橋道人: Oxfendazole 反復投与ラットにおける肝 P450 アイソザイムおよびコネクシン 32 の変動
第12回日本毒性病理学会 (1996.1)

* 実医研

樋口敏浩*, 中岡政直*, 川村 聡*, 奥野泰由*, 松尾昌季*, 安原加寿雄, 高橋道人: Cyclophosphamide 投与によるラット精巢毒性
第12回日本毒性病理学会 ワークショップ (1996.1)

* 住友化学工業生科研

今井 清*¹, 齊藤義明*¹, 白見憲司*¹, 永田伴子*¹, 丸茂秀樹*¹, 加藤正信*², 高橋道人: Di-(2-ethylhexyl)phthalate および 2,5-Hexanedione 投与によるラットの精巢傷害, 特に初期病変について
第12回日本毒性病理学会 ワークショップ (1996.1)

*¹ 食薬センター秦野研

*² 三菱化学安科研

安原加寿雄, 三森国敏, 畝山智香子, 小野寺博志, 竹川潔, 川島邦夫, 高橋道人: 細胞増殖能およびアポトーシスを指標とした精巢毒性の形態学的解析
第12回日本毒性病理学会 ワークショップ (1996.1)

国安祐子*, 稲森悠平*, 水沢 博: 微小動物の画像データベースの構築について
日本微生物資源学会第2回大会 (1995.6)

* 国立環境研究所

原澤 亮*, 水沢 博: 動物培養細胞に見られる Pestivirus RNA の 5' 端非コード領域
日本獣医学会第120回大会 (1995.11)

* 東京大学医学部附属動物実験施設

田辺秀之, 石田貴文*, 植田信太郎*, 祖父尼俊雄, 水沢博: ヒト 9 番染色体の核型進化に関する研究: 免疫グロブリン C-epsilon 3 遺伝子の比較マッピング
第13回染色体ワークショップ (1996.2)

* 東京大学理学部

田辺秀之, 高田容子, 岡戸 清, 祖父尼俊雄, 水沢 博: Comparative Genomic Hybridization (CGH) 法による細胞株ゲノムの性状把握と個別識別への応用
日本組織培養学会第69回大会 (1996.5)

Tanabe, H., Ishida, T.*, Ueda, S.*, Sofuni, T. and Mizusawa, H.: **Evolutionary consideration for the origin of human chromosome 9 by FISH analyses of comparative gene mapping of IGHEP2 in higher primates**

HGM'96 HUGO's Human Genome Meeting, Heidelberg, Germany (1996. 3)

* 東京大学理学部

増井 徹: **正常上皮細胞の増殖停止特異遺伝子 eti-1 の 2 種類の転写産物の解析**

日本癌学会第 54 回総会 (1995. 10)

増井 徹: **上皮細胞特異的な増殖停止関連遺伝子 eti-1 の構造と機能**

がん生物ワークショップ (1995. 11)

増井 徹: **増殖停止関連遺伝子 eti-1 の構造と機能**

第 1 回上皮細胞研究会 (1996. 2)

本間正充, 林 真, 祖父尼俊雄: **LOH 型遺伝子突然変異の誘発機構と遺伝的不安定性**

第 54 回日本癌学会総会 (1995. 10)

Matsuoka, A., Yamada, K.*, Hayashi, M. and Sofuni, T.: **Chromosome painting analysis of lymphocytes from X-ray treated cancer patients**

European Environmental Mutagen Society, 25th annual meeting, Noordwijkerhout, The Netherlands (1995. 6)

* International Medical Center of Japan

鈴木孝昌, 伊藤俊明, 林 真, 西川秋佳, 池崎信一郎, 古川文夫, 高橋道人, 祖父尼俊雄: **トランスジェニックマウス (Big Blue) を用いた dimethylnitrosamine の発がん機構の解析**

第 54 回日本癌学会総会 (1995. 10)

小此木英男*, 牛島俊和*, 落合雅子*, 細谷曜子*, 鈴木孝昌, 祖父尼俊雄, 杉村 隆*, 長尾美奈子*: **Big Blue マウスにおける MeIQ の突然変異頻度, 変異スペクトラムと発がんの臓器特異性**

第 54 回日本癌学会総会 (1995. 10)

* 国立がんセンター研究所

小野哲也*, 鈴木孝昌, 林 真, 祖父尼俊雄: **自然突然変異の老化に伴う増加速度**

第 54 回日本癌学会総会 (1995. 10)

* 東北大学医学部

本間正充, 林 真, 祖父尼俊雄: **変異型 p53 遺伝子をもつ WTK-1 細胞における遺伝子突然変異の解析**

第 38 回日本放射線影響学会 (1995. 11)

松岡厚子, 山田清美*, 林 真, 祖父尼俊雄: **X 線治療を受けた癌患者リンパ球の FISH 法による染色体異常解析および相当被曝線量の算定**

第 38 回日本放射線影響学会 (1995. 11)

* 国立国際医療センター

本間正充, 林 真, 祖父尼俊雄: **AS52 細胞を用いた Chlorambucil の欠失型遺伝子突然変異の検出**

第 24 回日本環境変異原学会 (1995. 11)

張 立実*, 本間正充, 林 真, 祖父尼俊雄: **Poly-ploid/aneuploid inducers can be detected by mouse lymphoma assay**

第 24 回日本環境変異原学会 (1995. 10)

* 華西医科大学

本間正充: **ヒトリンパ球細胞株の tk 遺伝子を利用した欠失型, 組換え型突然変異**

第 24 回日本環境変異原学会 (1995. 11)

小林 浩*¹, 伊藤裕之*², 奥 清春*², 林 真, 祖父尼俊雄: **Single cell gel electrophoresis assay (コメットアッセイ) における肉眼観察と画像解析の比較**

第 24 回日本環境変異原学会 (1995. 11)

*¹ 資生堂研究所

*² ケイオー電子工業

勝間祥行*, 森崎晃士郎*, 川島純彦*, 鈴木孝昌, 林真, 祖父尼俊雄: **小核試験におけるイメージアナライザを用いる末梢網赤血球観察の自動化**

第 24 回日本環境変異原学会 (1995. 11)

* 東洋紡

佐々木有*, 田中真紀子*, 村上道子*, 林 真, 祖父尼俊雄: **八戸近海の高産魚の小核試験とコメットアッセイを用いる沿岸水域変異原のモニタリング**

第 24 回日本環境変異原学会 (1995. 11)

* 八戸高専

岩崎浩一*, 谷所達幸*, 古郡三千代*, 下位香代子*, 木苗直秀*, 林 真, 祖父尼俊雄: **魚類の小核試験と海水の Ames 試験を用いる水汚染のモニタリング**

第 24 回日本環境変異原学会 (1995. 11)

* 静岡県立大・食品栄養

高井明德*¹, 上野紘一*², 佐々木有*³, 浅野哲秀*⁴, 林真, 祖父尼俊雄, 小嶋吉雄*⁵: **魚類の鰓細胞を用いた小核試験法の開発と水質汚染の細胞遺伝毒性影響評価への影響**

第 24 回日本環境変異原学会 (1995. 11)

*¹ 大阪信愛短大

*² 近畿大・農

*³ 八戸高専

*⁴ 日東電工

*⁵ 日本魚類生科研

Honma, M.: **Some type of mutagens only detected by continuous treatment in the microtiter method**

27th annual meeting of Environmental Mutagen Society, Victoria, Canada (1996. 3)

鈴木孝昌, 伊東 悟*¹, 竹本奈緒子*², 矢嶋信浩*², 林真, 島田弘康*¹, 祖父尼俊雄: **生殖細胞に対する遺伝毒性試験としてのトランスジェニックマウスの利用**

第 24 回日本環境変異原学会 (1995. 11)

*¹ 第一製薬(株)

*² 雪印乳業(株)

Nagao, M.*¹, Okonogi, H.*¹, Ushijima, T.*¹, Zhang, X.

B.*², Heddle, J. A.*², Suzuki, T., Sofuni, T., Felton, J.*³, Tucker, J.*³, and Sugimura, T.*¹: **Mutational spectra of MeIQ, PhIP and AαC in BBM relevant to the oncogene or tumor suppressor gene mutations**

A Satellite Conference to the 1996 Meeting of the Environmental Mutagen Society, Sidney, Canada (1996. 3)

*¹ National Cancer Center Research Institute

*² York University

*³ Lawrence Livermore National Laboratory

Nohmi, T., Gruz, P., Yamada, M., Matsui, K. and Sofuni, T.: **umuDC and induced mutagenesis in Escherichia coli and Salmonella typhimurium**

国際シンポジウム突然変異誘発の分子機構 (1995. 7)

Sofuni, T., Suzuki, T., and Hayashi, M.: **Use of transgenic mutation assays in a regulatory submission**

A Satellite Conference to the 1996 Meeting of the Environmental Mutagen Society, Sidney, Canada (1996. 3)

Suzuki, T., Itoh, S.*¹, Takemoto, N.*², Yajima, N.*², Miura, M.*¹, Hayashi, M., Shimada, H.*¹, and Sofuni, T.: **Ethyl nitrosourea and methyl methanesulfonate mutagenicity in sperm and testicular germ cells of lacZ transgenic mice (Muta™ Mouse)**

27th Annual Meeting of Environmental Mutagen Society, Victoria, Canada (1996. 3)

*¹ Daiichi Pharm. Co. Ltd.

*² Snow Bland Milk Products Co. Ltd.

祖父尼俊雄, 松岡厚子, 林 真, 山田清美* : **染色体ペインティング法による X 線治療癌患者リンパ球の染色体異常解析**

日本原子力学会, 1996 年春の年会 (1996. 3)

* 国立国際医療センター

Okonogi, H.*¹, Ushijima, T.*¹, Zhang, X. B.*², Heddle, J. A.*², Suzuki, T., Sofuni, T., Felton, J.*³, Tucker, J.*³, Sugimura, T.*¹ and Nagao, M.*¹: **Preferential mutation sites of , PhIP AαC and MeIQ-induced lacI mutations**

A Satellite Conference to the 1996 Meeting of the Environmental Mutagen Society, Sidney, Canada (1996. 3)

*¹ National Cancer Center Research Institute

*² York University

*³ Lawrence Livermore National Laboratory

Gruz, P., Sofuni, T. and Nohmi, T.: **The His-Tag® and GST N-terminal fusions as tools for studying the functions of UmuC-like mutagenesis proteins**

第 18 回日本分子生物学会年会 (1995. 12)

能美健彦 : **変異原性試験の最近の動向**

国立公衆衛生院毒性学 (1995. 5)

渡辺雅彦, 西野達也, 能美健彦, 祖父尼俊雄 : **Salmonella typhimurium ニトロ還元酵素の精製とその特性**

日本環境変異原学会第 24 回大会 (1995. 11)

能美健彦 : **特殊毒性試験, 特に遺伝毒性試験とその評価**
日本防菌防黴学会, 防菌防黴剤研究部会 (1995. 6)

Nohmi, T.: **umuDC in Escherichia coli and its homologous genes**

フランス CNRS 研究所セミナー (1995. 10)

鈴木 任, 祖父尼俊雄, 能美健彦 : **大腸菌 mutM 遺伝子の発現誘導機構の解析**

第 18 回日本分子生物学会年会 (1995. 12)

金 秀良, 祖父尼俊雄, 能美健彦 : **酵母 8-ヒドロキシグアニン修復酵素活性の解析**

第 18 回日本分子生物学会年会 (1995. 12)

堀谷尚古*¹, 能美健彦, 加藤基恵*², 澁谷徹*¹, 池田日出男*³ : **トランスジェニックマウスの遺伝子突然変異試験に用いる自家製パッケージングエクストラクトの効果的使用法**

日本環境変異原学会第 24 回大会 (1995. 11)

*¹ 食品薬品安全センター

*² チリ大

*³ 東京大学医科学研究所

能美健彦, 加藤基恵*¹, 山田雅巳, 堀谷尚古*¹, 松井道子, 渡辺雅彦, 鈴木宏志*², 澁谷 徹*¹, 池田日出男*³, 祖父尼俊雄 : **点突然変異と欠失突然変異を検出するトランスジェニックマウスの開発**

第 18 回日本分子生物学会年会 (1995. 12)

*¹ 食品薬品安全センター

*² CSK リサーチパーク

*³ 東京大学医科学研究所

能美健彦, 加藤基恵*¹, 山田雅巳, 堀谷尚古*¹, 松井道子, 渡辺雅彦, 鈴木宏志*², 澁谷 徹*¹, 池田日出男*³, 祖父尼俊雄 : **欠失突然変異をポジティブに検出する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**

日本環境変異原学会第 24 回大会 (1995. 11)

*¹ 食品薬品安全センター

*² CSK リサーチパーク

*³ 東京大学医科学研究所

松井道子, 能美健彦, 祖父尼俊雄 : **大腸菌 gpt 遺伝子 (ECOGPT) における γ 線誘発突然変異のスペクトラム**

日本環境変異原学会第 24 回大会 (1995. 11)

Gruz, P., Matui, K., Nohmi, T. and Sofuni, T.: **The abilities of UmuDC like proteins to promote spontaneous, chemical and UV light-induced mutagenesis: Comparison of MucA'B and SamA'B proteins expressed independently on the SOS system**

日本環境変異原学会第 24 回大会 (1995. 11)

Suzuki, T., Itoh, M., Nishikawa, S., Ikezaki, S., Furu-kawa, F., Takahashi, M., and Sofuni, T.: **Organ variation in the mutagenicity of dimethylnitrosamine in Big Blue mice**

A Satellite Conference to the 1996 Meeting of the Environmental Mutagen Society, Sidney, Canada (1996. 3)

Nohmi, T., Kato, M.*¹, Yamada, M., Horiya, N.*², Matsui, M., Watanabe, M., Suzuki, H.*³, Shibuya, T.*², Ikeda, H.*⁴ and Sofuni, T.: **Development of a new transgenic mouse mutagenesis test system using Spi⁻ and 6-thioguanine selections**

A Satellite Conference to the 1996 Meeting of the Environmental Mutagen Society, Transgenic Animals in Mutation Research, Canada (1996. 3)

*¹ チリ大

*² 食品薬品安全センター

*³ CSK リサーチパーク

*⁴ 東京大学医学研究所

祖父尼俊雄, 本間正充, 林 真, 島田弘康*¹, 田中憲穂*², 若栗 忍*², 青儀 巧*³, 山本好一*⁴, 西 義介*⁵, 中館正弘: **厚生省/製薬協 第一回マウスリンフォーマ試験 (MLA) 国際共同研究**

