

ISSN 1343-4292
CODEN : KISHFC

國立医薬品食品衛生研究所報告

平成 10 年

Bulletin of National Institute of Health Sciences

No.116

1998



國立医薬品食品衛生研究所

國立医藥品食品衛生研究所報告

平成 10 年

Bulletin of National Institute of Health Sciences

No.116 1998

Published by
National Institute of Health Sciences
Tokyo, Japan

國立医藥品食品衛生研究所

目 次

国立医薬品食品衛生研究所報告第116号第一部

特論

ダイオキシン類のリスクアセスメント、特に国内外の規制状況及び内分泌障害性物質としての作用	黒川雄二・井上 達..... 1
薬用植物・生薬の利用とその安全性	佐竹元吉..... 13
総説		
依存性薬物の毛髪への移行に関する研究	木倉瑠理・中原雄二..... 30
ラテックスアレルゲンとしての植物の生体防御蛋白質	矢上 健..... 46
ジオキシランを用いた立体選択的エポキシ化反応の開発	栗原正明・宮田直樹..... 63
薬物代謝酵素の遺伝的多型性と薬効および毒性の個体差	小澤正吾..... 69
緑茶飲用による肝障害の抑制効果について	長谷川隆一・武木田 薫・佐井君江・梅村隆志・谷村顯雄・井上 達・黒川雄二..... 82

原著論文

国立医薬品食品衛生研究所における研究情報基盤整備の進展	中田琴子・中野達也・高井貴子・神沼二眞..... 92
ラットへのLPS投与による体内NO産生に伴う血中及び主要臓器内 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 濃度について	

.....	酒見和枝・大野泰雄・津田充宥..... 101
-------	-------------------------

クロロフィルのF344ラットを用いた13週間亜慢性毒性試験	古川文夫・笠原健一郎・西川秋佳・今沢孝喜・広瀬雅雄..... 107
ノート		

逆相系高速液体クロマトグラフィーによる食品添加物“ミックストコフェロール”オイル製剤中の		
--	--	--

トコフェロール同族体の定量	辻 澄子・三島郁子・石光 進・柴田 正・外海泰秀..... 113
---------------	-------	-----------------------------------

研究に関する資料

糖鎖含有タンパク製剤の品質評価試験法に関する研究(Ⅱ)－エリスロポエチン製剤 その2		
--	--	--

.....	川崎ナナ・太田美矢子・日向須美子・橋本 統・森本和滋・早川堯夫..... 117
-------	--

HPLCによる指定外着色料の定性試験法について		
-------------------------	--	--

.....	石綿 肇・長田正大・関口幸弘・鎌倉和政・杉田たき子・山田 隆..... 122
-------	---

わが国の有機錫汚染による健康および、環境影響リスクの評価	関沢 純..... 126
化学物質による健康被害についての事故事例データベースおよびホームページの作成	

.....	山本 都・森田真理子・神沼二眞..... 132
-------	--------------------------

インターネットによる医薬品情報提供 Ⅱ	山本美智子・中田琴子・蕪山典子・神沼二眞..... 137
---------------------	-------	-------------------------------

IPCSからコメントを依頼された環境保健クライテリアのドラフトについて(1997年度)	大竹千代子..... 144
---	-------	----------------

総合化学物質安全性研究費；安全性試験法開発等研究費による研究報告(平成7～9年度)		
---	--	--

.....	井上 達・大野泰雄・高橋道人・祖父尼俊雄・中館正弘・黒川雄二..... 149
-------	---

平成9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・外海泰秀・柴田 正..... 153
-------	-----------------------------------

HPLC及びGCによる青果物中残留農薬の一斉分析とその検出例		
--------------------------------	--	--

.....	土屋 鍛・前田憲二・関口幸弘・平原嘉親・渡辺芳則・外海泰秀..... 157
-------	--

標準品に関する資料

国立医薬品食品衛生研究所ショ糖オクタ硫酸エステルカリウム標準品(Control 961)		
--	--	--

.....	北島 文・岩田美保・前川京子・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史..... 163
-------	--

国立医薬品食品衛生研究所トロンビン標準品(Control 961)		
-----------------------------------	--	--

.....	北島 文・岩田美保・前川京子・斎藤博幸・谷本 �剛・岡田敏史..... 166
-------	---

国立医薬品食品衛生研究所カリジノゲナーゼ標準品(Control 971)		
--------------------------------------	--	--

.....	岩田美保・北島 文・前川京子・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史..... 168
-------	--

国立医薬品食品衛生研究所酢酸レチノール標準品(Control 971)及びパルミチン酸レチノール標準品(Control 971)		
--	--	--

.....	谷本 剛・岩田美保・北島 文・前川京子・斎藤博幸・岡田敏史..... 170
-------	--

国立医薬品食品衛生研究所コレカルシフェロール標準品(Control 971)	岩田美保・北島 文・前川京子・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史… 174
国立医薬品食品衛生研究所酢酸トコフェロール標準品(Control 971)	北島 文・岩田美保・前川京子・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史… 177
国立医薬品食品衛生研究所エルゴカルシフェロール標準品(Control 971)	岩田美保・北島 文・前川京子・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史… 180
国立医薬品食品衛生研究所塩酸チアミン液標準品(Control 971)	北島 文・岩田美保・前川京子・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史… 183
国立医薬品食品衛生研究所プレドニゾロン標準品(Control 971)	北島 文・岩田美保・前川京子・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史… 185
ステートメント	
溶出試験法のバリデーション：装置の振動レベルの評価	
鹿庭なほ子・香取典子・青柳伸男・小嶋茂雄・石龜則子	瀬田康生・榛葉 徹・藤原和文・中井 亨・小田容三… 189
医薬品のロット間、包装間、処方間における安定性の差の評価 一マトリキシングおよびプラケティング適用の指針一	吉岡澄江・阿曾幸男・小嶋茂雄… 192
生葉中の Aristolochic acids について	関田節子・鎌倉浩之・安田一郎・浜野朋子・佐竹元吉… 195
液体クロマトグラフ法における「試験の再現性」について	岩上正蔵、山下治夫、岡田敏史… 197
特別研究報告	
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(第一次)(平成 6 年度～8 年度)	199

国立医薬品食品衛生研究所報告第116号第二部

業務報告	219
誌上発表(原著論文)	271
誌上発表(総説・解説等)	309
単行本	317
行政報告	320
学会発表	326
レギュラトリーサイエンス関連会議報告	354
衛研例会	367
平成 9 年度に行った主な研究課題	371
国家検定及び検査等の処理状況	377
国立医薬品食品衛生研究所標準品	382
国立医薬品食品衛生研究所報告第116号キーワード索引	390

CONTENTS

Bulletin of National Institute of Health Sciences, No.116, Part1

Special Reports

- Risk Assessment of Dioxins and the Effect as the Endocrine Disrupters Yuji Kurokawa and Tohru Inoue..... 1
The Utilizatain and Safety of Medicinal Plants and Crude Drugs..... Motoyoshi Satake.....13

Reviews

- Studies on mechanism of drug incorporation into hair Ruri Kikura and Yuji Nakahara.....30
Plant Defense-Related Proteins as Latex Allergens Takeshi Yagami.....46
Stereoselective epoxidation with bulky dioxiranes generated from substituted cyclohexanones Masaaki Kurihara and Naoki Miyata.....63
Interindividual differences in efficacy and toxicity induced by therapeutic drugs and xenobiotics in relation to genetic polymorphisms in xenobiotic metabolizing enzymes Shogo Ozawa.....69

Inhibitory Effect of Green Tea Infusion on Hepatotoxicity

- Ryuichi Hasegawa, Kaori Takekida, Kimie Sai, Takashi Umemura, Akio Tanimura,
.....Tohru Inoue and Yuji Kurokawa.....82

Originals

- Development of NIHS Information and Computing Infrastructure (NICI)
.....Kotoko Nakata, Tatsuya Nakano, Takako Takai and Tsuguchika Kaminuma.....92
NO₂/NO₃ levels in blood and principal organs in rats treated with lipopolysaccharide
.....Kazue Sakemi, Yasuo Ohno and Mitsuhiro Tsuda... 101
A 13-week Subchronic Oral Toxicity Study of Chlorophyll in F344 Rats
.....Fumio Furukawa, Ken-ichiro Kasahara, Akiyoshi Nishikawa, Takayoshi Imazawa and Masao Hirose... 107

Note

- Determination of Tocopherols in Oils of Mixed Tocopherol as Food Additive using Reverse-Phase High-Performance liquid Chromatography
.....Sumiko Tsuji, Ikuko Mishima, Susumu Ishimitsu, Tadashi Shibata and Yasuhide Tonogai... 113

Technical Data

- Study on evaluating methods for the quality control of glycoprotein products. (II)
— Erythropoietin products. Part 2
.....Nana Kawasaki, Miyako Ohta, Sumiko Hyuga, Osamu Hashimoto, Kazushige Morimoto and Takao Hayakawa... 117
A qualitative analytical method for nonpermitted food colors by HPLC
.....Hajimu Ishiwata, Masahiro Nagata, Yukihiko Sekiguchi, Kazumasa Kamakura,
.....Takiko Sugita and Takashi Yamada... 122
Health and Environmental Risk Assessment of Organotin Pollution in JapanJun Sekizawa... 126
Preparation of the Database and the Homepage on Chemical Accidents relating to Health Hazard
.....Miyako Yamamoto, Mariko Morita and Tsuguchika Kaminuma... 132
Dissemination of Drug Information by the Internet
.....Michiko Yamamoto, Kotoko Nakata, Noriko Kabuyama and Tsuguchika Kaminuma... 137
First Drafts of the Environmental Health Criteria (EHC) Circulated for Comments by IPCS in 1997.4~1998.3.
.....Chiyoko Ohtake... 144
Studies on development and improvement of toxicity guidelines conducted at the Biological Safety Research Center (1995-97)
.....Tohru Inoue, Yasuo Ohno, Michihito Takahashi, Toshio Sofuni, Masahiro Nakadate and Yuji Kurokawa... 149
Estimated Production by the Official Inspection of Coal-Tar Dyes (including Dye Aluminum Lakes) in 1997.
.....Susumu Ishimitsu, Ikuko Mishima, Sumiko Tsuji, Yasuhide Tonogai and Tadashi Shibata... 153
Simultaneous Analysis and Detection of Pesticides in Fresh Fruits and Vegetables By HPLC and GC
.....Tetsu Tsuchiya, Kenji Maeda, Yukihiko Sekiguchi, Yoshichika Hirahara, Yoshinori Watanabe
.....and Yasuhide Tonogai... 157

Reference Standard Data

Potassium Sucrose Octa Sulfate Reference Standard (Control 961) of National Institute of Health Sciences	
.....Aya Kitajima, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada...	163
Thrombin Reference Standard (Control 961) of National Institute of Health Sciences	
.....Aya Kitajima, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada...	166
Kallidinogenase Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences	
.....Miho Iwata, Aya Kitajima, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada...	168
Retinol Acetate Reference Standard (Control 971) and Retinol Palmitate Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences	
.....Tsuyoshi Tanimoto, Miho Iwata, Aya Kitajima, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito and Satoshi Okada...	170
Cholecalciferol Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences	
.....Miho Iwata, Aya Kitajima, Keiko maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada...	174
Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences	
.....Aya Kitajima, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada...	177
Ergocalciferol Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences	
.....Miho Iwata, Aya Kitajima, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada...	180
Thiamine Hydrochloride Solution Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences	
.....Aya Kitajima, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada...	183
Prednisolone Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences	
.....Aya Kitajima, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada...	185
Statements	
Validation of Dissolution Testing: Evaluation of Vibration Levels of Dissolution Apparatuses	
...Nahoko Kaniwa, Noriko Katori, Nobuo Aoyagi, Shigeo Kojima, Noriko Ishigame, Yasuo Seta, Tohru Shinba, Kazufumi Fujiwara, Tohru Nakai and Yozo Oda...	189
Assessment of Stability Variation among Batches, Packaging, and Formulations	
— Application of Matrixing and Bracketing —Sumie Yoshioka, Yukio Aso and Sigeo Kojima...	192
Aristolochic acids in Herbal Medicines	
.....Setsuko Sekita, Hiroyuki Kamakura, Ichiro Yasuda, Tomoko Hamano and Motoyoshi Satake...	195
On the “System Repeatability” Specified in the Operating Conditions for HPLC Assay in JP Monographs	
.....Shozo Iwagami, Haruo Yamashita and Satoshi Okada...	197
Report of Collaborative Study	
Studies on the establishment of early and sensitive biomarkers for risk Assessment	199

Bulletin of National Insitute of Health Sciences, No.116, Part2

Annual Reports of Divisions	219
Summaries of Papers Published in Other Journals (Original Papers)	271
Summaries of Papers Published in Other Journals (Reviews and Articles)	309
Title Scientific Books	317
Scientific Reports to Govermental Agencies	320
Titles of Speechs at Scientific Meetings etc.	326
Meeting Reports Related to Regulatory Science	354
NIHS Seminars	367
Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 1997	371
Survey of the Results of National Tests	377
Reference Standard Prepared by National Institute of Health Science	382
Subject Index	390

ダイオキシン類のリスクアセスメント、
特に国内外の規制状況及び内分泌障害性物質としての作用

黒川雄二[#]・井上 達

Risk Assessment of Dioxins and the Effect as the Endocrine Disrupters

Yuji Kurokawa[#] and Tohru Inoue

In 1990, WHO recommended the TDI (Tolerable Daily Intake) of 10 pg/kg bw/day for dioxin. Since then, industrialized countries have set TDIs or exposure limits based on their own evaluation of the exposure levels and the toxicity of dioxin. In Japan, the MHW announced 10 pg TCDD/kg bw/day as the temporary TDI in 1996. WHO reevaluated the TDI in May 1998 and announced the TDI in the range of 1-4 pg TEQ/kg bw/day including coplanar PCBs, which will definitely have a big impact all over the world. Moreover, dioxins, as endocrine disrupting chemicals, are reviewed on their hazards on health and the mechanism of actions.

Keywords: dioxins, TDI, Ah-receptor

1. はじめに

ダイオキシン類がヒトの健康に重大な影響を及ぼすことは、1980年代から世界的に大きな問題となってきた。日本では、1984年に「廃棄物処理に係るダイオキシン等専門家会議」を設置し、評価指針として100 pg/kg bw/day をまず提示した。その後、WHO/EURO（欧州地域事務局）は1990年に、TDI (Tolerable Daily Intake, 耐容一日摂取量) として、10 pg/kg bw/day を公表し、世界的に多大なる影響を与え、各国での規制値設定を促した。厚生省でも、1990年に「ダイオキシン類発生防止等ガイドライン」を決め、さらに調査研究班を設けて、「ダイオキシンの毒性発現機構に関する調査研究」(1992-94年度)¹⁾、「ダイオキシンのリスクアセスメントに関する研究」(1995-97年度)²⁾を行ってきた。1996年6月には、当面の TDI として10 pg/kg bw/day を中間発表している。本稿では、その間に国内外で設定された規制値等について、その設定根拠などを概略する。なお、1998年5月にWHO/EUROにより開催された「TDI再評価会議」の結果、TDI が WHO-TEF* を用いて、1-4 pg TEQ/kg bw/day となり、世界的に特に日本に大きな影響を与えた。一方、ダイオキシン類の毒性に関しては、発がん性、生殖発生毒性、免疫毒性等多くの