第 24 回日本環境変異原学会 (1995. 11)

*¹ 第一製薬(株)

*² 食品薬品安全センター

*³ 大塚製薬(株)

*⁴ 武田薬品工業(株)

*⁵ 日本たばこ産業(株)

Yomota, C., and Okada S.: **Colligative properties of hyaluronate as a polyelectrolyte**

1995 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Honolulu, USA (1995. 12)

宮崎玉樹, 四方田千佳子, 岡田敏史: **金属によるヒアルロン酸の分子量変化**

第 45 回日本薬学会近畿支部 (1995. 10)

Yomota, C., and Okada S.: **Non-freezing water in anionic polysaccharides**

211th American Chemical Society, New Orleans, Louisiana, USA (1996. 3)

Miyazaki, T., Yomota, C., and Okada S.: **Degradation of hyaluronate by metals**

211th American Chemical Society, New Orleans, Louisiana, USA (1996. 3)

四方田千佳子, 岡田敏史: **アニオン性多糖類の DSC 挙動**

第 45 回高分子学会年次大会 (1996. 5)

井部佳江子*, 小林達治*, 高橋幸男*, 赤木好男*, 谷本剛: **糖尿病性網膜症の進展と赤血球中アルドース還元酵素量との関連について**

第 49 回日本臨床眼科学会 (1995. 11)

* 福井医科大学

前川京子, 谷本 剛, 岡田敏史: **ウリナスタチンの力価測定における問題点**

第 32 回全国衛生化学技術協議会 (1995. 11)

小林達治*¹, 久保江理*¹, 高橋幸男*¹, 赤木好男*¹, 谷本剛, 鈴木研一*², 後藤由夫*², 大西晃生*³, 姫井 孟*⁴: **糖尿病網膜症発症と赤血球 AR 値の関連について**

第 2 回日本糖尿病眼学会総会 (1996. 3)

*¹ 福井医科大学

*² 東北厚生年金病院

*³ 産業医科大学

*⁴ 岡山赤十字病院

鳥取恵子*, 平田雅彦*, 大桃善朗*, 田中千秋*, 谷本剛: **オキサゾール環を有する新規アルドース還元酵素阻害剤の合成とその阻害活性**

日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)

* 大阪薬科大学

谷本 剛, 前川京子, 岡田敏史, 西村千尋*: **糖尿病合併症の発症と赤血球アルドース還元酵素量との相関**

日本薬学会第 116 年会 (1996. 3)

* 国立小児病院

Tanimoto, T., Akagi, Y.*¹, Takahashi, Y.*¹, Goto, Y.*², Suzuki, K.*², Ohnishi, A.*³, and Himei, H.*⁴: **An Amount of Aldose Reductase in Red Blood Cell of Diabetic Patients**

1996 Annual Meeting of ARVO, Fort Lauderdale, Florida, USA (1996. 4)

*¹ 福井医科大学

*² 東北厚生年金病院

*³ 産業医科大学

*⁴ 岡山赤十字病院

谷本 剛, 西村千尋*¹, 後藤由夫*², 鈴木研一*², 大西晃生*³, 姫井 孟*⁴, 高橋健二*⁵, 羽井佐 茂*⁶: **NIDDM における糖尿病性神経障害の発症と赤血球アルドースリダクターゼ量との相関**

第 39 回日本糖尿病学会 (1996. 5)

*¹ 国立小児病院

*² 東北厚生年金病院

*³ 産業医科大学

*⁴ 岡山赤十字病院

*⁵ 倉敷中央病院

*⁶ 岡山市民病院

小松裕明, 岡田敏史: **エタノールによるレシチンリポソーム膜の透過性亢進に及ぼす添加脂質の影響—指組み構造相の形成による膜の相分離—**

第 17 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム (1995. 10)

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機構—指組み構造相の形成による膜の相分離—膜シンポジウム'95 (1995. 11)**

Komatsu, H., Yoshii, K., Okada, S. and Miyajima, K.*: **Protective effects of salts against the coalescence of fat emulsions during freeze-thawing**

1995 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Honolulu, USA (1995. 12)

* 京都大学薬学部

Komatsu, H. and Okada, S.: **Permeability of lecithin/phosphatidylethanolamine liposomal membranes with mixtures of ethanol-induced interdigitated and normal bilayer structures**

40th Annual Meeting of the Biophysical Society, Baltimore, USA (1996. 2)

小松裕明, 岡田敏史: エタノールによるコレステロール/レシチン混合リポソーム膜の透過性亢進
日本薬学会第116年会 (1996.3)

小松裕明, 北島文, 岡田敏史, 中田靖*¹, 山崎義明*²: ヒトインスリン水性懸濁注射剤の光散乱法による粒度分布の評価
日本薬学会第116年会 (1996.3)

*¹ (株)堀場製作所

*² 野崎産業(株)

小松裕明, 吉井公彦, 岡田敏史: 熱分析法の医薬品の品質評価試験への応用
日本薬学会第116年会 (1996.3)

Nakanishi, K.*¹, Masukawa, T.*¹, Nadai, T.*¹, Yoshii, K., Okada, S. and Miyajima, K.*²: **Prolonged release of drug from triacetyl β -CD complex for oral and rectal administration**
The 8th International Cyclodextrin Symposium, Budapest, Hungary (1994.3)

*¹ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University

*² Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University

中村優美子, 津村ゆかり, 外海泰秀, 柴田正, 内山充: スクアレン経口投与時の血清・肝臓脂質と糞中ステロイド排泄の変化
第50回日本栄養・食糧学会大会 (1996.4)

中村優美子, 津村ゆかり, 外海泰秀, 柴田正: サラダ油, 玄米, 大豆中ピレスロイド系農薬分析時における脱脂行程の検討
日本食品衛生学会第71回学術講演会 (1996.5)

津村ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 柴田正: 玄米中トリシクラゾールのGC分析における遊離脂肪酸の影響とその除去法
日本食品衛生学会第71回学術講演会 (1996.5)

辻澄子, 石光進, 柴田正: 電気化学検出器を用いたHPLCによるトコフェロール同族体の分析法について
日本食品衛生学会第71回学術講演会 (1996.5)

石光進, 三島郁子, 辻澄子, 柴田正: 高速液体クロマトグラフィーによるアゾ系食用タール色素中の未反応原料, 反応中間体および付随色素の定量
第32回全国衛生化学技術協議会年会 (1995.11)

三島郁子, 石光進, 辻澄子, 柴田正: キサンテン系食用色素の光照射による安定性およびハロゲンイオンの遊離
日本食品衛生学会第71回学術講演会 (1996.5)

小林昭彦*, 武田寿*, 伊藤澄夫*, 渡辺芳則*, 宮田昌弘*, 平原嘉親*, 成田美加子*, 木村実加*, 前田憲二*, 外海泰秀, 中村優美子, 津村ゆかり, 柴田正: 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
第32回全国衛生化学技術協議会年会 (1995.11)

* 神戸検疫所 輸入食品・検査検査センター

外海泰秀, 津村ゆかり, 中村優美子, 柴田正: 農作物中トリアジン系除草剤の迅速, クリーンアナリシス
日本食品衛生学会第71回学術講演会 (1996.5)

伊藤誉志男*¹, 田中敏嗣*², 佐々木久美子, 谷孝之*³, 外海泰秀, 中澤裕之*⁴, 中村好志*⁵, 永山敏廣*⁶, 西島基弘*⁶, 星野庸二*⁷, 堀伸二郎*⁸, 宮田秀明*⁹: 飲食物試験法・食品汚染物試験法, 有機塩素系農薬; 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116年会 (1996.3)

*¹ 武庫川女子大学薬学部

*² 神戸市環境保健研究所

*³ 神奈川県衛生研究所

*⁴ 星薬科大学

*⁵ 静岡県立大学薬学部

*⁶ 東京都立衛生研究所

*⁷ 埼玉県衛生研究所

*⁸ 大阪府立公衆衛生研究所

*⁹ 摂南大学薬学部

Ema, M., Kurosaka, R., Amano, H., and Ogawa, Y.: **Phase specificity of the developmental toxicity of mono-*n*-butyl phthalate in rats**
International Congress of Toxicology VII, Seattle, U. S. A. (1995.7)

江馬真, 黒坂麗子, 天野博夫, 小川義之: モノブチルスズ, ジブチルスズおよびトリブチルスズのラットにおける発生毒性の比較
第22回日本毒科学会学術年会 (1995.7)

岩瀬隆之*, 江馬真, 岩瀬裕美子*, 稲沢圭子*, 小川義之: Di-*n*-butyltin dichlorideの催奇形性に対する培養ラット胚の感受性変化について
第35回日本先天異常学会学術集会 (1995.7)

* 三菱化学横浜総合研究所 安全性研究所

江馬真, 黒坂麗子, 天野博夫, 小川義之: モノブチルфтаレートラットのラットにおける発生毒性
第35回日本先天異常学会学術集会 (1995.7)

中村ゆかり, 村井敏美, 小川義之: PC12細胞のニューロン分化に伴うストレス蛋白質の発現量の変化
第68回日本生化学会大会 (1995.9)

岩瀬隆之*, 江馬真, 岩瀬裕美子*, 小川義之: 胎生8日目からの培養ラット胚に対するdi-*n*-butyltin dichlorideの影響
日本動物実験代替法学会第9回大会 (1995.11)

* 三菱化学横浜総合研究所 安全性研究所

Ema, M., Harazono, A., Miyawaki, E., Amano, H., and Ogawa, Y.: **Phase-specific developmental toxicity of mono-*n*-benzyl phthalate (MBeP) in rats**
Society of Toxicology 35th Annual Meeting, Anaheim, U. S. A. (1996.3)

芝野真喜雄*, 松本吉広*, 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5)

日本生薬学会第42回年会 (1995.9)

* 大阪薬科大学

松本吉広*, 芝野真喜雄*, 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6)

日本薬学会第116回年会 (1996.3)

* 大阪薬科大学

酒井英二, 柴田敏郎, 西孝三郎, 飯田修, 佐竹元吉: 薬用植物種子の保存に関する研究

日本生薬学会第42回年会 (1995.9)

野呂征男*¹, 久田陽一*¹, 奥田和代*¹, 川村智子*¹, 森崇*¹, 田中俊弘*², 西部三省*³, 酒井英二: ゲンノショウコのフラボノイドについて (3) フラボノイドとゲラニンおよび花色との関連と変動

日本薬学会第116回年会 (1996.3)

*¹ 名城大学薬学部*² 岐阜薬科大学*³ 北海道医療大学薬学部

神谷隆*, 佐々木和生, 吉松嘉代, 下村講一郎: ベラドンナ毛状根の凍結保存・簡便法および評価

第14回植物組織培養学会大会 (1995.7)

* 秩父小野田(株)

吉松嘉代, 佐々木和生, 山口浩子*, 下村講一郎: オタネニンジン毛状根の凍結保存

第14回植物組織培養学会大会 (1995.7)

* 佐賀県薬業指導所

W. Shu, K. Yoshimatsu, H. Yamaguchi* and K. Shimomura: Tissue culture of *Panax ginseng*: Somatic embryogenesis and hairy root culture

第14回植物組織培養学会大会 (1995.7)

* 佐賀県薬業指導所

浅井以和夫*¹, 義平邦利*¹, 大本俊郎*², 佐久井徳広*², 下村講一郎: *Anthemis nobilis* L. の培養による香氣成分の生産

第14回植物組織培養学会大会 (1995.7)

*¹ 東亜大学*² 三栄源 FFI

安哲準, 多田弘美*, 石丸幹二*, 佐々木和生, 下村講一郎: 韓国産キキョウにおける毛状根の誘導とポリアセチレン生産

第14回植物組織培養学会大会 (1995.7)

* 佐賀大学農学部

梅津博紀*¹, 和気仁志*², 鈴木雅子*², 永井智雄*³, 下村講一郎: 低温保存した植物培養細胞のアイソザイム

日本農芸化学会1995年度大会 (1995.8)

*¹ 青森大学工学部*² ペんてる(株)中央研究所*³ 鐘紡(株)生化学研究所鷲田大輔*¹, 北中進*¹, 滝戸道夫*¹, 下村講一郎, 中島由郎*²: F1薬用人参 (*Panax ginseng* x *P. quinquefolium*) の毛状根培養におけるオーキシンの効果

日本生薬学会第42回年会 (1995.9)

*¹ 日本大学薬学部*² 長野県営農技術センター

吉松嘉代, 北澤尚, 下村講一郎: 高度環境制御下におけるケシの生育とアヘンアルカロイド

日本生薬学会第42回年会, 福山 (1995.9)

山中美智子*¹, 寺原典彦*², 下村講一郎, 石丸幹二*¹: *Loberia* 属植物毛状根を用いたポリアセチレン生産とフェノール類の配糖化

園芸学会平成7年度秋季大会 (1995.10)

*¹ 佐賀大学農学部*² 南九州大学田中章江*, 下村講一郎, 石丸幹二*: *Loberia erinus* L. の組織培養と二次代謝に関する研究

園芸学会平成7年度秋季大会 (1995.10)

* 佐賀大学農学部

元森美奈雄*¹, 井手順子*¹, 下村講一郎, 森欣也*², 國武久登*², 中島壽亀*², 田中政信*², 宮崎貞巳*¹, 石丸幹二*¹: *Fragaria x ananassa* の毛状根培養におけるポリフェノール類生産

園芸学会平成7年度秋季大会 (1995.10)

*¹ 佐賀大学農学部*² 佐賀農業試験センター

吉松嘉代, 西孝三郎, 下村講一郎: 薬用植物の超低温保存に関する研究 I. オタネニンジンおよびトウキ毛状根について

日本薬学会第116回年会 (1996.3)

鷲田大輔*¹, 武藤全弘*¹, 滝戸道夫*¹, 北中進*¹, 下村講一郎, 中島由郎*²: F1薬用人参の毛状根培養におけるポリアセチレン類の生産

日本薬学会第116回年会 (1996.3)

*¹ 日本大学薬学部*² 長野県営農技術センター

八木 晟*, 浅井雅美*, 日根紀子*, 長尾美代子*, 岡村信幸*, 下村講一郎: アロエベラのカルスと茎頂培養におけるアロエシンの HPLC 分析

日本薬学会第116回年会 (1996.3)