問題点があるが、本稿では最近特に注目されているダイオキシン類の内分泌障害性物質としての作用の観点から述べることとする。本稿では、ダイオキシン類とはポリ塩化ダイベンゾダイオキシン (PCDD) 及びポリ塩化ダイベンゾフラン (PCDF) を意味する。2,3,7,8-テトラクロロジベンゾダイオキシンは、ダイオキシン又は TCDD と記した。

*TEF (Toxic Equivalency Factor, 毒性強度) は、TCDD の毒性を1としたときの、他のダイオキシン類の毒性を比較するために設定されている。従って、他のダイオキシン類の暴露量がわかればそれらを乗算して、総合的な毒性を TEQ (Toxic Equivalent, 毒性等量) として求められる。なお以前の、I (International)-TEF はコプラナー PCB を含んでいない。

2. リスクアセスメントにおける TDI 等について

周知の如く、リスクアセスメントは、有害性確認に始まり、用量反応評価、暴露評価、リスク判定などの段階を経て行われている³⁾。用量反応評価の段階における目的は、適切な毒性試験ないし疫学データからNOAEL (No-Observed-Adverse-Effect-Level, 無毒性量) ないし NOEL (No-Observed-Effect-Level, 無影響量) を導き出すことにある。勿論、NOAEL が求められないときには、LOAEL (Lowest-Observed-Adverse-Effect-Level, 最小無毒性量) を用いることになる。その場合、どの種類の毒性をエンド

* To whom correspondence should be addressed: Yuji Kurokawa, Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1564; FAX: 03-3700-2348; E-mail: kurokawa@nihs.go.jp

ポイントにするかによって同じデータからでも異なった値が得られるが、通常、安全性を考慮して、低濃度で鋭敏に現れ、且つ重篤な症状を呈する毒性を採用する。その後、用量反応評価の段階で、NOAEL をヒトに外挿するための不確実係数 (UF, Uncertainty Factor) で割ることにより、TDI を算出する。なお、TDI とは、「健康影響の観点から、一生涯摂取しても、一日当たりこの量までの摂取が耐容されると判断される量。本来混入することが望ましくない環境汚染物質（ダイオキシン類は最適の例）などの場合に用い、摂取する利益がないことから、一般に、暴露は最小限に抑えられることが望ましい」と定義されている。一方、ADI (Acceptable Daily Intake, 許容一日摂取量) は、「健康影響の観点から、一生涯摂取しても、一日当たりこの量までの摂取が許容されると判断される量。それを使用することによる利益があり、意図的に使用される物質（例、食品添加物、農薬）の場合に用いられる」という定義であり、不確実係数と同様な根拠ではあるが、安全係数 (SF, Safety Factor) が通常用いられる。

不確実係数の値は、通常、動物とヒトの種差を考慮した係数10にヒトの個体差を考慮した係数10を掛けた100である。しかし場合によっては、毒性の重篤性、実験内容の質的因子、LOAEL のみのとき、短期試験データのみのとき等を考慮して、それぞれ最大10の不確実係数を付加することもある。

以上は、毒性発現に閾値ありと判断された場合であるが、一方、遺伝子毒性を示す発がん物質のように閾値なしとした場合には、数理モデルを使って VSD (Virtually Safe Dose, 実質安全量) を算定することになる。通常は、発がん危険度を 10^{-6} として計算している。

3. 国内外のダイオキシンに関する TDI 等の規制値

3. 1. 設定根拠の概要

これまでのところ、疫学調査及び文献においてヒトへの暴露量の算出が正確に行えるものがほとんどないということから、各機関におけるダイオキシン類暴露規制あるいは許容濃度の算出には、全て動物実験のデータが使用されている。実験としては、TCDD による雌ラットの肝発がん性または生殖発生毒性が、多くの機関で採用されている。

肝毒性をエンドポイントとする場合は、雌ラットの肝臓の過形成結節を得られた Kociba らの実験の NOAEL である 1 ng/kg bw/day という値が主として採用されている⁴⁾。生殖発生毒性をエンドポイントとする場合は、Murray らによる生殖機能異常の NOAEL である 1 ng/kg bw/day という値が採用されている⁵⁾。しかし最近になって、TCDD を用いた Rier らによるアカゲザルの慢性毒性試験における子宮内膜症発症にかかる NOAEL ないし LOAEL を取り入れる傾向もある（これらの実験概要は後述）⁶⁾。

また、同じ動物実験データを用いる場合でもヒトへの外挿に対して異なったモデルを用いれば、機関ごとの規制値にばらつきが生じる。各国・機関での規制値は、“閾値あり”または“閾値なし”的算出モデルをとっており、この両者のモデルのうちどちらを選択するかによって、その値に大きな隔たりを生じている。

“閾値あり”的用量相関関係モデルを採用する各国・機関は、ダイオキシン類がヒトにおいて遺伝子毒性がないという前提に立っており、Kociba らまたは Murray らの報告による NOAEL または NOEL 値を不確実係数（又は安全係数）で割ることにより、規制値を算出している。不確実係数（又は安全係数）は、実施機関によって算出法が異なるが、結果的には 100~1000 の値が採用されている^{7,8)}。

ダイオキシン類による発がん性に“閾値なし”とし、低用量でも直線性が存在するとする用量相関モデルを採用した機関は米国のみであり、Kociba らの報告をもとに線形多段階計算モデル (Linearized Multi-stage Model, LMS model) 法により算出している (Table 1, 2).

3. 2. “閾値あり”モデルを採用した規制値

3. 2. 1. WHO の TDI

1990年にWHOでは、TCDD は動物で発がん性をもつが、ヒトでは結論はでないとした。そして、この化合物にはプロモーター作用があるが、遺伝子毒性はないと考え、一般毒性を示すものと同等にとらえて規制値を算出した⁹⁾。様々な種の動物で実験された生殖発生毒性及び免疫毒性データに基づき、NOEL を 1 ng/kg bw/day であると結論づけた。そして、過去のリスクアセスメントにおける不確実性を大きく軽減する新しい方法を取り入れている。即ち、ヒトと動物での組織内濃度を比較することが可能だとして、薬物動態学的解析により、この NOEL 値 1 ng/kg bw/day は、ラット肝濃度では 540 ng/kg bw であり、ヒト一日摂取量として 100 pg/kg bw に同等であるとした。不確実係数は、ヒトにおける生殖発生毒性に関する十分な知見がないことから、10 の値を採用し、TDI として 10 pg TCDD/kg bw/day を提案した。一方、母乳からの摂取が TDI を上回るという事実にふれて、TDI は一生涯摂取量に関するものであり、乳児には適用すべきではないと述べ、計算上 6 ヶ月の授乳期摂取量は、一生涯摂取量の 5% 以下であるとしている。

3. 2. 2. 各国・機関の規制値

ドイツでは、1985年と早くから規制値を設定している。ラットにおける Kociba と Murray の実験から NOAEL 値として 1 ng/kg bw/day を採用し、安全係数 100~1000 を使用して、TDI を 1~10 pg/kg bw/day と安全係数 100~1000 を使用して、TDI を 1~10 pg/kg bw/day と幅を持たせている。この中で、1 pg/kg bw/day は安全サイドに立った目標としての値であり、10 pg/kg bw/day は、これを超えると緊

Table 1. “閾値あり”モデルを採用した各国・機関の規制値

		採用文献	NOAEL (pgTCDD/kg bw/d)	不確実 (安全)係数	規制値(TDI) (pg TEQ/g)
ドイツ	1985	Kociba ら Murray ら	1,000 (NOEL)	100-1000	10,1 (目標値)
北欧4カ国	1988	Kociba ら Murray ら	1,000 (NOEL)	200	5(0-35/W) (TWI)
WHO/EURO	1990	Kociba ら Murray ら	1,000 (NOEL)	100	10
カナダ	1990	Murray ら	1,000	100	10
オランダ	1991	WHOの提案を採用	1,000	100	10
オランダ	1996	Rier ら	100 (LOAEL)	100 (5×10×2)	1 (答申値)
英国COT	1991	WHOの提案を採用	1,000	100	10
スイス	1993	WHOの提案を採用	1,000	100	10
日本厚生省	1996	Kociba ら Murray ら	1,000	100	10
日本環境庁	1996	Kociba ら Rier ら	1,000	200 (10×10×2)	5 (健康リスク評価指針値)
ニュージーランド	1991	WHOの提案を採用	1,000	100	10
オーストラリア	1994	WHOの提案を採用？	1,000	100	10 (提案値)

Table 2. “閾値なし”モデルを採用した各機関の規制値

規制機関	採用文献	外挿モデル	許容リスク	q1* (mgTCDD/kg bw/d) ⁻¹	規制値 (pgTCDD/kgbw/d)
米国EPA1994	Kociba ら	LMS	1×10^{-6}	1.56×10^5	0.006
米国FDA	Kociba ら	LMS	1×10^{-6}	1.75×10^4	0.057

*投与量 1mg/kg 当たりの腫瘍発生率 Coulston(1994)

急に行政措置がとられるべき値とされている。

北欧諸国（スウェーデン、ノルウェー、フィンランド、デンマーク）では、ラット発がん性及び生殖発生毒性試験の報告より NOEL 値は、1 ng/kg bw/day であるとしたが、この NOEL 値が全く疑いのないものとしては、確立していないとして安全係数を200として、5 pg/kg bw/day という値とした。さらに、ダイオキシン類の毒性が組織濃度に依存し、steady state に至るまで長時間を要すること等を考慮し、1週間当たりの規制値 TWI (Tolerable Weekly Intake) として、35 pg/kg bw/week という値を推奨している。これは、魚を多食することからたまたま一日当たりのダイオキシン類摂取量が 5 pg/kg/day を上回るとしても、1週間単位で35 pg/kg/day をこえなければよいという発想もある。なお、WHO の TDI における不確実係数に対しては、種差を考慮してさらに2を加え、200にすべきとの見解を表明し、同時に北欧での200を正当化している。

カナダ厚生省では、1990年に Murray らの生殖発生毒性試験から、NOAEL を 1 ng/kg bw/day とし TDI 10 pg/kg bw/day としている。不確実係数は100であるが、それは通例の考え方ではなく、個体差とダイオキシンの重篤な毒性を加味しているもので、ヒトは動物よりダイオキシン類への毒性感受性は低いとして種差を考慮していない点が

注目される。しかし州によっては、TDI を1-2 pg/kg bw/day としているところもある。

オランダでは、1982年に Kociba らの実験で NOAEL とされている 1 ng/kg bw/day でもまだ有害性影響が見られるとし不確実係数250を適用して、4 pg/kg bw/day を規制値に決めていたが、1991年に WHO の提案を受け入れて、10 pg/kg bw/day の規制値を取り入れた。しかし1996年になって、その10 pg/kg/day の基になった実験で見られた影響はやはり有害性を有すると考えた。そして、Rier らのサルの実験での100 pg/kg bw/day を幼弱動物での精神発達障害、雌での子宮内膜症発現等を理由から LOAEL とし、不確実係数100（種差5、個体差10、LOAEL から NOAEL への変換2）を適用して、1 pg/kg bw/day という数字を出した。しかしこれは、オランダの国家保健審議会からの答申値であって未だ規制値ではないということである。

英國 COT (Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment) では、その値を超えたときに、環境中のレベルを下げるための調査と方策を始めるという意味合いで、TDI ではなくガイドラインレベルという値を最初に設定した。Kociba らのデータから発がん性に対する NOAEL 値は10 ng/kg bw/day とし、安全係数1,000（発がん性を加味し、10を付加係数）を使

って10 pg/kg bw/day という値を算出した^{10,11)}。一方、アカゲザルを用いた生殖毒性試験の結果より、NOAEL 値を0.12 ng/kg bw/day とし、一般毒性に対する安全係数100 を用いて、1 pg/kg bw/day を算出している。結局、ガイドラインレベルとしては、1 pg/kg body wt/day を採用しているが、これをTDIとして採用すれば、リスクを過大評価することになるとしている。しかし、最終的には1991年に上記のガイドラインレベルを廃し、WHO の提案した TDI 10 pg/kg bw/day を採用している。

3. 2. 3. 厚生省のTDI

日本においては厚生省がまず1984年に、ダイオキシン類の評価指針として、油症患者から NOAEL を1 ng/kg bw/day とし、安全係数10を用いて、100 pg/kg bw/day を提示した。その後、1995年からは、規制値設定を目標として、厚生科学研究「ダイオキシンのリスクアセスメントに関する研究」班を発足させ調査研究に当たった。その際、原則として、ダイオキシン類のうち最も実験的・疫学的データの豊富な TCDD について、特に経口暴露条件でのものについて、国際的な総説（WHO, EPA 等）を用いて調査することとした。その結果、1996年6月に当面の TDI として10 pg/kg bw/day を提案し食品衛生調査会に答申後、公表した。規制値設定の前提として、①ダイオキシン類は非意図的生産物であり、環境経由で摂取するものであるので、ADI よりも TDI をもちいること、②実験動物で発がん性はあるが、遺伝子毒性はなくプロモーター作用物質であることから、閾値が設定できること、③従って一般毒性評価と同様に NOAEL を基に TDI 設定をすることができること等の 3 点を明確にした。根拠とするデータとして、Murray らの生殖発生毒性試験及び Kociba らの慢性毒性試験等を用い、総合的に判断して NOAEL 1 ng/kg bw/day とし、これに不確実係数100を適用して、TDI を設定した。ただし、これらは既存データを基としたもので、国内外の日進月歩の研究状況を考慮し、今回の TDI を当面のものとすることが適当と判断した。

3. 2. 4. 環境庁の健康リスク評価指針値

環境庁では1996年5月にダイオキシンリスク評価検討会を設置し、調査・研究を開始して、同年11月には、TDI 等とは異なる健康リスク評価指針値として 5 pg/kg bw/day を公表した¹²⁾。この独自の指針値の定義は、①ダイオキシン類に係る環境保全対策を講ずるに当たっての目安となる値、②人の健康を維持するための許容限度としてではなく、より積極的に維持されることが望ましい水準として人の暴露量を評価するために用いる値である、としている。この指針値の設定根拠に用いたのは、Kociba らの発がん性試験であり、肝過形成結節を指標とした NOAEL 1 ng/kg bw/day に不確実係数100（種差10、個体差10）、または肝がんを指標とした NOAEL 10 ng/kg bw/day に不確実係数

1000（種差10、個体差10、影響の重大性10）をそれぞれ適用して、10 pg/kg bw/day という数字をまず算出した。さらに Rier らのアカゲザルの実験における子宮内膜症発生に用量相関関係があること、発症にホルモン・免疫作用の関与が想定されること等から、付加係数として2を加え健康リスク評価指針値として 5 pg/kg bw/day を導き出したものである。最近オランダにおいてアカゲザルの実験における LOAEL から TDI を設定した事実に影響されたと推察されるが、実際の LOAEL 値を用いることはしていない。

3. 3. 閾値なしモデルを採用した規制値

低用量でも直線性が存在するとする用量相関モデルを採用した機関は米国のみであり、線形多段階計算モデル (Linearized Multi-stage Model, LMS model) 法により 1×10^{-6} の発がんリスクにおける上限値を示すものとして RsD (Risk Specific Dose) 値を算出している。しかし RsD 値における実際のリスクは 1×10^{-6} 以下でゼロになる可能性もある。さらにこれらの値は直接許容量などを示すものではなく、各種化学物質の 1×10^{-6} 発がんレベルにおける量の比較に役立つものである。米国 EPA 及び FDA では、Kociba らの用量相関関係のある雌ラット肝腫瘍の実験データを基に、それぞれ 0.006 pg/kg bw/day, 0.057 pg/kg bw/day という値を導き出している⁷⁾。また米国 CDC (Center for Disease Control) では、0.028 pg/kg bw/day を下限値として算出している¹³⁾。同じ Kociba らのデータを基に計算しているにもかかわらず各機関で結果が違うのは、計算に組み入れる危険率 (q1) などのファクターの解釈の仕方に依存している結果である。