* 福山大学薬学部

姉帯正樹*, 兼俊明夫*, 畠山好雄, 柴田敏郎, 飯田修: *Astragalus mongholicus* を基原とする北海道産黄耆の化学的品質評価

日本生薬学会第42回年会 (1995.9)

*北海道立衛生研究所

野口 衛他: 生薬品質集談会報告第26報—キキョウについて—

第24回生薬分析シンポジウム (1995.11.10)

高上馬希重*, 神田博史*, 香月茂樹: *Panax* 属の組織培養に関する研究

日本生薬学会第42回年会 (1995.9)

* 広島大学医学部

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7年度に行った演題は次のとおりである。

第380回 (平成7年4月11日)

- 食品種類別におけるフモニシンの分析法の検討
食品部 穂山 浩
- 共同利用機器 600 MHz NMR の特徴と限界
—傾斜磁場 NMR を利用した色素成分の構造解析から—
食品添加物部 合田 幸広
- ポリウレタンの発癌性の要因の解析に関する研究
療品部 土屋 利江
- 白血球の活性化機構における蛋白質リン酸化/脱リン酸化の役割
代謝生化学部 鈴木 和博

第381回 (平成7年5月9日)

- 木製品中のホルムアルデヒドについて
食品添加物部 河村 葉子
- 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 VLDL 分泌低下機構—血清脂質低下薬フィブラート類の新規作用機構
代謝生化学部 最上 知子
- オピオイド結合タンパク (OBCAM) のラットにおける発現
機能生化学部 蜂須賀 暁子

第382回 (平成7年6月13日)

- 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
食品部 根本 了
- 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
食品添加物部 杉田 たき子
- 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
毒性部 松島 裕子
療品部 五十嵐 良明
- 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
病理部 豊田 和弘

第383回 (平成7年7月11日)

- K562 細胞の赤芽球分化過程におけるヘム合成調節機構について
生物薬品部 川崎 ナナ
- 超臨界流体抽出による農産物中の残留農薬分析に関する基礎的検討
食品部 根本 了
- 市販パプリカ (トウガラシ) 色素中の色素成分の分析と同定
食品添加物部 合田 幸広
- 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
病理部 安原 加壽雄

第384回 (平成7年9月12日)

- γ線照射によるマイクロスフェアの薬物放出速度の制御
薬品部 吉岡 澄江
阿曾 幸男
- ラット株化好塩基球性白血病細胞 (RBL-2H3 cell) を用いた儀アレルギー反応系: 小胞体 Ca²⁺ ATPase 阻害剤, 2,5-ジ(*tert*)ブチルヒドロキノンによる細胞内 Ca²⁺ 量上昇は, ホルボールエステル存在下でのみ, ヒスタミン遊離を引き起こした。
毒性部 北嶋 聡
- アルデヒド類のモルモットにおける皮膚感作性ならびに交差反応性の構造活性相関について
毒性部 門馬 純子
- CASA-System (HIM-IVOS) を用いた精子試験 I. α-chlorohydrin
毒性部 川島 邦夫
- ラット初代培養肝細胞における DNA 損傷による P53 蛋白の誘導に及ぼすペルオキシゾーム増殖剤の影響
毒性部 高木 篤也

第385回 (平成7年10月17日)

- ニフェジピンの結晶化速度に及ぼす添加剤の影響
薬品部 阿曾 幸男
吉岡 澄江
- 陰イオン交換クロマトで分画した組換え EPO の糖鎖構造と生物活性およびその改変
生物薬品部 森本 和滋
- ヘマトポルフィリンの UV 増感による溶血と紫外線吸収剤の評価
環境衛生化学部 内野 正

第386回 (平成7年11月7日)

- 大腸菌を用いたオピオイド結合タンパク (OBCAM) の発現
機能生化学部 中島 治
- ヒト成長ホルモン結合蛋白の生成機構
機能生化学部 斎藤 嘉朗
- 魚粉および亜硝酸の同時投与によるラット腎腫瘍の発生
病理部 古川 文夫

第387回 (平成7年12月12日)

—特別例会—

- はじめに—企画のねらい—
大阪支所長 武田 寧
- 特別コメント
ICH 枠組み—背景・経過・ならびにその成果—
薬務局審査課 成川 衛
- 不純物規格と分析バリデーション
薬品部 小嶋 茂雄
- バイオ医薬品: 細胞基材/遺伝子安定性/ウイルス安全性/製品安定性
生物薬品部 早川 堯夫
- 癌原性試験の問題点と合意点
病理部 高橋 道人
- 遺伝毒性試験
変異遺伝部 祖父尼 俊雄

7. バイオ製品に関する安全性試験
 毒性部 井上 達

第 388 回 (平成 8 年 1 月 9 日)

1. ラット初代培養肝細胞におけるグルコシルコイド受容体のチロシンキナーゼによる調節
 生物薬品部 新見 伸吾
2. HL-60 細胞における M-CSF レセプター高発現細胞株の樹立
 生物薬品部 春日井 勲
3. 臭素酸カリウム投与によるラット腎 DNA 中の 8-hydroxy deoxyguanosine 生成における性差について
 毒性部 梅村 隆志
4. チオウレアとビタミン A 複合投与ラットにおける甲状腺腫瘍発生促進メカニズム
 病理部 三森 国敏

第 389 回 (平成 8 年 2 月 13 日)

1. 増殖停止特異遺伝子 eti-1 の構造と機能
 変異遺伝部 増井 徹
2. Oxfendazole 反復投与ラットにおける肝 P450 アイソザイムおよびコネクシン 32 の変動
 病理部 小野寺 博志
3. Cancer risk assessment by a mediumterm carcino-

genicity bioassay using repeated administration of D-galactosamine

病理部 金 亨 津

4. 抗真菌活性評価に影響を及ぼす細胞要因
 衛生微生物部 高 鳥 浩 介

第 390 回 (平成 8 年 3 月 12 日)

1. 好塩基球細胞の Ca^{2+} 応答および leucotriene C_4 遊離に対する Ca^{2+} -ATPase 阻害剤の影響
 機能生化学部 赤坂 玲子
 手島 玲子
2. FISH 法によるヒトおよび高等霊長類の核型進化に関する研究
 変異遺伝部 田 辺 秀 之
3. Sulfadimethoxine (SDM), propylthiouracil (PTU), potassium thiocyanate (KSCN) および phenobarbital (PB) によるラット甲状腺腫瘍誘発に及ぼす vitamin A (VA) 同時投与の影響
 病理部 竹川 潔
 三森 国敏
4. 鉄ニトリロ三酢酸が引き起こすラット腎酸化的ストレスに対するチオール化合物の抑制効果
 毒性部 梅村 隆志

支 所 例 会

第 142 回 (平成 7 年 4 月 25 日)

1. 日本薬局法における計量単位の SI 国際単位化について
薬品試験部 岡田 敏 史
2. モノブチルスズ, ジブチルスズおよびトリブチルスズ
における発生毒性の比較
生物試験部 江 馬 真
3. スクアレンの生体影響に関する研究
食品試験部 中 村 優美子

第 143 回 (平成 7 年 7 月 4 日)

1. 茶葉中のピレスロイド系農薬およびそれらの加水分解
物 PBA の系統的分析法
食品試験部 津 村 ゆかり
2. 中枢神経系幹細胞としての性質を示す樹立細胞株
生物試験部 天 野 博 夫
3. ヒアルロン酸の物性と応用
薬品試験部 四方田 千佳子

第 144 回 (平成 7 年 9 月 26 日)

1. 遺伝子治療薬, アンチセンス薬の創製におけるバイオ
ブリット化技術の応用
薬品試験部 谷 本 剛
2. アゾ系食用タール色素中の未反応原料, 反応中間体お
よび付随色素の高速液体クロマトグラフィーによる定
量
食品試験部 石 光 進
3. ウシプロスタグランジン E 受容体 EP3D の第 7 膜貫
通領域に存在するアルギニン残基とアゴニストのカル
ボン酸との相互作用について
生物試験部 原 園 景

第 145 回 (平成 7 年 10 月 24 日)

1. タンパク質医薬品の分子修飾による安定化戦略
薬品試験部 前 川 京 子
2. 新しい食品衛生管理手法 HACCP について
食品試験部 柴 田 正
3. サイトカイン産生を生体反応指標とする発熱性物質検
出システムの構築—その意義と特長について—
生物試験部 村 井 敏 美

第 146 回 (平成 7 年 12 月 19 日)

1. Group Ware “Lotus Notes” 入門
支 所 長 武 田 寧
2. 金属によるヒアルロン酸の分子量変化について
薬品試験部 宮 崎 玉 樹
3. タイ国食品衛生強化プロジェクトにおける食品衛生お
よび残留農薬の分析技術協力に関する活動報告
食品試験部 外 海 泰 秀

第 147 回 (平成 8 年 1 月 23 日)

1. 熱分析法の医薬品の品質評価試験への応用
薬品試験部 岡 田 敏 史
2. エタノールによるリポソーム膜の透過性亢進機構—指
組み構造相の形成による膜の相分離—
薬品試験部 小 松 裕 明
3. プロピオン酸テストステロンの純度試験
薬品試験部 吉 井 公 彦
4. 電気化学検出器を用いた抽出トコフェロールの逆相
HPLC について
食品試験部 辻 澄 子
5. エンドトキシンに関わる諸問題: 対応状況と今後の展
望
生物試験部 小 川 義 之

 特別講演会

- 平成7年4月25日
Cell adhesion to biomaterial surfaces under well-defined flow conditions
University of Delaware Prof. Stuart L. Cooper
- 平成7年7月20日
モデルを用いた化学物質の環境動態予測の現状と今後
三菱化学安全科学研究所 吉田 喜久雄
- 平成7年9月8日
Poly(ADP-ribose)lation のDNA修復における役割とその生理的機能
スタンフォード大学 佐藤 政彦
- 平成7年9月21日
動脈硬化の生化学・形態学的解析
帝京大学教授薬学部教授 高野 達哉
- 平成7年9月26日
安全と安心, そして輝き—北欧・北米そして日本で考える
朝日新聞論説委員 大熊 由紀子
- 平成7年9月27日
糖鎖の機能を求めて
三菱生命研究所長 永井 克孝
- 平成7年10月25日
老化研究における霊長類の重要性
筑波医学実験用霊長類センター長 吉川 泰弘
- 平成7年11月15日
「抗体触媒」免疫システムを利用した機能性タンパク質の創製
- 蛋白質工学研究所 藤井 郁雄
- 平成8年1月19日
膜融合リポソームとその遺伝子治療等への応用
大阪大学薬学部教授 真弓 忠範
- 平成8年1月31日
ヒトにおける薬物体内動態の予測: *In vitro*, データを基にした, バイオアベイラビリティ, 薬物間相互作用の予測
東京大学薬学部教授 杉山 雄一
- 平成8年2月2日
Modulation of Cell-Cell Communication by Tumor Promoters, Growth Factors, Oncogenes During Carcinogenesis: Role of Oxidative Stress and Signal Transduction
ミシガン州立大学教授 James E. Trosko
- 平成8年2月6日
日本における動物実験の在り方—北欧と日本の倫理感の相違
国立精神・神経センター武蔵病院部長 埜中 征哉
- 平成8年2月27日
Analyses of Roles of the UmuDC Proteins of Escherichia coli in SOS mutagenesis and Cellular Physiology
MIT, USA Prof. Graham C. Walker
- 平成8年3月27日
Spontaneous and Radiation-induced Instability in Telomere-like Repeat Sequences in the mouse
英国・放射線防護庁 Dr. Simon Bouffler

 支所特別講演会

- 平成7年11月21日
研究支援としてのインターネット
大阪大学薬学部衛生化学教室 那須 正夫

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（療品, 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, 療品, 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, 療品）
Evaluation of *in vivo* and *in vitro* systems for the measurement of biological effects of drugs and chemicals
4. 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（療品, 支生）
Studies on establishment of early and sensitive toxicologic biomarkers in risk assessment

国立機関原子力試験研究費（科学技術庁）

1. 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（療品）
Gamma-ray sterilization of blood contacting medical devices and formation of volatile chemicals from the materials
2. 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（機能）
Development of a novel method for radiolabeling antibodies by genetic engineering
3. 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
4. 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
5. 照射冷凍食品等の検知法に関する研究（食品）
Detection procedures for irradiated frozen foods
6. γ 線照射により誘起される食品包装材料の科学的および物理的変動に関する研究（食添）
Chemical and physical changes of food packaging materials induced by gamma-irradiation
7. アシアロ糖タンパク質受容体の消長を指標とした肝疾患の診断法の確立（生物）
Diagnostic estimation of liver disorders by asialoglycoprotein
8. 新しい標識化合物を活用した乳癌の診断法の探索とその治療法に関する基礎的研究（機能）
Study on the development of diagnostic methods for mammary cancer using novel radioactive compounds
9. γ 線照射による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性の制御に関する研究（薬品）
 γ -irradiation-controlled release of biodegradable drug delivery systems

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. HIV/HTLV 感染・発症の制御技術の開発に関する研究

- (1) ウイルス感染制御技術の開発に関する研究（生薬）

Research of natural products for anti-virus (HIV)

3. 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 deficient synthesis of bioregulators

4. 高次脳機能の分子機構解明に向けた基盤技術の開発に関する研究（薬理）

- (1) 神経伝達物質遊離機構の解明

Research and development of basic technology for molecular mechanism of brain function

- (1) Neurotransmitter release mechanism

5. 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研究（情報）

Development of bio-reactive substances database

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 effective application of lipid molecular assembly as a drug-carrier and the establishment of the evaluating techniques for them

8. 化学物質による生体高分子の修飾と生物学的障害および発現機序に関する分子生物学的研究（変異）

Molecular biological studies on biological defects caused by the biopolymers modified with chemicals and their expression mechanisms

国立機関公害防止等試験研究費（環境庁）

1. 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（生物, 薬理）

Studies on effects of environmental pollutants on intracellular signaling and cell-to-cell communication network

2. 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

3. 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

4. 人を取り巻く生活環境におけるダイオキシン等およびその前駆物質の潜在的リスクアセスメント (環境)
Risk assesment of chlorinated dibenzop-dioxins and their presubstances in life environment
5. 水道水源水域および利水過程における親水性利水障害物質の適正管理に関する研究 (環境)
Comprehensive management of hazadrous hypophilic organic substances in drinking water source