3. 4. 米国 ATSDR における MRL

現在米国 ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) 発行の Toxicological Profile において再評価が進行中である¹⁴⁾。そこでは、新しく MRL (Minimal Risk Level) という値が示されている。これは、「特定された期間において、がん以外の特に問題となる健康影響が見られないであろう、有害化学物質に対するヒト一日暴露量」と定義されている。従って、MRL は動物実験によるがん以外の健康影響のみ（ただし、不可逆性の肝、腎傷害と発生毒性を除く）に基づき、NOAEL と不確実係数により算出されている。ATSDR では、これらを有害廃棄物の特定及び有害廃棄物処理場における健康影響を検討するためのスクリーニングレベルとして用いており、規制値としては用いられていないが、一般論としてヒトは動物に比べて毒性に感受性が高く、さらにヒトにおいても、小児、老人、栄養・免疫不良などを考慮して、MRL の値は動物の NOAEL より極力低く設定している。

現在、MRL として急性 (1-14日)、亜慢性 (15-364日) 及び慢性 (365日以上) が、経口と吸入暴露に対して出されている。慢性暴露における MRL は、Schantz らのデータ

タをもとに、1 pg/kg bw/day という値が出されている。この実験では、食餌中濃度5ppt (WHO 計算方式120 pg/kg bw/day に相当) の TCDD を摂取した母親アカゲザルから生まれた子ザルに社会的行動異常が認められるというもので、LOAEL として位置づけられている¹⁵⁾。したがって、不確実係数としては、データが最小 LOAEL ということで3を、さらに種差3と個体差10をあわせて約100を用いている。その他、急性経口 MRL として、B6C3Fl マウスにおける感染症に対する抵抗力低下から、200 pg/kg bw/day¹⁶⁾、亜慢性経口 MRL として、モルモットにおける胸腺重量低下から20 pg/kg bw/day¹⁷⁾ が示されている。

3.5. 非発がん性影響に対する RfD と MoE

EPA ではこれまで発がん性以外の毒性に対しては、RfD (Reference Dose) を用いてきた。RfD とは、この値以下のレベルでは、一切の毒性が発現しないとされる量であるが、許容量を設定するためではなく、上述の RsD の如く、各種化学物質の毒性を比較するに役立つ。しかし問題点として、発がん性におけるような用量相関曲線が、多くの非発がん性影響では得られないことと、特にダイオキシン類の場合には RfD がバックグラウンド値の10ないし100分の一になることであり、実用的ではない。1996年に EPA は MoE (Margin of Exposure) という概念をダイオキシン類の安全性評価に取り入れた。これは平均的なバックグラウンド値と有害性影響の発現を比較するものであり、MoE を約10とした。即ち、バックグラウンドレベルの10倍に達しない場合には、動物実験又はヒト集団において有害性影響は見られていない。MoE は発がん性と非発がん性の影響を比較するには極めて有用だと考えられているが、EPA ではまだ協議中である。

4. 規制値の基となった実験概要とその評価

4.1. ラット慢性毒性・発がん性併合試験

Kociba らは、一群50匹の雌雄 SD ラットにTCDD を0.001, 0.01, 0.1 μg/kg bw/day の用量 (餌中濃度、22, 210, 2200 ppt) で105週間混餌投与した⁴⁾。雌雄それぞれ86匹の対照ラットには溶媒のみを含む餌を与えた。死亡率の増加は雌の0.1 μg/kg bw/day 群でのみ認められた。0.1 μg/kg/day 最高用量群で雌雄とも6ヶ月以降投与終了時まで体重増加抑制が認められ、0.01 μg/kg bw/day 群の雌でも程度は弱いが体重増加抑制が認められた。試験中頃に0.001 μg/kg bw/day 群でも体重が時折対照群より低い値を記録したが、後期には対照群と同じレベルであった。雌の0.01 及び0.1 μg/kg bw/day 群で、尿中コプロプロフィリンとウロポルフィリン量の増加が認められたが雄では認められなかった。最終解剖時の血清生化学検査で、0.1 μg/kg 群の雌で肝障害に関連した酵素活性の増加が認められた。投与終了時の剖検では、肝への影響が雌雄とも最も共通の

変化として観察された。病理組織学的には、非腫瘍性変化として、肝臓に多数の退行性、炎症性、壊死性変化が特に雌で強く認められた。また、多核肝細胞と胆管過形成も認められた。肝障害は0.1, 0.01 μg/kg bw/day 投与群で用量相関性を示したが、0.001 μg/kg bw/day 群では変化は認められなかった。腫瘍性変化としては、いずれも0.1 μg/kg bw/day 群において、雌で肝細胞癌および肺扁平上皮癌、雄で舌扁平上皮癌、雌雄で硬口蓋及び鼻甲介の扁平上皮癌の発生率が有意に上昇した。これらの結果から、NOAEL は0.001 μg/kg bw/day と考えられる。なお、この最低用量での、実験終了時における脂肪組織と肝臓の TCDD 濃度は540 ppt であった。

4.2. ラット三世代繁殖試験

Murray らは、TCDD を0.001, 0.01, 0.1 μg/kg bw/day の用量 (餌中濃度、22, 210, 2200 ppt) で SD ラット (F0 世代総計、雄52、雌104) に与えて三世代繁殖試験を行った⁵⁾。0.1 μg/kg bw/day では受胎率が著しく低下し、0.01 μg/kg bw/day では子宮内死亡、同腹児数の減少、生後の体重の増加抑制などの生殖毒性を認めている。そして、0.1 及び0.01 μg/kg/day 用量はラットの生殖に悪影響を及ぼすと結論するとともに、0.001 μg/kg/day は、受胎率、出生後体重、新生児生存率に影響を示さないことから、NOAEL であると推定した。しかし、著者らはその後、異なる統計モデルを用いて試験データを再解析し、各世代のデータを全て合わせて解析すると、0.001 μg/kg/day 用量では統計学的に有意差が認められることから、これが必ずしも NOAEL とは言えないと報告している¹⁸⁾。しかし、各世代の毒性変化を世代別に解析すると0.001 μg/kg/day は NOAEL と推定しても問題はないという意見も認められる¹⁸⁾。即ち、0.001 μg/kg bw/day 群で、子宮内生存率は F2 でのみ有意な低下を示し、出生後生存率は F1a 世代では有意に低下しているが、F1b 世代では逆に増加し、F2 世代と F3 世代では有意な変化を示していない。さらに、同群で見られた出生児での軽度の腎孟拡張頻度は、F1 世代では有意に増加したが、F2 と F3 世代では増加せず、最高用量の0.1 μg/kg bw/day 群ではいづれの世代でも増加を認めていない。事実、WHO、スウェーデン、デンマーク、カナダではこの値を NOAEL として規制に用いている。したがって、0.001 μg/kg/day が NOAEL として推定できるか、あるいは LOAEL であるかという点については、統計手法の問題もあり、必ずしも結論にはいたっていないが、現時点では生殖に及ぼす影響に関する NOAEL としては、この Murray らのラット三世代試験データに基づく0.001 μg/kg/day が唯一の情報であろう。

4.3. アカゲザルの慢性毒性試験

Rier らは、TCDD を飼料に5 ppt (実測値126 pg/kg bw/day、WHO 計算方式180 pg/kg bw/day に相当) 及び25

ppt (実測値 630 pg/kg bw/day, WHO 計算方式 900 pg/kg bw/day に相当) の割合で添加し、約4年間与えたのち、その後は TCDD 非投与の状態で飼育した⁶⁾。そのうち25 ppt 群の3匹が重篤な子宮内膜症により死亡したことを観測した Rier らは、TCDD 投与終了10年後に残りの生存サル全例の腹腔鏡検査法を行い、子宮内膜症の有無及びその程度の調査研究を行った。その結果、TCDD の添加濃度に依存して、子宮内膜症を有するアカゲザルの頻度が有意に増加するとともに、rAFS (the revised American Fertility Society classification system) スコアーに基づいて評価した子宮内膜症の重篤性も有意に増大することを認めた。即ち、対照群及び5 ppt 群、25 ppt 群に子宮内膜症がそれぞれ33%, 71%, 86%の頻度で見られ、重篤度で分類すると中程度以上の子宮内膜症は対照群では見られなかったのに対し、5 ppt 群、25 ppt 群でそれぞれ43%, 71%で対照群より有意に高いという結果が得られた。

Rier らによる上記の実験においては、LOAEL が126-180 pg/kg bw/day であり、この値が慢性毒性影響とした場合の毒性値として最小になる。しかし、厚生省研究班の中間報告では、用いているこの種類のサルでは子宮内膜症の発生率が高いこと、例数が少ないと、十分に管理された実験ではないこと、の理由から、この実験結果を根拠に TDI を設定することは適切ではないと判断している。

その後、直ちにその問題に対応すべく「子宮内膜症等に及ぼすダイオキシンの評価に関する研究」班が設立された。これは、Rier らによる一連のアカゲザルへのダイオキシン暴露の実験、特にその子宮内膜症を初めとする生殖器、内分泌臓器障害にかかる知見及びその周辺の情報を整理し、Rier の原報告の現段階における科学的知見としての妥当性の如何を検討評価することを目的としたものである。検討の結果は最終結論に達していないが、1. TCDD に由来する何らかの影響があった可能性は、否定できない。2. Rier の論文には科学的に見て不確実な要素が複数存在するの2点が指摘されている。特に、第2点に関しては、① TCDD 非投与の10年間の空白期間中の飼育条件が不明であること、② 25 ppt 投与群には2種類の異なった処置を受けたサルが含まれるが、この事に関する記載・説明がこの論文には無いこと、③ 統計処理に一貫性を欠く部分があること、が指摘された。よって、Rier の論文には複数の科学的不確定要素が存在しており、現在の所、その論文の中で示されている絶対的数値に関しては、科学的データとして採用するには無理があることから、当該班の結論としては Rier 論文の主旨は棄却できないが、科学的な数値データとしては採用できず、よって、総合的には評価はできないものと判断した。

5. WHO/EURO における TDI 再評価

98年5月25日から29日まで、ジュネーブWHO本部において、ダイオキシンTDIの再評価が行われた。前述の如く(3.2.1. 参照)、90年の最初のTDI評価・設定においては、ラットの生殖毒性・免疫毒性試験から NOEL 1000 pg/kg を求め、さらに薬物動態的にラット肝 TCDD 濃度540 ng/kg が、ヒト一日摂取量100 pg/kg にあたるとし、それに不確実係数10(ヒトでの生殖毒性に関する知見が充分でないこと)を適用して、10 pg TCDD/kg bw/day と計算した。

今回はまず、参考資料として、暴露、動物実験、疫学、毒性発現機構、定量的リスク評価、TEF・TEQ、各国の規制値等に関する11の文書に基づき討議した。その結果、ダイオキシン類による影響は、最近のノックアウトマウスによる実験からほとんどが Ah-receptor を介するものであり、その結合能・反応が直接 Ah-receptor の活性化に依存していることから、ダイオキシン類への感受性はヒトと動物ではほとんど同じ(生化学的変化)か、ヒトが低い(有害性影響)であろうことが、現時点での共通の認識となつた。従って今回は90年以降に発表された動物実験における LOAEL を用い、さらに薬物動態学的見地に基づいた体内蓄積量*(body burden) が最も種差の影響を受けにくいので、評価に適当と考え、TDI を設定することとした。

TDI 再評価に用いるため、最も低い用量・体内蓄積量(10-100 ng/kg)で発現している明らかな有害性影響として、ラット、アカゲザルでの生殖・発達への影響、アカゲザルでの子宮内膜症、マウスでのビールス感受性増加が取り上げられた。一方、上記の毒性発現より低い用量・体内蓄積量(1-10 ng/kg)で、肝 P450酵素等の生化学的变化が認められているが、常にそれらが有害性であることが明確でないとして、取り入れていない。一方、疫学調査から有害性影響を示す場合の体内蓄積量は、20-100 ng/kg である。

従って、上記試験の中で最も低い LOAEL を示したマウス試験を使って、下記の式**からヒトの一日摂取量を求める、2.4-200 TEQpg/kg/day となる。しかし、このマウスの試験は、その毒性発現に用量相関性が明確でないとして、会議では評価が二転三転した経緯がある。さらにこの試験が妥当だとしても、それが妊娠中に高濃度を単回経口投与したものであり、体内蓄積量を用いても、TDI の概念である長期間の安全性を担保するか否かには問題点もあると考えられる。不確実係数に関しては、体内蓄積量を用いたことから種差を考慮しないが、LOAEL を用いたこと、ヒトが動物より感受性が低い場合もあること、ヒトと動物の半減期の違い等を含めて、総合的に見て1-10が必要とされ、TDI は1-4 TEQpg/kg/day と計算された。なお、

この数字は97年の新しいWHO-TEFに基づくTEQを用いていることから、コプラナーPCB（この会議では、dioxin-like PCBと呼んでいる）をも含むものである。今回のTDIが、通常のものと違いある幅を有していることは、その解釈を難しくしているが、当面の値と目標値とでも理解してよいであろう。

現在の先進諸国におけるダイオキシン類平均ヒト一日摂取量は、2-6 pg WHO-TEQ/kg/day（体内蓄積量2-6 ng/kg/day）とされており、一部には既にTDIを上回るレベルもある。しかし、たとえこの摂取量を短期間超えたとしても、動物（10-40日）とヒト（7-11年）の半減期の違いから、steady stateに至る時間には大きな差があることは事実である。しかしながら、当然ダイオキシン類削減対策を今後も強力に推し進め、最終的には暴露が出来うる限り低いレベルになるよう、あらゆる努力を払うことが提案されたことは、正しい指摘である（なお、98年7月上旬の脱稿時点では、未だWHO/EUROから最終文書が出されておらず、変更点もありうる）。

*体内蓄積量；吸収、代謝、排泄に基づいて計算した物質の体内濃度

**ヒト摂取量=体内蓄積量(ng/kg)×ln(2)/ヒト半減期(7.5年)×ヒト吸収率(50%)

6. 内分泌障害物質としての作用

ダイオキシン類の毒性はプレイオトロピックであり、“齧歯類などで顕著な低濃度レベルの致死性”，“CYP1A1・CYP1B1などの薬物代謝酵素の誘導”，これに引き続く“肝毒性や肝発がん性”とともに，“口蓋裂などの催奇形性”や“液性ならびに細胞性の免疫不全”などが知られている¹⁹⁾。そしてその傍ら、このものの毒性に特異な内分泌障害性があることも早くから注目されてきた。結果として、コプラナPCBを含むダイオキシン類、とくにTCDDの内分泌障害性研究は各国で盛んに進められており、特に高い比率を占めている。EPAの内分泌障害性化学物質研究テーマ登録でも、ダイオキシン類（87件）の研究はPCB（109件）とならび、3位のエストロジエン（42件）を大きく引き離している。このダイオキシン類の内分泌障害の発生機序は、通常のホルモン・レセプターを介したそれとは異なって特異な位置付けにある。すなわちダイオキシン類の障害性にはいわゆるダイオキシン・レセプター（アリール炭化水素受容体、以下“Ah レセプター”）の関与が知られているが、このものはオーファン・レセプターであり、エストロジエンやアンドロジエンの作用に対する修飾機序もその詳細な研究は始まったばかりである。そこでこの項では、ダイオキシン類の内分泌障害性にしほって、現在までに明らかになっている事柄を整理してみる。