地球環境研究総合推進費 (環境庁)

1. 地球環境から見た化学物質の総合評価手法に関する研究 (情報)
Study on total assesment of chemicals from global environmental view point

環境基本計画推進調査費 (環境庁)

1. カドミウムの安全性に関する緊急調査研究 (環境, 病理)
Urgent study on the safety of cadmium
2. 動物用医薬品の残留防止対策に関する研究 (病理, 食品)
Studies on policies for prevention of veterinary drug residues in food of animal orgin

厚生科学研究費補助金 (厚生省)

1. 傾斜磁場 NMR を利用した, 市販紅麴色素の構造決定 (食添)
Structural determination of main pigments in commercial monascus colors using pulse field gradient NMR
2. シトクロム P450 を指標とする産業用有機用剤の健康影響評価に関する研究 (環境)
Evaluation of biological effects of industrial solvents by cytchrome P-450
3. 毒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
4. 天然ゴム製品による I 型アレルギーと植物由来の防御タンパク質との関連性究明に関する研究 (療品)
Study on the responsibility of defense-related proteins in plants for latex allergy
5. 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)
Studies on safety evaluation of new food developed through biotechnology
6. ヒト培養細胞 K562 株を用いた赤芽球分化誘導因子に関する研究 (生物)
Study on erythroid-differentiating factors in K562 cells
7. 分子生物学的手法による発現細胞系での化学物質の作用の評価法に関する研究 (薬理)
Studies for evaluation of effects of chemicals using molecular biological techniques in gene-expression systems
8. 染色体ペインティング法によるヒト培養細胞株のゲノム解析に関する研究 (変異)
Chromosomal reconstitution of human cell lines revealed by chromosome painting analysis
9. 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-term storage for seeds of medicinal plants

10. けしがら抽出物の製法に関する研究 (筑植)
Research on method of manufacture of concentrated poppy straw
11. 毒物等誤嚥時の初期治療薬の開発研究 (筑植)
Development of ipecac syrup as vomitting agent
12. 薬用生物資源の保存および保護に関する研究 (生菜, 衛微, 北植, 筑植, 和植, 種植)
Studies on storage and conservation of the medicinal plants
13. 化粧品安全性評価ガイドラインに関する研究
Studies on guideline for safety evalutaion of cosmetics
14. 化粧品原料成分の品質試験方法に関する研究
Studies on the method of quality test for cosmetics
15. 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
16. B 群食品添加物の食品中の存在量 (食添)
Estimation of amounts of B-group food additives in foods
17. 新開発食品素材健康影響評価研究 (支食)
Regulatory issues on newly developed foodstuffs
18. 輸入農産物の分析, 試験法等に関する研究 (食添, 支食)
Studies on analysis and determination method of imported agricultural products
19. 農作物中の残留農薬およびその代謝物, 分解物の分析法に関する研究 (食品, 支食)
Study on determination methods of pesticide, its metabolites and its decomposed compounds from agricultural products
20. 培養細胞の研究資源化に関する基盤的研究 (支生)
Fundamental study on application of cultured cells as research resouces
21. 毒性学的手法を用いたスクリーニング毒性評価に関する研究
Development of screening tests with toxicological methods

科学研究費補助金 (文部省)

1. 高速走査型レーザー顕微鏡を用いたカルシウムウェーブの分子メカニズムの研究 (生物)
Studies on mechanisms of calcium waves using rapid scanning confocal laser microscopy
2. 化学合成によるエンドトキシンアンタ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
3. 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
4. 心筋歩調取り電位調節に果たすエンドセリン A, B 両受容体の機能分担の分子機序の解明 (生菜)
Electrophysiological and molecular biological elucidation of the distinct roles of endothelin ET_A and ET_B receptors in the regulation of cardiac pacemaker activity
5. 好塩基球受容体遺伝子変換体とシグナル伝達 (機能)
Study on the signal transduction in mast cells trans-

- fected by IgE receptor mutant gene
6. ヒト成長ホルモン結合蛋白の生成およびその調節に関する研究 (機能)
Study on the modulation of human growth hormone-binding
 7. 環境汚染物質塩基化エチレン化合物による P450 の変動 (環境)
Relationship between chlorinated ethylene structure and induction of P-450
 8. 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
 9. 上皮細胞特異的な増殖停止関連遺伝子 *eti-1* の構造と機能 (変異)
Study on structure and function of epithelial specific growth arrest related gene *eti-1*
 10. 環境因子の発がんリスク評価 (病理)
Carcinogenic risk assessment of environmental factors
 11. ニューロンモデルとしてのクロム親和細胞 (薬理)
Chromaffin cell as a neuron model
 12. 痛みの情報伝達における ATP 受容体群の役割に関する神経薬理学的研究
Neuropharmacological study for the role of ATP receptors on pain
- がん研究助成金 (厚生省)**
1. 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
 2. 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
 3. 環境化学物質による発がんの一時予防に関する研究 (センター長, 毒性, 病理)
Studies on primary prevention of environmental carcinogenesis
 4. がん顕在化の抑制に関する研究 (病理)
Studies on inhibition of cancer progression
 5. ヒトがんの環境要因と個体特性に関する分子疫学的研究 (病理)
Molecular epidemiological studies on environmental factors and host characteristics of human cancers
- その他**
1. 喫煙による発がんの抑制機構に関する研究 (病理)
喫煙科学研究財団研究助成金
Mechanistic studies on preventive effects of cigarette smoke against experimental carcinogenesis
 2. 実験的肺線維症における肺腫瘍誘発に係る諸因子の解析 (病理)
Studies on the factors relating to lung tumor induction in experimental pulmonary fibrosis
- 食品等試験検査費**
1. 農薬衛生対策推進費・食品残留残留農薬実態調査 (食品)
Survey of pesticide residue in agricultural products
 2. 農薬衛生対策推進費・食品残留農薬告示分析法検討 (食品, 食添)
3. Study on analytical method for pesticide residue
農薬衛生対策推進費・バナナ等の果皮と果肉との残留農薬比検討 (食品)
 4. Study on the comparison of residual amount of pesticides in banana skin and flesh
農薬衛生対策推進費・保存検体中の残留農薬実態調査 (食品)
Survey of pesticide residue in preserved food samples
 5. マーケット・バスケット調査費・外国使用農薬安全性調査試験 (メタベンズチアロン) (病理, 変異)
Study on the safety of pesticides used in foreign countries methabenzthiazuron
 6. 残留農薬簡易判定法開発検討費 (食品, 支食)
Study on rapid analytical method of pesticide residue
 7. 食品添加物規格基準設定費・食品添加物規格基準および試験法の設定, 改良 (食添, 支食)
Establishment and improvement of standards, specifications and test methods of foods additives
 8. 食品添加物規格基準設定費・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
 9. 食品添加物規格基準設定費・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
 10. 食品添加物安全性再評価費・慢性毒性試験 (ペクチン分解物) (病理)
Chronic toxicity test of pectin-degradation products
 11. 食品添加物安全性再評価費・慢性毒性試験 (クチナシ青色素) (病理)
Chronic toxicity test of garden blue
 12. 食品添加物安全性再評価費・催奇形性試験 (ペクチン分解物) (毒性)
Teratogenicity study of food additives
 13. 食品添加物安全性再評価費・変異原性試験 (変異)
Mutagenicity of food additives
 14. 食品添加物安全性再評価費・90 日間投与試験 (クロロフィル, ファフィア色素, カロブ色素) (毒性, 病理)
Ninety-day toxicity studies of natural color products (Chlorophyll, Phaffia color and Carob germ color)
 15. 容器包装等試験検査費 (食添)
Studies on food package and container
 16. 食品添加物有用性調査費 (食添)
Efficiency of food additives
 17. 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 (重金属) (食品)
Monitoring study on pesticide residue in livestock product and sea foods
 18. 畜水産食品中の残留有害物質に係る毒性試験 (ニトロフラゾン) (病理)
Toxicity test of veterinary drug residues in food of animal origin (nitroflazone)
 19. 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

20. 水質管理調査に係る CNP 代替農薬の標準試験 (環境)
Establishment of official method for diphenyl ether group-pesticides in drinking water
21. 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
22. 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
23. 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)
24. 構造活性相関を用いた毒性予測システムの構築 (評価)
Studies on toxicity prediction systems using structure-activity relationship technique
25. ICSC 翻訳カードの翻訳ファイルのカード形式へのプログラムの開発 (情報)
File transformation of translated files of ICSC to the card format
26. 化学的合成品以外の食品添加物の企画基準の設定 (食添, 支食)
Establishment of standards and specifications of food additives other than chemical synthetics
27. 食品中の残留農薬簡易分析法の開発研究 (食品, 支食)
Development of simple analytical methods for pesticides in foods
28. 食品中の食品添加物分析法の設定 (食添, 支食)
Establishment of determination methods for food additives
29. 食品添加物の規格基準および試験法の設定, 改良 (食添, 支食)
Establishment and improvement of quality control methods for food additives
30. 催奇形性試験 (ペクチン分解物)
Teratogenicity study of food additives: Pectin digests
- 家庭用品等試験検査費 (厚生省生活衛生局)**
1. 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/生体内運命に関する試験) (代謝)
Metabolism and disposition of tris(2-chloroethyl) phosphate
2. 家庭用品に使用される化学物質の試験検査 (DMBP, DAHQ, ZMBI/連続投与毒性試験) (毒性)
Repeated-dose toxicity studies for a 28day-subacute administration of 2-mercaptomethyl benzimidazole
3. 家庭用品に使用される化学物質の試験検査 (ETMDQ, PTMDQ/感作性試験) (毒性)
Skin sensitization tests of 2-mercaptobenzimidazole and 2,5-di-t-butylhydroquinone
4. 家庭用品に使用される化学物質の試験検査 (ETMDQ, PTMDQ, DAHQ, HICHO/細胞毒性試験 (療品))
Cytotoxicity test of chemicals used in household products: 6-ethoxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline, poly-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinone, 2,5-di-tert-amylhydroquinone and 2-hydroxy-4-isopropyl-2,4,6-cycloheptatrien-1-one
5. 家庭用品に使用される化学物質の試験検査 (EGM-BE/吸入毒性試験) (毒性)
Chronic inhalation toxicity study of bis(2-chloroethyl) ether
6. 家庭用品に使用される化学物質の試験検査 (MMBI, DBHQ, DMPPD/分析法設定 (療品))
Development of analytical methods of chemicals used in household products: 2-mercaptomethylbenzimidazole, 2,5-di-tert-butyl hydroquinone and N,N'-dimethylphenyl-p-phenylenediamine
7. 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-クロロプロピル)フォ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
8. 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
9. 指定化学物質摂取量子測調査 (2-(チオアノメチルチオ)ベンゾチアール, 2,4-ジアミノトルエン) (情報)
Estimation of intake of the designated chemical substances
10. 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
11. 構造活性相関を用いた毒性予測システムの構築 (評価)
Studies on toxicity prediction systems using structure-activity relationship technique
- 厚生本省庁費 (厚生省薬務局)**
1. 鑑識用向精神薬の標準品製造 (薬品)
Synthesis of the standards of psychotropic drugs for the criminal institution
2. 向精神薬分析法作成 (薬品)
Analytical manuals for the detection of Psychotropic drugs
- 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 (毒性)
Toxicity tests of food additive: Red-40
3. 毒物劇物指定調査のための毒性試験 (毒性)
Acute toxicity studies of trifluoromethane, sodium hypochlorite and potassium hypochlorite
4. 毒性試験代替法に関する比較試験 (毒性)
Intra-laboratory validation of alternative methods to eye irritation test for safety evaluation of cosmetic ingredients
- 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
2. 薬用生物資源の保存および保護に関する研究 (筑植)
Studies on storage and conservation of the medicinal plant
- 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 Car-exhaust Monitoring Station in Tokyo
- 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. 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 biotechnological drugs
 2. 新開発食品の食品化学的特性評価手法の開発に関する研究 (食品)
Studies on development of evaluating methods for food chemical characterization of new foods
 3. 遺伝子操作技術等を応用した食品添加物の開発とその化学的安全性評価に関する研究 (食添)
Chemical assessment of food additives produced by biotechnology
 4. トキシコキネティクスを考慮した発生毒性評価法に関する研究 (薬理)
Studies on evaluation of development toxicity using toxicokinetic data
 5. 異種遺伝子導入法を用いた新しい変異原試験系の開発 (変異)
Development of a new mutagenicity test by transfection of foreign genes
 6. バイオテクノロジーによる薬物代謝酵素の構築と分子レベルでの相互作用予測のための理論構築に関する研究 (薬理)
Studies on biotechnological construction of drug metabolizing enzymes and prediction of drug interaction
 7. コンピュータによる分子モデリングとグラフィックス技法を用いた構造と薬効・毒性の相関解析法の開発 (情報)
Application of computer-based molecular modeling to structure activity relation
 8. 心筋機能障害の発生における糖鎖の役割の検討 (生薬)
Study on the functional role of saccharides in the manifestation of cardiac injury
 9. 糖鎖含有タンパク質および糖鎖関連医薬品における糖鎖の機能解析と特性・品質等評価試験法の開発に関する基礎的研究 (生物)
Studies on the characterization, standardization and control of glycoprotein products
 10. 遺伝子治療用ベクターの開発と評価技術の確立 (衛微)
Research of vector for gene-therapy (development and evaluation method)
 11. 製剤評価におけるヒトへの外挿性に優れた *In Vitro* 試験および動物試験のシステムの確立 (薬品)
Establishment of *in vitro* and animal testing systems for predicting the performance of dosage forms in humans
 12. 製剤マトリックスの製剤機能 (薬品)
Pharmaceutical functions of dosage forms
 13. バイオメディカルポリマーとしてのヒアルロン酸の特性評価と応用に関する研究 (支薬)
Properties of hyaluronate and its application as a biomedical polymer
 14. 脂質微小分散系によるドラッグキャリアーの設計とその評価方法に関する研究 (支薬)
Studies on the design of drug-carrier using lipid-microdispersed systems and the establishment of the evaluation system for them
 15. 材料/細胞・組織界面での生体適合性評価手法の開発に関する研究 (療品)
Studies on the development of evaluation method for the material/tissue interaction
 16. 大量培養を指向したスケールアップ時における律速因子の解明 (筑植)
Research on factors affecting mass production of useful plants and substances
 17. 生体応答に係る植物成分の解明 (生薬)
Studies on bioactive principles of medicinal plants and their interactions with living materials
 18. 立体異性体を含む生薬製剤の評価技術に関する研究 (生薬)
Studies on the evaluation of crude-drug preparations containing stereoisomers
 19. 食細胞の活性酸素産生系の調節因子の解明とその機能分化についての研究 (生物)
Study on the regulatory factor of active oxygen generation system in phagocytic cell and the maturation of phagocytic cells
 20. サイトカイン産生誘導因子エンドトキシンの検出手法のシステム化に関する基礎的研究 (支生)
Fundamental study on systematic methodology for detection of a cytokine-inducing agent, endotoxin
 21. 細菌由来毒性物質に対する安全性確保のための対策、および防御法の開発に関する基礎的研究 (衛微)
Studies on protection against bacterial toxins
 22. 薬物過敏症発現の分子機構の解明と安全性評価への応用 (機能)
Study on the mechanism of drug hypersensitivity and its application for risk assessment
 23. 脳高次機能障害改善を目的とした Ca 拮抗薬等の薬効評価法の開発 (薬理)
Studies on the development of new evaluating methods for drugs improving brain damages: Ca-antagonist as a candidate
 24. 神経系機能分子の同定技術および生理機能の解析技術の開発 (機能)
Study on the development of methods for detection and functional analysis of neuromodulatory molecules
 25. フォトニクス技術を利用した虚血性神経細胞死の機構の解明 (生物)
Studies on neuronal cell death by anemia using photoniques
 26. 脂質代謝を介する生体機能調節機構の解明と薬効解析・薬物開発への応用 (代謝)
Studies on mechanisms of biological functions regulated through lipid metabolism and its application to development of medicine
 27. ニューロサーキット同時多点解析法等を用いる神経栄養因子とモデュレータの機能評価評価法の開発 (薬理)
Development of evaluating method for the effects of neurotrophic factors on neurocircuit using a real-time multipointing quantitative monitoring of intracellular free calciumion

28. 紫外域日射の波長依存性による生物作用とその防御に関する研究 (環境)

Studies on biological influence caused by the solar ultra-violet ray and procedure protected against the solar ultra-violet ray

29. 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

ヒューマンサイエンス振興財団国際共同研究事業

1. 突然変異誘発を促進する遺伝子のトランスジェニックマウスへの導入 (変異)

Insroduction of mutator genes into transgenic mice

2. タンパク質製剤および放出制御型製剤のための有効な安定性試験法の開発 (薬品)

Design of stability testing for protein pharmaceuticals and controlled delivery systems

3. グリア・ニューロン・インターネットにおけるATPの生理機能 (薬理)

Physiological function of ATP on glia-neuron-interaction

ヒューマンサイエンス振興財団エイズ医薬品開発推進事業

1. エイズ医薬品候補物質のスクリーニング研究 (衛微)

Preliminary screening for antiviral AIDS drugs

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および臨床評価手法の確立に関する研究 (衛微)

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. 神経伝達物質および内在ペプチドによる心筋イオンチャンネル調節の分子機序の解明 (生薬)

Electrophysiological and molecular biological studies on mechanisms by which neurotransmitters and endogenous peptides regulate cardiac ion-channels

2. シナプス伝達におけるP2プリン受容体群の機能の解明 (薬理)

Function of P2-purinoreceptors on synaptic transmission

3. 可溶性受容体の生成機構とその応用に関する研究 (機能)

Study on the mechanism of the generation of soluble receptors

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. 分子の動的解析に基づくタンパク質製剤の安定化 (薬品)

Stabilization of protein pharmaceuticals based on molecular mobility

6. 研究資源としてのヒト正常上皮細胞(ケラチノサイト)の培養系の確立と分譲システムの確立に関する研

究 (変異)

Study on the establishment of culture and distribution system of normal human keratinocytes as research resources

7. 漢薬資源の優良系統クローン増殖への苗条原基法の応用と分子遺伝学的解析 (種子島)

Studies on resources on plants of Kampo-Medicines clonal propagation by induction of shoot primordia of selectives strain and molocular genetic analysis

8. 画像処理法による免疫細胞の細胞内物質動態の解析技術の開発 (機能)

Development of imaging analysis method for tracing functional components in living cells

9. 細胞内生化学現象の高速高分解能画像化技術の開発 (生物)

High resolution imaging of intracellular biochemical reactions

10. ヒト清浄細胞の不死化およびラットに由来する多分化能を保持する中枢神経系幹細胞の培養化 (支生)

Immortalization of normal human cells and the culture of multipotent rat central nervous system stem cells

| | |
|-------------------------|----|
| 部 名 略 称 | |
| 薬 品 部 | 薬品 |
| 生 物 薬 品 部 | 生物 |
| 生 薬 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7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7年度処理件数 | | | 対前年度増減数 | 対前年度増減率 |
|-------------|------------|------------|---------------|---------|---------|
| | 東 京 | 大 阪 | 合 計 | | |
| 国 家 検 定 | (0) 0 | (142) 102 | (142) 102 | △ 40 | 71.83 |
| 国 家 検 査 | (0) 0 | (19) 102 | (19) 102 | 83 | 536.84 |
| 製 品 検 査 | (0) 0 | (635) 580 | (635) 580 | △ 55 | 91.34 |
| 特 別 審 査 試 験 | (207) 68 | (0) 0 | (207) 68 | △ 139 | 32.85 |
| 特 別 行 政 試 験 | (98) 92 | (18) 16 | (116) 108 | △ 8 | 93.10 |
| 一 斉 取 締 試 験 | (157) 15 | (15) 29 | (172) 44 | △ 128 | 25.58 |
| 輸 入 食 品 検 査 | (0) 245 | (0) 4 | (0) 249 | 249 | — |
| 一 般 依 頼 検 査 | (0) 0 | (0) 0 | (0) 0 | — | — |
| 合 計 | (462) 420 | (829) 833 | (1,291) 1,253 | △ 38 | 97.06 |

() 内数字は平成6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7年度国家検定品目別月別判定別件数実績表… 307頁
- 平成7年度国家検査品目別月別判定別件数実績表… 308頁
- 平成7年度製品検査月別判定別件数実績表…………… 308頁

- 平成7年度輸入食品検査品目別月別判定別件数実績表…………… 308頁
- 平成7年度特別行政試験実績表…………… 310頁
- 平成7年度一斉取締試験判定別件数実績表…………… 310頁

平成7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 |
| 半合成ヒト二相性イソフェンインスリン水性懸濁注射液 | 大阪 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 |
| 半合成ヒトイソフェンインスリン水性懸濁注射液 | 大阪 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 |
| 生合成ヒト中性インスリン注射液 | 大阪 | 2 | — | 2 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 1 | — | 1 | 2 | — | 2 | 1 | — | 1 |
| 生合成ヒトインスリン亜鉛水性懸濁注射液 | 大阪 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 2 | — | 2 | 0 | — | 0 | 1 | — | 1 | 0 | — | 0 |
| ヒト結晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液 | 大阪 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 1 | — | 1 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 2 | — | 2 |
| 生合成ヒト二相性イソフェンインスリン水性懸濁注射液 | 大阪 | 1 | — | 1 | 3 | — | 3 | 2 | — | 2 | 5 | — | 5 | 1 | — | 1 | 3 | — | 3 |
| 生合成ヒトイソフェンインスリン水性懸濁注射液 | 大阪 | 1 | — | 1 | 1 | — | 1 | 2 | — | 2 | 2 | — | 2 | 2 | — | 2 | 1 | — | 1 |
| 生合成ヒト結晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液 | 大阪 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 1 | — | 1 |
| ヒト二相性イソフェンインスリン水性懸濁注射液 | 大阪 | 4 | — | 4 | 5 | — | 5 | 3 | — | 3 | 0 | — | 0 | 7 | — | 7 | 0 | — | 0 |
| 計 | | 8 | — | 8 | 9 | — | 9 | 10 | — | 10 | 8 | — | 8 | 13 | — | 13 | 8 | — | 8 |

平成7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 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 1 | — | 1 | 1 | — | 1 | 19 | — | 19 | 27 | — | 27 | |
| 内 訳 | 内容量 100 ml 未満 | 大阪 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 1 | — | 1 | 1 | — | 1 | 18 | — | 18 | 22 | — | 22 |
| | 内容量 100 ml 以上 | 大阪 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 1 | — | 1 | 5 | — | 5 |
| リンゲル液 | 大阪 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 1 | — | 1 | 0 | — | 0 | |
| 計 | | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 1 | — | 1 | 1 | — | 1 | 20 | — | 20 | 27 | — | 27 | |

平成7年度製品国家検査品目別

| 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 |
| 大 | 阪 | 64 | — | 64 | 34 | — | 34 | 62 | — | 62 | 41 | — | 41 | 56 | — | 56 | 23 | — | 23 |
| 計 | | 64 | — | 64 | 34 | — | 34 | 62 | — | 62 | 41 | — | 41 | 56 | — | 56 | 23 | — | 23 |

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 |
| 0 | — | 0 | 1 | — | 1 | 1 | — | 1 | 1 | — | 1 | 1 | — | 1 | 1 | — | 1 | 11 | — | 11 |
| 0 | — | 0 | 1 | — | 1 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 4 | — | 4 |
| 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 1 | — | 1 | 1 | — | 1 | 0 | — | 0 | 5 | — | 5 |
| 6 | — | 6 | 3 | — | 3 | 4 | — | 4 | 3 | — | 3 | 2 | — | 2 | 8 | — | 8 | 41 | — | 41 |
| 3 | — | 3 | 0 | — | 0 | 3 | — | 3 | 0 | — | 0 | 3 | — | 3 | 1 | — | 1 | 19 | — | 19 |
| 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 1 | — | 1 | 0 | — | 0 | 1 | — | 1 | 3 | — | 3 |
| 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 19 | — | 19 |
| 9 | — | 9 | 5 | — | 5 | 8 | — | 8 | 6 | — | 6 | 7 | — | 7 | 11 | — | 11 | 102 | — | 102 |

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 |
| 27 | — | 27 | 2 | — | 2 | 6 | — | 6 | 4 | — | 4 | 0 | — | 0 | 14 | — | 14 | 101 | — | 101 |
| 24 | — | 24 | 1 | — | 1 | 3 | — | 3 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 3 | — | 3 | 73 | — | 73 |
| 3 | — | 3 | 1 | — | 1 | 3 | — | 3 | 4 | — | 4 | 0 | — | 0 | 11 | — | 11 | 28 | — | 28 |
| 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | — | 0 | 1 | — | 1 |
| 27 | — | 27 | 2 | — | 2 | 6 | — | 6 | 4 | — | 4 | 0 | — | 0 | 14 | — | 14 | 102 | — | 102 |

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 |
| 44 | — | 44 | 63 | — | 63 | 55 | — | 55 | 60 | — | 60 | 18 | — | 18 | 60 | — | 60 | 580 | — | 580 |
| 44 | — | 44 | 63 | — | 63 | 55 | — | 55 | 60 | — | 60 | 18 | — | 18 | 60 | — | 60 | 580 | — | 580 |

平成7年度輸入食品検査品目別月別判定別件数実績表

| 区 分 | 10 月 | | 11 月 | | 12 月 | | 3 月 | | 合 計 | | 試験件数 | |
|--------|------|---|------|-----|------|----|-----|----|-----|-----|------|-----|
| | 無判定 | 計 | 無判定 | 計 | 無判定 | 計 | 無判定 | 計 | 無判定 | 計 | | |
| その他の飲料 | 東 京 | — | — | 154 | 154 | 81 | 81 | 10 | 10 | 245 | 245 | 245 |
| かんびん詰 | 大 阪 | 4 | 4 | — | — | — | — | — | — | 4 | 4 | 4 |
| 合 計 | | 4 | 4 | 154 | 154 | 81 | 81 | 10 | 10 | 249 | 249 | 249 |

平成7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 |
| | 〃 | 8 | 支所薬品試験部 |
| | 輸入生あへんのモルヒネ含有率試験について | 92 | 薬 品 部 |
| 麻 薬 課 | | | |
| 合 計 | | 108 | 東 京 92件 大 阪 16件 |

平成7年度一斉取締試験判定別件数実績表

| 区 分 | 合 格 | 不 合 格 | 無 判 定 | 計 |
|-----|-----|-------|-------|----|
| 東 京 | 15 | 0 | 0 | 15 |
| 大 阪 | 29 | 0 | 0 | 29 |
| 合 計 | 44 | 0 | 0 | 44 |

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8年4月1日現在)

| 番号 | 標準品名 | 包装単位 | 価格 | 使用目的 |
|----|--------------|---------------|-------------|--|
| 1 | アセトアミノフェン | 300 mg 入り 1本 | 14,900 円 | ・アセトアミノフェン、その製剤の確認試験および定量法 |
| 2 | 安息香酸エストラジオール | 50 mg 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 |
| 3 | インスリン | 20 mg 入り 1本 | 22,900 | ・インスリン、インスリン注射液、インスリン亜鉛水性懸濁注射液、結晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液、無晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液、プロタミンインスリン亜鉛水性懸濁注射液、イソフェンインスリン水性懸濁注射液、中性インスリン注射液の定量法。イソフェンインスリン水性懸濁注射液の純度試験 |
| 4 | ウロキナーゼ | 1,000 単位入り 1本 | 15,700 | ・ウロキナーゼおよびその製剤の定量法 |
| 5 | エストリオール | 100 mg 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 | 300 mg 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 | 100 mg 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 | 100 mg 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 | 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、オウバク末中の塩化ベルベリンの成分含量 |
| 10 | エンドトキシン | 2 µg 入り 1本 | 18,500 | ・注射用水のエンドトキシン試験 |
| 11 | 含糖ペプシン | 5 g 入り 1本 | 19,500 | ・含糖ペプシンの定量法 |
| 12 | d-カンフル | 300 mg 入り 1本 | 15,300 | ・d-カンフルの定量法 |
| 13 | dl-カンフル | 300 mg 入り 1本 | 14,200 | ・dl-カンフルの定量法 |
| 14 | 吉草酸ベタメタゾン | 100 mg 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 |
| 15 | ジゴキシン | 20 mg 入り 1本 | 14,600 | ・ジゴキシン、同錠、同注射液の純度試験 |
| 16 | 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びカンゾウエキス、カンゾウ粗エキス中のグリチルリチン酸の成分含量 |
| 17 | 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 |
| 18 | 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験および定量法 |
| 19 | コハク酸トコフェロール | 150 mg 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 |
| 20 | コハク酸ヒドロコルチゾン | 100 mg 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 |
| 21 | コレカルシフェロール | 100 mg 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 |
| 22 | 酢酸クロルマジノン | 100 mg 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 |
| 23 | 酢酸コルチゾン | 100 mg 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 |
| 24 | 酢酸トコフェロール | 150 mg 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 |
| 25 | 酢酸ヒドロコルチゾン | 100 mg 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 |
| 26 | 酢酸プレドニゾン | 100 mg 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 |
| 27 | 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。酢酸ヒドロキソコバラミンの純度試験および定量法 |
| 28 | ジギタリス | 1 g 入り 3本 | 13,900 | ・ジギタリス、同末の定量法 |
| 29 | 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 |
| 30 | 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 |
| 31 | 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 |
| 32 | 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 |