6.1. 内分泌障害性に関する諸所見

ダイオキシン類に内分泌障害性を疑わしめた代表的な事象は、TCDDの産業中毒者に、塩素ガ瘡や多毛が認められたことによる²¹⁾。その後蓄積されている多数の実験の中から、内分泌障害性と思われる主な所見を列挙すると以下のようになる。

6.1.1. 雄性生殖器関連障害

[精巣形成などアンドロジエン依存性性徵への影響] まず目につくのは雄性性腺に関連した障害である。ウイスコンシン大学のRichard Petersonらのグループは、胎齢15日のHoltzmanラットに0.064~1.0 mg/kgのTCDDを単回経口投与して、出生直後の雄の仔の生殖機能に見られる影響を報告した。検索にはアンドロジエン依存性のパラメータとして、生殖器・肛門間距離(anogenital distance), 精巣などの重量、および精子形成を検討の対象とし、一連の報告を行った^{22,23,24)}。その結果によれば、いずれも極めて低レベル(64 ng/kg)から影響が認められ、胎生期でのTCDDの暴露は、雄の性行動の脱雄性化(=demasculinization,あるいは雌性化=feminization)を生ずるものと結論された。

EPAのLinda Birnbaumのグループは対象動物を別系統のラット(Long-Evans)とハムスターに拡張して Petersonらの実験を追試した。0.5 mg/kgを胎齢6~15日に投与されたLong Evansラットでは、精巣上体での精子数が、性成熟期で58%，成熟期で30%に減少していた他、程度は小さいながらも、生殖器・肛門間距離の短縮が投与量1 mgレベルでも観察されたので、Mablyらの見た現象はほぼ追認された形となった。尚、半数致死量がラット(25~60 mg/kg)に較べて約60倍ほど高いハムスター(>3000 mg/kg)では、同じ用量でのそうした所見は認められなかつた^{25,26)}。

[血漿テストステロン・雄性ホルモン・レセプター数などの変化] Petersonらのグループは、前記の結果に対して、同時に測定した血漿テストステロンに変化が見られたので、観察された雄の性行動の脱雄性化やLH分泌パターンの雌性化を、このテストステロンの変動で説明した。しかし先のEPAのLong-Evansラットではテストステロン値に変化は見られず、精細管、前立腺、精巣上体のアンドロジエン・レセプターの数でも変化がなかった^{25,26)}ので、発症機構についての両者の判断は乖離した結果となった。これに引き続いてBjerkeらによって発表された、妊娠経過中に0.7 mg/kg以上のTCDDを暴露して出生仔を観察した追試の結果は、Petersonらのそれに一致していた²⁷⁾。Bjerkeらはこの結果から胎内もしくは哺乳経路で仔にTCDDを暴露すると、生殖器官のテストステロンに対する反応性が変化すること、その結果オスの行動の一部脱雄性化(雌性化)が引き起こされるものとの推論を導きだ

した。

[前立腺重量への影響] 胎齢期の暴露や授乳による暴露を調べた Roman らによれば、この他に、前立腺重量への影響も認められたとしている²⁸⁾。

6. 1. 2. 雌性生殖器関連障害

つぎに雌性生殖器関連では、尿生殖管の異常、妊娠率の低下、および流産などの発生がおもな障害となっている。なお前述の通りアカゲザルを用いて観察された子宮内膜症に関する実験の評価は特異な位置を占めている。

[受胎率の低下] ダイオキシン類が、受胎率の低下、出生仔の低体重および性周期の変調などを惹起するという実験結果は Murray らによって系統的に研究された⁵⁾ (4. 2 参照)。これに前後して生殖・発生過程での影響に焦点を当てた試験ではないが、Kociba らは、13週ならび2年間にわたる0.001および0.01 mg/kg/day の条件でのTCDD 投与の結果を報告しており、それによればこれらの濃度での雌の生殖器系統への影響は見られていない^{4,29)}。実験の目的が異なるので Murray らと Kociba らの結果の正確な意味での比較は難しいが、ダイオキシン類の繁殖への影響が非常に強いことだけは確かである。こうした影響には投与期の胎齢によるクリティカル・ポイントがあることが知られているが、C57BL マウスの胎仔死亡の場合、胎齢6日にピークが見られる³⁰⁾。雄性生殖の項で先にも述べた Long - Evans ラットを用いた EPA の Gray らの実験における雌では、膣の開口遅延を含む尿生殖管 (urogenital tract) の形態異常が観察されている。かれらの結果では性周期や血中エストラジオール値に変化がないなど、用量レベルや個々の影響にやや差異が見られるが、齧歯類における妊娠・受胎率への影響が0.01 mg/kg/day 程度のレベルから観察されるという点では、ほぼ一致した結果であったと考えられる。

[流産の増加] 雌性生殖器関連の障害で次に顕著な影響は流産であるが、これは一般に齧歯類では観察が難しい。McNulty はアカゲザルで、1 mg/kg を9回に分けて投与したとき4匹中3匹で流産、0.2 mg/kg では4匹中1匹が流産であったことを報告している³¹⁾。これを支持する結果は複数あり、TCDD 50 ng/kg の飼料で7ヶ月飼育した雌で、8匹中6匹が妊娠、その内4匹が流産したこと、出産した2匹中1匹は未熟仔で1匹のみ正常出産であったこと^{15,32,33,34)}などが知られている。Bowman らの、5 ng/kg および25 ng/kg の低レベル投与の長期暴露実験では、25 ng/kg の TCDD を含む飼料で7ヶ月飼育した結果、健康な仔を産んだのは8匹中1匹のみであった。5 ng/kg の飼料では、8匹中7匹が妊娠し、うち6匹は健康な仔を、1匹は未熟仔を産んだが、こちらの方は対照群と有意差がなかった^{10,11)}。流産については25~50 ng/kg のレベルで確認されたと考えられる。

[子宮内膜症] 流産の惹起が比較的明瞭であるのに対し、子宮内膜症については、そのデータの信頼性の如何と相俟って、結果に対する判断が一定していない (4. 3章を参考)。一般に月経を伴わない齧歯類では内膜症は観察されない。アカゲザル (*Maccaca muratta*) を用いた研究の意義はここにあるが、前述のごとき実験内容及び評価に関する種々の問題点があり、事態は未だ流動的と云わねばならないが、ダイオキシンによる子宮内膜症の惹起の如何については、近く根本的な見直しを求められることになるものと思われる。

6. 1. 3. 甲状腺関連障害

内分泌障害性化学物質の障害標的臓器として甲状腺機能が注目される理由は、一個の内分泌臓器としての意義にどまらず、このものが両生類などで変態過程を制御することをはじめ、爬虫類での脱皮、鳥類での換羽など広範な生物影響をもつことが古くから知られていることによる。しかも次項に見るよう甲状腺ホルモンの哺乳綱での作用は高次系の発生に関与しており、次元を異にした重要性を持っているので、その双方を睨んで EPA ではこのもののダイオキシン類暴露下での消長を重視している。

多くの動物実験の結果が、TCDD の甲状腺機能での影響を示している³⁵⁾。従ってダイオキシンや PCB が、甲状腺ホルモンと3次元的に類似構造を含む^{36,37)}ことは、示唆的な事実と受け止められた。その後しかし、甲状腺ホルモン結合タンパク質や甲状腺ホルモン・レセプターとの競合性を直接示した報告は見られない。両者の関連は、ダイオキシンの UDP- グルクロノシルトランスフェラーゼ (GT) 活性の誘導を伴った、血漿中の T4 レベル減少の惹起³⁸⁾の報告に依拠している。その例としては、雌の Sprague-Dawley ラットに混餌で0.2~20 mg/kg の TCDD を13週間投与した Van-Birgelen らの実験があり、T4 は TCDD の用量に応じて減少し、UDP-GT との間に負の相関が見られた³⁹⁾。胎生期を観察した Seo らの実験に依れば、胎齢10-16日の Sprague-Dawley ラットに TCDD を経口投与して離乳時に T4 および UDP-GT を測定したところ、0.10 mg/kg/day で T4 の有意な減少(79.6%)とこれに相反する UDP-GT 活性の有意な増加が見られた⁴⁰⁾。