日本薬局方標準品

| 番号 | 標準品名 | 包装単位 | 価格 | 使用目的 |
|----|-----------------------|------------------------|--------|---|
| 33 | 酒石酸水素エピネフリン | 50 mg 入り 本 | 12,900 | 円 ・エピネフリン, ノルエピネフリン, 同注射液の純度試験 |
| 34 | 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 |
| 35 | 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 |
| 36 | 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 |
| 37 | 胎盤性性腺刺激ホルモン | 1,000 単位入り 1本 | 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 |
| 38 | 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 |
| 39 | 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 |
| 40 | 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 |
| 41 | トリアムシノロン | 100 mg 入り 1本 | 14,900 | ・トリアムシノロンの確認試験および定量法 |
| 42 | トリアムシノロンアセトニド | 100 mg 入り 1本 | 14,800 | ・トリアムシノロンアセトニドの確認試験および定量法 |
| 43 | 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 |
| 44 | トロンビン | 500 単位入り 2本 | 33,600 | ・トロンビンの定量法 |
| 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 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 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確認試験および定量法, プレドニゾロンの純度試験 |
| 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 |
| 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 | 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量法 |
| 55 | プレドニゾン | 100 mg 入り 1本 | 14,500 | ・プレドニゾンの確認試験および定量法, 同錠の確認試験, 溶出試験および含量均一性試験 |
| 56 | 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 |
| 57 | 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 |
| 58 | ヘパリンナトリウム | 1,200 単位 1本 | 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 |
| 59 | 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 |
| 60 | 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 |
| 61 | 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 |
| 62 | メトキサレン | 200 mg 入り 1本 | 13,700 | ・メトキサレンの定量法 |
| 63 | 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 |
| 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, リン酸リボフラビンナトリウム, 同注射液の定量法 |

日本薬局方標準品

| 番号 | 標準品名 | 包装単位 | 価格 | 使用目的 |
|----|------------------|--------------|--------|---|
| 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8年4月1日現在)

| 番号 | 標準品名 | 包装単位 | 価格 | 使用目的 |
|----|--|---------------|--------|---|
| 1 | アルプロスタジル | 10 mg 入り 1本 | 56,400 | 円 ・アルプロスタジル, アルプロスタジル・アルファデクスとそれらの製剤の定量法 |
| 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剤の定量法 |
| 3 | ウリナスタチン | 3,600 単位入り 1本 | 29,300 | ・ウリナスタチンおよびその製剤の定量法 |
| 4 | 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度試験 |
| 5 | 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および定量法 |
| 6 | エルカトニン | 10 単位入り 2本 | 37,300 | ・エルカトニンおよびその製剤の定量法 |
| 7 | 塩酸チアミシ液 | 1 mg 入り 10本 | 8,500 | ・チアミンおよびその製剤の定量法 |
| 8 | 下垂体性性腺刺激ホルモン | 20 mg 入り 1本 | 39,000 | ・下垂体性性腺刺激ホルモンのバイオアッセイ |
| 9 | 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物活性試験および定量法 |
| 10 | 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剤の定量法 |
| 11 | 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定量法 |
| 12 | センノシド | 150 mg 入り 1本 | 22,000 | ・センノシドの定量 |
| 13 | 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認試験および定量法 |
| 14 | テオプロミン | 100 mg 入り 1本 | 10,600 | ・ベントキシフィリンの純度試験 |
| 15 | 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 |
| 16 | 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法 |
| 17 | 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認試験および定量法 |
| 18 | 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の定量法 |
| 19 | 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の製剤の定量法 |
| 20 | 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量法 |
| 21 | 融点測定用 〔アセトアニリド, アセトフェネチジン, カフェイン, スルファニルアミド, ルファピリジン, ワニリン〕 | 各1g 入り 6本 | 46,800 | ・融点測定用温度計, 同装置の補正 |
| 22 | 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 |
| 23 | リゾチーム | 500 mg 入り 1本 | 25,000 | ・リゾチーム製品の定量法 |
| 24 | 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 |
| 25 | リン酸ヒスタミン | 50 mg 入り 1本 | 12,300 | ・ヒスタミン試験 |
| 26 | リン酸プレドニゾロンナトリウム | 100 mg 入り 1本 | 13,600 | ・リン酸プレドニゾロンナトリウムおよびその製剤の定量法 |

国立衛生試験所標準品（色素試験用標準品）

（平成8年4月1日現在）

| 番号 | 標準品名 | 包装単位 | 価格 | 使用目的 |
|----|----------------------|---------|-------|--|
| 1 | アシッドバイオレット 6B | 1g入り 1本 | 2,900 | ・医薬品、化粧品および製剤中のアシッドバイオレット 6B の確認試験 |
| 2 | アシッドレッド | 1g入り 1本 | 3,100 | ・食品、医薬品、化粧品および製剤中のアシッドレッドの確認試験 |
| 3 | アゾルビンエキストラ | 1g入り 1本 | 2,750 | ・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rom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romフルオレセインの確認試験 |
| 20 | テトラブromフルオレセイン | 1g入り 1本 | 2,900 | ・外用医薬品、化粧品および製剤中のテトラブromフルオレセインの確認試験 |
| 21 | トルイジンレッド | 1g入り 1本 | 2,500 | ・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 | パーマメントオレンジ | 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メントオレンジの確認試験 |
| 25 | ハンサエロー | 1g入り 1本 | 2,550 | ・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 |
| 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 |

国立衛生試験所標準品 (色素試験用標準品)

| 番号 | 標準品名 | 包装単位 | 価格 | 使用目的 |
|----|-------------|---------|------------|-------------------------------------|
| 31 | ボンソー R | 1g入り 1本 | 2,750 円 | ・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 | リソールルビン BCA | 1g入り 1本 | 2,850 | ・外用医薬品, 化粧品および製剤中のリソールルビン 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7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 在庫数 | 製造数量 | 売払数量 | 自家消費等 数量 | 年度末 在庫数 | 備考 |
|------------------|-------------|-------|-------|-------------|------------|----|
| | 個 | 個 | 個 | 個 | 個 | |
| アスコルビン酸 | 26 | 200 | 213 | 13 | 0 | |
| アセトアミノフェン | 36 | 50 | 86 | 0 | 0 | |
| アルプロスタジル | 50 | 0 | 1 | 0 | 49 | |
| 安息香酸エストラジオール | 25 | 0 | 11 | 0 | 14 | |
| インスリン | 11 | 50 | 18 | 3 | 40 | |
| インドシアニングリーン | 20 | 0 | 6 | 0 | 14 | |
| ウリナスタチン | 0 | 50 | 50 | 0 | 0 | |
| ウロキナーゼ | 86 | 100 | 88 | 1 | 97 | |
| エストラジオール | 32 | 50 | 57 | 0 | 25 | |
| エストリオール | 44 | 0 | 0 | 0 | 44 | |
| エストロン | 30 | 0 | 0 | 0 | 30 | |
| エテンザミド | 18 | 50 | 59 | 0 | 9 | |
| エピチオスタノール | 35 | 0 | 7 | 0 | 28 | |
| エルカトニン | 46 | 0 | 6 | 0 | 40 | |
| エルゴカルシフェロール | 11 | 88 | 99 | 0 | 0 | |
| 塩化ベルベリン | 51 | 0 | 7 | 1 | 43 | |
| 塩酸チアミン液 | 19 | 0 | 10 | 0 | 9 | |
| エンドトキシン | 183 | 1,500 | 1,489 | 0 | 194 | |
| 下垂体性性腺刺激ホルモン | — | 0 | 0 | 0 | 0 | * |
| カリジノゲナーゼ | 26 | 100 | 89 | 0 | 37 | |
| 含糖ペプシン | 106 | 0 | 15 | 0 | 91 | |
| d-カンフル | 134 | 0 | 35 | 0 | 99 | |
| dl-カンフル | 38 | 100 | 129 | 0 | 9 | |
| 吉草酸ジフルコルトロン | 39 | 0 | 2 | 0 | 37 | |
| 吉草酸ベタメタゾン | 59 | 0 | 30 | 1 | 28 | |
| ギトキシシン | 5 | 42 | 9 | 0 | 38 | |
| グリチルリチン酸 | 50 | 0 | 10 | 1 | 39 | |
| 血清性性腺刺激ホルモン | 49 | 0 | 20 | 0 | 29 | |
| 高分子量ウロキナーゼ | 35 | 0 | 18 | 1 | 16 | |
| コハク酸トコフェロール | 22 | 100 | 86 | 0 | 36 | |
| コハク酸ヒドロコルチゾン | 37 | 0 | 5 | 0 | 32 | |
| コレカルシフェロール | 0 | 200 | 184 | 1 | 15 | |
| 酢酸クロルマジノン | 27 | 0 | 25 | 0 | 2 | |
| 酢酸コルチゾン | 49 | 0 | 9 | 0 | 40 | |
| 酢酸デキサメタゾン | 32 | 0 | 3 | 0 | 29 | |
| 酢酸トコフェロール | 75 | 600 | 635 | 1 | 39 | |
| 酢酸ヒドロコルチゾン | 23 | 50 | 29 | 0 | 44 | |
| 酢酸プレドニゾロン | 34 | 50 | 40 | 0 | 44 | |
| シアノコバアミン | 30 | 338 | 334 | 0 | 34 | |
| ジギタリス | 15 | 0 | 0 | 0 | 15 | |
| ジギトキシシン | 22 | 50 | 52 | 0 | 20 | |
| シクランデラート | 32 | 0 | 6 | 0 | 26 | |
| ジクロルフェナミド | 9 | 0 | 0 | 0 | 9 | |
| ジゴキシシン | 13 | 0 | 10 | 0 | 3 | |
| 酒石酸水素エピネフリン | 21 | 0 | 14 | 7 | 0 | |
| 酒石酸水素ノルエピネフリン | 39 | 0 | 6 | 0 | 33 | |
| ショ糖オクタ硫酸エステルカリウム | 44 | 0 | 25 | 0 | 19 | |
| G-ストロファンチン | 26 | 0 | 0 | 0 | 26 | |
| センノシド | — | 0 | 0 | 0 | 0 | * |

| 標準品名 | 前年度末 在庫数量 | 製造数量 | 売払数量 | 自家消費等 数量 | 年度末 在庫数量 | 備考 |
|-----------------------|--------------|------|------|-------------|-------------|----|
| | 個 | 個 | 個 | 個 | 個 | |
| 胎盤性腺刺激ホルモン | 16 | 100 | 86 | 2 | 28 | |
| チロジン | 83 | 50 | 113 | 20 | 0 | |
| 低分子量ヘパリン | 31 | 0 | 6 | 0 | 25 | |
| テオプロミン | 20 | 0 | 0 | 0 | 20 | |
| デキサメタゾン | 94 | 0 | 49 | 0 | 45 | |
| デスラノシド | 22 | 20 | 18 | 0 | 24 | |
| トコフェロール | 3 | 300 | 255 | 2 | 46 | |
| トリアムシノロン | 23 | 0 | 2 | 0 | 21 | |
| トリアムシノロンアセトニド | 10 | 0 | 10 | 0 | 0 | |
| トルナフタート | 60 | 0 | 26 | 1 | 33 | |
| トロンピン | 26 | 213 | 70 | 11 | 158 | |
| ニコチン酸 | 45 | 0 | 19 | 26 | 0 | |
| ニコチン酸アミド | 43 | 100 | 143 | 0 | 0 | |
| 脳下垂体後葉 | 24 | 0 | 17 | 0 | 7 | |
| 薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール | 48 | 0 | 12 | 0 | 36 | |
| 薄層クロマトグラフ用パルミチン酸レチノール | 9 | 60 | 33 | 0 | 36 | |
| パラアミノベンゾイルグルタミン酸 | 38 | 0 | 19 | 0 | 19 | |
| ヒアルロニダーゼ | 33 | 0 | 9 | 0 | 24 | |
| ヒトインスリン | 49 | 0 | 15 | 2 | 32 | |
| ヒト成長ホルモン | 0 | 47 | 0 | 5 | 42 | |
| ヒドロクロロチアジド | 35 | 0 | 3 | 0 | 32 | |
| ヒドロコルチゾン | 31 | 0 | 26 | 0 | 5 | |
| プリミドン | 30 | 0 | 0 | 0 | 30 | |
| フルオシノニド | 75 | 0 | 6 | 0 | 69 | |
| フルオシノロンアセトニド | 47 | 0 | 20 | 0 | 27 | |
| フルオロメトロン | 46 | 0 | 3 | 0 | 43 | |
| フルドロキシコルチド | 49 | 0 | 0 | 0 | 49 | |
| ブレドニゾロン | 1 | 100 | 79 | 2 | 20 | |
| プロピオン酸テストステロン | 5 | 50 | 4 | 0 | 51 | |
| プロピオン酸ベクロメタゾン | 38 | 0 | 21 | 0 | 17 | |
| ベタメタゾン | 70 | 0 | 27 | 0 | 43 | |
| ヘパリンナトリウム | 123 | 0 | 105 | 0 | 18 | |
| マレイン酸エルゴメトリン | 0 | 10 | 9 | 0 | 1 | |
| マレイン酸メチルエルゴメトリン | 24 | 0 | 2 | 0 | 22 | |
| メストラノール | 41 | 0 | 1 | 0 | 40 | |
| メチルジゴキシン | 40 | 0 | 3 | 0 | 37 | |
| メトキサレン | 20 | 0 | 0 | 0 | 20 | |
| メトトレキサート | 23 | 0 | 1 | 0 | 22 | |
| 融点測定用 | 28 | 38 | 54 | 0 | 12 | |
| {アセトアニリド, アセトフェ} | | | | | | |
| {ネチジン, カフェイン, スル} | | | | | | |
| {ファニルアミド, スルファピ} | | | | | | |
| {リジン, ワニリン} | | | | | | |
| 葉酸 | 46 | 50 | 95 | 1 | 0 | |
| 酪酸ヒドロコルチゾン | 21 | 0 | 6 | 3 | 12 | |
| ラナトシドC | 47 | 0 | 7 | 0 | 40 | |
| リゾチーム | 156 | 151 | 226 | 0 | 81 | |
| リボフラビン | 25 | 427 | 359 | 0 | 93 | |
| 硫酸プロタミン | 26 | 0 | 2 | 0 | 24 | |
| リン酸デキサメタゾンナトリウム | 48 | 0 | 14 | 0 | 34 | |
| リン酸ヒスタミン | 31 | 0 | 31 | 0 | 0 | |

| 標準品名 | 前年度末 在庫数量 | 製造数量 | 売払数量 | 自家消費等 数量 | 年度末 在庫数量 | 備考 |
|------------------|--------------|---------|--------|-------------|-------------|----|
| リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム | 2 個 | 44 個 | 2 個 | 0 個 | 44 個 | |
| リン酸プレドニゾンナトリウム | 50 | 0 | 2 | 0 | 48 | |
| リン酸ベタメタゾンナトリウム | 39 | 0 | 25 | 0 | 14 | |
| レセルピン | 9 | 0 | 9 | 0 | 0 | |
| 計 | 3,717 | 5,528 | 6,071 | 105 | 3,069 | |

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 在庫数量 | 製造数量 | 売払数量 | 自家消費等 数量 | 年度末 在庫数量 | 備考 |
|--------------------------|--------------|------|------|-------------|-------------|----|
| アシッドバイオレット 6B | 66 | 0 | 0 | 0 | 66 | |
| アシッドレッド | 494 | 0 | 11 | 0 | 483 | |
| アゾルビンエキストラ | 70 | 0 | 0 | 0 | 70 | |
| アマランス | 437 | 0 | 10 | 0 | 427 | |
| アルラレッド AC | 336 | 0 | 11 | 0 | 325 | |
| インジゴ | 126 | 0 | 0 | 0 | 126 | |
| インジゴカルミン | 537 | 0 | 12 | 0 | 525 | |
| エオシン | 111 | 0 | 2 | 0 | 109 | |
| エリスロシン | 478 | 0 | 11 | 0 | 467 | |
| オイルエロー AB | 214 | 0 | 0 | 0 | 214 | |
| オイルエロー OB | 222 | 0 | 0 | 0 | 222 | |
| オイルオレンジ SS | 222 | 0 | 0 | 0 | 222 | |
| オイルレッド XO | 198 | 0 | 0 | 0 | 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 | 2 | 0 | 60 | |
| サンセットエロー FCF | 492 | 0 | 12 | 0 | 480 | |
| タートラジン | 460 | 0 | 12 | 0 | 448 | |
| テトラクロルテトラブROMフルオ 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 | 488 | 0 | 11 | 0 | 477 | |
| 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 | 450 | 0 | 10 | 0 | 440 | |
| フルオレセイン | 183 | 0 | 0 | 0 | 183 | |
| フロキシシン | 314 | 0 | 10 | 0 | 304 | |
| 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 | 1 | 357 | |
| 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 | 450 | 10 | 1 | 439 | |
| 計 | 8,681 | 450 | 124 | 2 | 9,005 | |

衛生試験所報告第114号キーワード索引 (アルファベット順)

A

abrogate 212
 accelerated-senescence models 246
 accelerative effect 217
 acetylcholine receptor channels 237
 acetylmorphine 213
 acid-insoluble matter 226
 acute inhalation study 247
 adenosine 5'-triphosphate 237
 ADI 251
 β -adrenergic blocker 256
 adriamycin 261
 adventitious root cultures 255
 aging 244, 246
 AgNOR 243
 agricultural rubber boot 220
Agrobacterium rhizogenes 263
 AIDS 48, 50
 aldehyde 221
 alkaloid 253
 allergic contact dermatitis 220, 221
 allergy 259
 alternative methods 237, 238
 alternative test 238, 239
 alveolar damage 243
 alveolar macrophages 252
 amidoxime 228
 amine-type antioxidant 220
 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1, 2, 4-triazole (AHMT)
 method 227
 δ -aminolevulinic synthase 215
 amphetamine analog 214
 amphiphilic excipients 212
 animal cell lines 247
 animal food 260
 ANOVA 143
Anthemis nobilis L. 255
 anthocyanin(s) 226, 256
 anti-biohazard laboratory 261
 anti-HIV drugs 48, 50
 anti-mold counterplan 231, 260
 antibody 259
 antifungal susceptibility test 231
 antimicrobial test 231
 antineoplastic 218
 antioxidant(s) 229, 233
 antipsychotic drugs 236, 261
 ApopTag 244
 apoptosis 243
Areca catechu 217
 arecoline 217
 arsenic 42
 assay 145
 astragaloside 252
Astragalus mongholicus 252, 253
 asymmetric Diels-Alder reaction 228
 ATP 236, 240, 261
 ATP-depletion 215
 authorization 113, 116, 119, 122, 125

autoclave sterilization 222, 258
 automatic analyzer 99
 automation 259
 autopsy facility 261
 AZT 50

B

B. stearothermophilus 258
Bacillus cereus 230, 259
Bacillus thuringiensis 230
 bacterial endotoxin test 263
 baicalin 217
 BALB/3T3 cells 230
 basophilic leukemia cell 233
 B6C3F1 mouse 232
 Beancurd 230
 behavioral effect 214
 behavioral sensitization 214
 behavioral stimulant effect 214
 benfuracarb 250
 benzalkonium chloride 231
 benzene hydroxylation 228
 benzphetamine 213
 berberine alkaloids 253
 betamethasone 116
 BHA 243
 BIER 257
 bioavailability 141, 256
 biodegradation 219
 bioequivalence 141, 256
 biohazard 261
 biological assay 138
 biological indicator 221, 222, 257, 258
 biotechnological recombinant mouse(mice) 1, 235, 261
 biotechnology drug 257
 biotransformation 224, 254
 blood urea 222
 blue-stain fungus 218
 British Pharmacopoeia 147
 bromobutide 250
 bronchi 239
 brown rice 250
 Bryostatin 10 218
 butyltins 252

C

Ca²⁺ ATPase inhibitor 233
 Ca²⁺-pump 240
 cadmium 225, 226, 236
 caffeic acid esters 256
 caffeine 243
 calcium 215, 216, 257
 calcium signal 229
 calcium wave 215
 callus 254
 calvasterol A 218
 calvasterol B 218
Calvatia cyathiformis 218
Cannabis sativa 255
 capillary electrophoresis 224

- capsanthin 226
carbofuran 250
carbon monoxide 225
carbosulfan 250
carcinogenesis 241
carrageenan 226
CD63 antigen 229
cell line identification 262
cell maturation 235
cell proliferation 232
cell transformation 230
ceramic tableware 225
CFU-S 235
Chemical safety 89
chemical constituents 217
chemical derivatization 227
chemical safety 76
chemical structure 230
chemicophysical properties 221
chicken plasma 228
chiral sulfinylacrylate 228
chitosan 262
chlornitrofen-amino 224
chlornitrofen (CNP) 224
chloroform 225
chlorpromazine 237
chondrogenesis 221
chromatography 222, 223
chromogenic substrate 216, 248
chromosomal characterization 262
chronic toxicity 233
cigarette smoke 243
clean analysis 225
clinical use 217
cloning 239
closantel 258
CO sensor 225
coal-tar dye 102
COE 53
cofilin 229
cold-preservation 254
colonic release 211
colony forming units 231
color fixation 225
colorant 226
colorimetric assay 248
combination effect 246
comparative genomic hybridization 262
comparative mapping 247
component determination 145
computing systems 53
Concise International Chemical Assessment Document 89
confocal microscopy 215, 257
conformational analysis 218
conjugal transfer 245
connexin 32 21
constant neutral-loss 220
contamination 262
content uniformity test 211, 256
controlled release 212
controlled release dosage forms 211
copper 226
coptis rhizome 253
corn processed products 224
Corne Pack 239
Costus speciosus 255
critical limit 260
cross-reaction 219
crude drug 145, 253
cryopreservation 256
cryoprotectant 212
CSGMT/JEMS·MMS 246
C.testosteroni 230
cultivation 216, 253, 254, 263
cultured cells 237, 239
cyanocobalamin 122
N-cyanomethylmethamphetamine 214
cyclic octapeptide 218
cytochrome P450 224, 228
cytokine receptor 234
cytokines 252
cytotoxicity test 218
cytotoxicity 228
- D**
- D value 221, 222
daily intake 251
data evaluation 246
database 62, 71
defense-related protein 219
degranulation 229
deletion mutant 218
DEN 244
dental plate 222
dephosphorylation 229
detection limit 223
detection methods 258
developmental toxicity 16, 251, 252
dexamethasone 252
dialysis 222
dibutyltin dichloride 252
dichlorobenzene 232
dielectric relaxation time 211
diferric transferrin 215
differential scanning calorimetry 248
diffuse alveolar damage 242
digitoxin 113
dimepiperate 250
discriminative determination 225
disposition in hair 213, 214
dissolution test 141, 256
distribution system 262
dithiocarbamate-type accelerators 221
dl-camphor 125
DNA base products 227
DNA extraction 255
DNA fingerprinting 245
DNA sequence 244
dopamine 236
dopamine release 235
dose level 245
Draize eye irritation test 237
draize score 261
drug abuse 213, 257
drug interaction 261
drug-metabolizing enzymes 224

drug monitoring 257
drug quality control 147
dye 136

E

*Eco*31I restriction endonuclease 13
*Eco*O44I restriction endonuclease 13
effect of detection wavelength on precision 224
EHC 95
electrophysiology 237
ELISA 228, 255
embryotoxicity 252
emesis 230
emulsion 249
endogenous nitrosation 240
endogenous NO formation 240
endothelin receptor 218
endotoxin 230
endotoxin antagonist 230
energy metabolism 236
enteropathogenic *Escherichia coli* serotype O44 13
enzyme activities in serum 99
Ephedra herb 217
Ephedra spp. 253
ephedrine 217
EPO 234
C-epsilon 1 gene 247
erythrocyte 216
essential oil 255
esterification 226
esterified capsanthin 226
ethanol 249
ethylene oxide sterilization 222, 258
europium chloride 232
eutectic crystallization 212
EYTEX 239

F

F344 rat 27
F344/DuCrj rat 33
fast green FCF 136
fat emulsion 249, 262, 263
Febantel 21
Fenbendazole 21
fenarimol 250
ferritin 216
fertilized condition 216, 254
fish 42
fish meat 225
flannel nightwear 220
flavone 254
flavone C-glycoside 216
flavonoid 254
flavonoid glycoside content 254
flubendazole 258
fluorescein diacetate 231
fluorescence *in situ* hybridization 246, 247
fluorometry 223
fluorophotometry 106
Foeniculum vulgare 254
follicle stimulating hormone 138
Food Red No. 105 226
Food Sanitation Survey Committee 260

food 262
food additive(s) 27, 225, 251, 259, 260
food blue No. 1 aluminium lake 251
food coal-tar dyes 251
food color 102
food irradiation 258
food manufacturing facilities 231
food-poisoning bacteria 13, 259
food safety 258
food sanitation law 259
formaldehyde 227
formaldehyde vapor 247
Fragaria x ananassa 254
fragmentation 219
freeze-dry(ing) 212, 249, 256
freezing-thawing-treatment 253
freezing treatment 253
fresh vegetable 259
frictional force 211
fullerene 221, 230
fumonisin 224
fumonisin B₁ 224
fungi 231

G

D-galactosamine 244
gamma-ray irradiation sterilization 222, 258
gamma-irradiation 227
gardenia blue 27
gas chromatography 250
gastric cancer 243
gene disruption 234
generic drug 141
genetic instability 245
genomic DNA 255
genotyping of pestivirus genome 247
giant cell 48
 β -glucosidase 255
Glycyrrhiza sp. 255
Glycyrrhizoma Radix (甘草) 253
Glyteer 231
goitrogen 33
GPI-anchored protein 229
grain 224
granuloma tissue 217
grapefruit seed extract 38
green tea 233
growth hormone-binding protein 228
growth hormone receptor 228
GST-P 244
guanisine isothiocyanate 255
guideline 141, 260, 261

H

HACCP 259, 260
hair analysis 213, 214, 257
hairy root cultures 254, 255, 256
hairy root cultures polyacetylene 256
hairy roots 254, 256, 263
half-embryo test 227
haloperidol 237
hamster 243, 244
hard-seed 253

health-care products 257
Heliotropium peruvianum 256
 hematological changes 232
 hemoglobin 216
 hemoglobin denaturation 238
 hemolysis methods 238
 hemopoiesis 234
 hemopoietic stem cell 235
 hepatocyte 215
 hepatocyte growth factor 215
 herbal medicinals 257
 HET-CAM 238
 high-performance liquid chromatograph(y) 217
 high-test hypochlorite 225
 hippocampus 237
 histamine secretion 233
 histopathology 241
 HIV 48
 HIV-1 50
 horseradish peroxidase 228
 household chemical product 221
Houttuynia cordata 254
 HPLC 38, 106, 226, 226, 248, 250, 256
 Huanarpo 216
 hub 76
 human GM-CSF receptor 234
 human growth hormone 216
 human insulin 248
 human menopausal gonadotrophin 138
 human standard serum 99
 human tissue 239
 4-Hydroxyaminoquinoline 1-oxide 243
 8-hydroxydeoxyguanosine 233
 hydroxylradical 250
 5-hydroxytryptamine 237

I

ICH 256, 260, 262
 ICH-3 257
 IgE receptors 229, 259
 IL-3 234
 IL-6 LIF 234
 imaging 257
 immunoassay 259
 immunohistochemistry 241
 implantation 219
 imported food(s) 258, 259
 impurity analysis 248
in vitro model 247
in vivo genotoxicity assay 245
 indigo carmine 250
 individual difference 261
 indoor air pollution 258
 indoor environment 221
 information system 76
 ingredients of pharmaceutical products or cosmetics 237
 inhalation 232
 innervation 239
 inspection 258
 integration domain 224
 interaction 71
 interdigitation 248, 249
 intermittent treatment 242

internal standard 222
 international harmonization 263
 Internet 53, 62, 76
 interstitial pneumonia 242
 iodine deficiency 226
 ion chromatography 251
 ion pair chromatography 224
 IPCS 89, 95
 iron 216
 iron release 216
 irradiated apples 227
 irradiated cherries 227
 irradiated foods 225
 γ -irradiation 211, 212
 ischemia 236
 ISO 257
 ISO/TC198 221, 222
 ISO/TC210 257
 isoflavonoid 252
 isolated micronuclei 246
 ivermectin 258

J

Japanese Guideline 218
 Japanese Pharmacopoeia → JP
 Japanese Standards for Food Additives 225
Jatropha ciliata 216
 JMPR 261
 JP 145, 147, 211, 212, 216, 256, 262, 263
 JP reference standard 113, 116, 119, 122, 125
 JP13 263
 JPXII suppl. 2 259
 JPXIII 257

K

K⁺ channels 237
 K factor 99
 K562 cells 215
 KCl 243
 kidney 233
 knock-out mouse(mice) 1, 261

L

L-type calcium channel 235
 L5178Y 247
 labelling 232
lacI mutation 244
lacZ mutation 244
 LAN 53
 lateral root 253
 latex allergy 219
 LC/MS 38
 lead 225
Lecytophora hoffmannii 218
 lecytophorin 218
 lenacil 250
Lilium martagon 253
 limited SMCP 222
 Limulus activity 252
 Limulus assay 263
 lipophilicity 213
 lipopolysaccharide 232
 liposome 248, 249, 262

- liquid egg 259
liquid-liquid extraction 222
liquid nitrogen 253
Lithospermum erythrorhizon 216, 253
liver microsomes 223
living environment 260
Lobelia cardinalis 255
Lobelia chinensis 256
Lobelia chinensis Lour. 254
Lobelia inflata 256
Lobelia sessilifolia 254
LPS 230
LSD 214
LSIMS 219, 220
LSKP 222
LTP 235, 236
LUMO 228
lung fibrosis 243
lung tumorigenesis 33
luteinizing hormone 138
Lycium A 218
Lysozyme Reference Standard 128
lysozyme 128, 219
- M**
- macrolide 218
macromolecular excipient 211
Macrotomia euchroma 217
magnesium chloride hexahydrate 16
male fertility 241
malformation 16
mast cell 259
MATREX 238
matrixing 143
maximum residue levels 262
medical devices 222, 252, 257
medical plants 263
medium-term bioassay 244
megakaryoblastic cell line 234
megakaryocytes 240
melamine 240
melanin affinity 213
membrane current 237
membrane permeability 248
mercaptobenzothiazole-type accelerator 220
mercury 42
metabolic cooperation 221
metabolism (rat) 229
metallothionein 226
methamphetamine 214
methyl-*p*-hydroxybenzoate 38
2, 2'-methylenebis(4-ethyl-6-*tert*-butylphenol) 233
methylenedianiline 258
methylenedioxyamphetamine 214
methylparaben 223
MIC 231
Microbial Limit Tests 259
microflora 259
micronucleus 246, 247
micronucleus assay 246
micronucleus test 245
microplate method 48, 50
microspheres 211, 212
- minisatellite 245
mirror site 84
Mofarotene(Ro 40-8757) 235
moist heat sterilization 222, 258
mold 260
mold contamination 231
molecular size 227
monobutyl phthalate 251
monocrotaline 245
monodesamido body 248
mouse 234
mouse gamma satellite DNA 246
mouse peripheral blood micronucleus test 245
MTD 27
mutagenesis 245
mutagenicity 228, 243
mutation 262
mycoplasma 262
myocyte 215
- N**
- N*-cyanomethylmethamphetamine 214
NaCl 243
naphthol AS-D 220
National review 89
natural food additives 259
nebracetam 236
nervous system 229
neurotransmission 237
new coccine 250
NIHS reference standard 106, 128, 130, 138
NIST thermal analysis purity set 248
nitric oxide 228
nitrophenanthrene 228
2-nitropropane 233
nitrosourea 228
¹⁷O-NMR 211
NO production 232
No toxic dose 260
NOAEL 260
non-clinical test 261
non-toxic lipid A 230
nonionic surfactant 223
normal human epithelial cells 247
nucleolar segregation 243
- O**
- OBCAM 229
occupational infections 261
Ocimum basilicum L. 255
OECD 260
official analytical method 258
official inspection 102
oil and fats 257
okadaic acid 229
organochlorine pesticide 250
osteogenic disordered syndrome rats 240
outgrowth culture 247
ovi 212
Oxfendazole 21
oxidative stress 232, 233
oxytetracycline 258

P

P450 239
P450-dependent monooxygenase 223
P815 mastocytoma 229
Panax 255
Panax ginseng 256
paprika 226
parathyroid gland 233
particle size 249, 262, 263
PC12 236
PC12 cells 236
PCNA 243
PCR-SSCP 244
penetration 259
pentachlorophenol 232, 233
2,2,3,3,3-pentafluoropropanol 229
pepper 225
peripheral blood 245
peritoneal macrophages 252
permeation 223
peroxisome proliferator 233
pesticide 250
pesticide residue 261
pestivirus 262
phage typing 230
pharmaceutical(s) 71, 262
pharmacological effect 217
pharmacopoeia 257
phencyclidine 213, 214
p-phenylenediamine-type antioxidant 220
phenylpropanoid esters 253
photochemical reaction 250
phytochelatin 226
pigmented contact dermatitis 220
plasmid R64 245
plastic containers 257
polyacetylene 254
polyacetylene glucoside 255
polycarbonate 227
polychlorinated biphenyl 42
polymethylmethacrylate 222
polymorphic DNA 255
polyurethane 219, 221
positive reference materials 218
post-harvest hydrolysis 255
postcolumn derivatization 224
pour plate technique 231
preadipocyte 216
precision 222, 223
product safety 232
production 102
promotion 33
propionic acid 225
protease 228
protein formulation 256
protein kinase C 240
protocol 245
pulmonary surfactant 247
purification 239
pyrrolizine alkaloid 242

Q

Qinghai province 252, 253
quality control 257
quality evaluation 113, 116, 119, 122, 125, 130
quantitative morphometry 242
Quercus acutissima 254

R

radiation-sensitivity 235
random amplified polymorphic DNA (RAPD) 255
rapid analysis 256
rapid determination of MIC 231
rapid method(s) 259
rare earth element 232
rat 233, 243
rat limb bud cells 221
rat testicular atrophy 216
readily oxidizable substances 225
reagent 212
receptor 234
recombinant human insulin 215
recommendation 245
reference standard 145, 262
release rate 211
reproductive toxicity 241
residual antibiotics 260
restriction endonuclease 13, 230
restriction map of pSTd4 230
retinol 249
Rhei Rhizoma 253
rhesus monkey 230
Rheum palmatum 252
Rheum tanguticum 252
rice seed DNA 227
Risk assessment 89
risk analysis 257
risk communication 232
rosmarinic acid 255
RP-HPLC 215
RT-PCR 247
rubber 220, 221
Rubia tinctorum 226

S

saccharide 249
safest methods 222
safety management 221
Salmonella enteritidis 259
Salmonella typhimurium 245
samAB 245
São Lêng 217
schizophrenia 261
Scutellaria baicalensis 254
Scutellariae radix 217
secondary metabolites 263
secretion 236
sennoside A and B 106
sennosides 106
sex chromosome 255
shelf-life 143
shoot culture 255
shufflon 245

- side effect 71
signal transduction 218
silicate glass surface 227
simple and rapid assay method 248
simplified method 260
SIRC 239
size distribution 263
Skin2 238
skin sensitization 221
SMCP 222
smooth muscle cell 216
smooth muscular relaxation 228
sodium 215, 216
sodium chlorite 225
solid phase extraction 222
somatic embryogenesis 254
somatropin 130
Soybean 230
Sparganium stoloniferum Buch.-Hamil. 217
spectinomycin 228
spectrophotometre 253
spermatogenic cycle stage 242
spices 225
spin-lattice relaxation time 211
spontaneous MNRETs frequencies 246
spores 231
spread plate technique 231
stability 256
stability testing 143
stabilization 212
standard 136
standard methods of analysis in food safety regulation 259
standard type strains for validation 259
standardization 257
starting materials 250
statistics 246
step-wise increasing dose treatment 242
Sterility Tests 259
sterilization methods 222
steroidal saponins 253
stomach cancer 243
stress condition 215
striatum 235, 236
structure 71
structure-activity relationship 216
subchronic toxicity study 27
subsidiary colors 250
sulfadimethoxine 241, 242
sulfate 226
superoxide 229
surface analysis 227
synergism 246
synthetic antibacterial 250
- T**
- tannin 254
taxoids 255
Taxus sp. 255
teratogenicity 16, 232, 251, 252
p-tert-butylphenol 220
p-tert-butylphenol formaldehyde resin 220
testes 261
testicular toxicity 241, 242, 261, 262
- tetrachloroethylene 223
12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate 247
thermal analysis 147, 212, 248
thermogravimetry 248
thermoluminescence 258
thiourea-type accelerator 221
thrombin 216, 240, 248
thymidine kinase 247
thyrid carcinogenesis 241
thyroid 226
thyroid stimulating hormone 241
thyroid tumorigenesis 242
tissue cultures 256
tissue distribution 229
titanium trichloride titration method 136
TK6 247
tobacco 214
tocopherol acetate 119
toluene 224, 232
total diet study 42
toxic compounds 222
toxicity test 232
toxicology 260
traditional medicines 257
transferrin 216
transgenic animals 1
transgenic mouse 234, 244, 261
translesion DNA synthesis 262
translocation 229
trenbolone 258
tributylamine 227
2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenylether 38
triethylamine 227
tumor promoter 21
tumor-promoting activity 221
TUNEL method 244
tyrosine-*O*-sulfate 219, 220
- U**
- umuDC* 262
urinary bladder carcinogenesis 240
urinary urokinase 248
urokinase 248
uroolith 240
US Pharmacopoeia 147
utilization for foods 263
UTP 235
- V**
- Validation of analytical procedures 256
validation 237, 238, 239, 257
validation characteristics 256
variance 261
verification 260
veterinary drugs 262
viral safety 257
volatile organic compounds(VOC) 258
VRML 62
- W**
- water content 248
water-logging treatment 253
water mobility 211

water soluble chloride 251
weight variation test 211, 256
whole embryo culture 252
Wistar rat 16
woodenware 227
World Wide Web 53, 62, 76, 84
WWW → World Wide Web

X

Xeopus oocyte expression system 237

Z

Zanthoxylum piperitum 217
zeranol 258
zeta potential 249
zinc 236
Zn²⁺ 235
Zn 237

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し、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）、などとしなない。

3.1 単位のべき指数表記には、次の記号を用いる。

| | | | | | | | |
|----|-----------|-----------|---|------|-----------|------------|-------|
| テ | ラ (tera) | 10^{12} | T | ミ | リ (milli) | 10^{-3} | m |
| ギ | ガ (giga) | 10^9 | G | マイクロ | (micro) | 10^{-6} | μ |
| メ | ガ (mega) | 10^6 | M | ナ | ノ (nano) | 10^{-9} | n |
| キ | ロ (kilo) | 10^3 | k | ピ | コ (pico) | 10^{-12} | p |
| デ | シ (deci) | 10^{-1} | d | フェムト | (femto) | 10^{-15} | f |
| セン | チ (centi) | 10^{-2} | c | ア | ト (atto) | 10^{-18} | a |

3.1 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 | μm | ケルビン度 | K | モル濃度 | M |
| ナノメートル | nm | ベクレル | Bq | 規定濃度 | N |
| (mμ を用いない) | | カウント毎分 | cpm | 施光度 | α |
| オングストローム | Å | (cps を用いない) | | 吸光度 | A |
| 平方メートル | m ² | グレイ | Gy | 水素イオン指数 | pH |
| アール | a | シーベルト | Sv | pK 値 | pK |
| リットル | l | クーロン/キログラム | C/kg | ミハエリス定数 | K _m |
| (L を用いない) | | サイクル | cycle | R _f 値 | R _f |
| ミリリットル | ml | 回毎分 | rpm | 保持時間 | tr |
| (cc を用いない) | | ヘルツ | Hz | 50%致死量 | LD ₅₀ |
| マイクロリットル | μl | キャンデラ | cd | 50%有効量 | ED ₅₀ |
| (λ を用いない) | | ルクス | lx | 経口投与 | p. o. |
| 立法メートル | m ³ | ダイン | dyn | 静脈投与 | i. v. |
| グラム | g | 気圧 | atm | 腹腔投与 | i. p. |
| マイクログラム | μg | トル | Torr | 皮下投与 | s. c. |
| (γ を用いない) | | 水銀柱ミリメートル | mmHg | 筋肉投与 | i. m. |
| 時 | hr | 毎センチメートル | cm ⁻¹ | 標準偏差 | S. D. |
| 分 | min | (カイザー) | | 標準誤差 | S. E. |
| 秒 | sec | 融点 | mp | 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 | Ω | 比重 | d | 施光分散 | ORD |
| ガウス | G | 屈折率 | n | 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³⁾, ^{2,5)}, ¹⁻⁴⁾のように記し、終わりに文献として引用順に書く。
雑誌名は Chemical Abstracts 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^{a), b), …}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. 誌上発表等の記載要領：誌上発表、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8年度図書委員

齋藤行生 *宮田直樹 神沼二真 *木暮瑠理
押澤正 小野景義 *林 讓 関田 寛
穂山 浩 *坂元史歩 末吉祥子 手島玲子
高橋 惇 宮原美知子 川島邦夫 津田充宥
高田幸一 *田辺秀之 *鎌田栄一 *四方田千佳子
下村講一郎 *上沼陽子

(*は編集委員)

衛生試験所報告 第114号

平成8年10月25日 印刷

平成8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