6. 1. 4. 神経系への影響

神経系は、内分泌障害性化学物質の障害標的臓器の中で、高次系への影響の一環として、筆者らが力点を置いている対象である。ここでいう高次系とは、内分泌系、免疫・血液系、および神経系を代表組織として、それらの作用は網の目状のネットワークをなし、相互に関連を持ちつつ、それぞれ生体の恒常性を維持する機能を持っている。胎生期や生後早期の塩素化芳香族炭化水素への暴露は、広範・多彩な影響を高次系へ起こす。こうした現象に対する考え方は、それらの暴露によって発生期の脳に、正常と異なった

内分泌感受性体系を作り上げられることにある^{41,42)}。TCDD の神経系への直接的な影響に関する研究は、まだ知見が乏しいが、このことは、次項の甲状腺ホルモンを介した影響との関連では確かなことと思われる。

TCDD の高次系への影響の中で、脳の発生と分化に果たす甲状腺ホルモンへの影響を介した障害ルートが注目されている。発生段階でのラットの知見では、甲状腺ホルモン (T4, T3) は、様々な神経細胞の分化やミエリン形成に関わっており⁴³⁾、さらにミエリン・タンパクの発現⁴⁴⁾や、NGF1-A の発現⁴⁵⁾を制御していることが知られている。その調節様式は周産期に確立し、この時期の一時的な甲状腺ホルモンのレベルの変化は、甲状腺機能の不可逆的な変化をもたらすものと推定されている⁴⁴⁾。TCDD による T4 レベルの低下は先に見たとおりであり、TCDD や PCB のそうした発生段階での脳における、甲状腺ホルモンの影響を介した神経発育への影響は、かなりの低レベルでも惹起される可能性があるということである^{46,47,48)}。

6. 2. 内分泌障害発生のメカニズム

ダイオキシン類の毒性が Ah レセプターを介して生ずることは、以前からかなりのデータで明らかになっていた⁴⁹⁾。ダイオキシン類のチトクローム系代謝酵素 P450 の誘導は、同酵素遺伝子の上流にある生体異物応答配列 (XRE: xenobiotic responsive elements) への結合を通じた発現調節に基づく⁵⁰⁾。口蓋裂などに代表される催奇形性との関連では、発生期における口蓋上皮での限局性の Ah レセプターの発現が観察されている。ダイオキシン類は、体液性と細胞性の免疫能の低下を引き起こすが、これとの関連では T リンパ球細胞に同受容体の発現が見出され⁵¹⁾、調節に何らかの機構が働いていることが想定されるに至っている。こうした背景にあってダイオキシンの内分泌障害機構も、Ah レセプターがエストロジエン・レセプター遺伝子の上流域の応答配列に Arnt (Ah-receptor nuclear translocator) とともに結合し、その発現を調節するという特異な作用様式を持つことが示されている⁵²⁾。

この程米国保健省から刊行された PCDD に関するモノグラフ¹⁴⁾によれば、Ah レセプターの役割についてさらに詳細が明らかになっている。ダイオキシン類感受性の異なることで知られている C57BL と DBA の各系統のマウスでも、受容体の結合親和性の違いが明らかになっており、そうした遺伝子多型が、ヒトを含む様々な種にある可能性が現実性をもって示唆されている。

6. 2. 1. アリール炭化水素 (Ah) レセプター

Ah レセプターの存在は古くから予測されていたようであるが、そのクローニングの報告は、1991-2年のことである^{53,54,55)}。このものの作用機構については、前項でも引用した Allan B. Okey らの総説⁴⁹⁾および、実際にクローニングに携わった藤井らの総説⁵⁶⁾にゆずることとし、ここ

での記載は概略にとどめる。Ah レセプターは、通常、熱ショック蛋白 (Hsp90) と結合している。ダイオキシン類やメチルコラントレンとの結合により、Hsp90 を解離し、Ah レセプター核内移行因子 (Ah Receptor Responsive Elements) と会合する。会合した AhR-Arnt のヘテロ・ダイマーは、DNA 上の XRE に結合する。この XRE は藤井らによって CYP450A1 遺伝子上に見出された CAC - GCNA/T をコンセンサス配列としており⁵⁰⁾、その後、CYP1A2、グルタチオン S-トランスフェラーゼなど種々の薬物代謝酵素の転写調節領域に見出されたとされている。ダイオキシンが薬物代謝酵素系の発現制御を行っている証拠はこのようにして発見された。興味深いことに、このコンセンサス配列は、Ah レセプターとの結合に際して、エストロジエン・レセプター遺伝子上位からとれた DRE (dioxin responsive elements)* と特異的・競争的であった⁵²⁾。Ah レセプター-Arnt 複合体は、ERE の制御領域のエンハンサーへのエストロジエン・レセプターの結合をブロックする^{57,58)}という。ダイオキシンのエストロジエン抑制作用の少なくとも一部を説明する所見と考えられる。

*DRE (dioxin responsive elements) とも呼ばれる。このドメインは、Ah レセプターと Arnt の両方のタンパクの結合によって、転写を亢進する機能をもつ^{59,60,61)}。

6. 2. 2. アリール炭化水素レセプター (Ah) のノック・アウト動物

Ah レセプターの発現が胎生期の口蓋上皮に観察され、口蓋裂の発生との関連が示唆されていることは前述の通りであるが、Ah レセプターの生体内でのリガンドは明らかでなく、この受容体は依然としてオーファン・レセプターである。このためノック・アウト動物の作製が精力的に行われ、現在までに 3 系統が報告されているが、生体内機能は依然として不明である。ダイオキシン類の内分泌障害機構が直接エストロジエンや他のホルモン・レセプターを介するものではなく、Ah レセプターを介するものと理解される根拠ともなった点は、Ah レセプターのノック・アウトマウスは、ダイオキシン投与の影響がその毒性を含めて殆ど観察されなかった事に基づいている⁶²⁾。Ah レセプターノック・アウトマウスは、ゴンザレスらの作製した最初のそれ⁶³⁾と、その後作製された 2 種^{64,65)}とで、相互に多少の表現型の違いがあるが、基本的には Ah レセプターを欠失した動物では、ダイオキシン投与による口蓋裂など知られる限りの奇形に関する影響も全く認められなかった。しかしながら、これらの欠失マウスに何らかの付加を与えた状態での影響の如何などさらに検討されなければならない事柄があるので、ダイオキシン類の Ah レセプターを介さない作用の存否については結論が出来ない。

6. 2. 3. Ah レセプターとダイオキシン類の共同作用

ダイオキシン作用に Ah レセプターを介さない未知の部

分がある可能性については前述の通りであるが、既知の Ah レセプターとダイオキシン類の共同作用について明らかな事項を整理してみる。

TCDD は Ah レセプターを介して、その作用を発現する。この他、Ah レセプターに対して親和性を持つ化合物には、PCBs, PCDDs, PCDFs などが知られている。TCDD が Ah レセプターを介して、その作用を発現するとき、そのタンパク質は、前述のようにリガンドによって賦活化される転写活性化因子(ligand activated transcriptional enhancer)として機能する⁶⁶⁾。Ah レセプターは、細胞質内でもチロシンのリン酸化など2次メッセンジャーの制御因子として作用している^{67,68,69)}。TCDD は Ah レセプターを介して核内エストロジエン受容体レベルを下げて、エストロジエン作用機構を抑制することが知られている^{70,71)}。そしてこれらに一連の相乗作用が加わる可能性を考慮に入れた研究も行われている^{72,73)}。さらに TCDD の反応は多方面に拡大し、Ah レセプターと結合して、転写促進因子として機能し、p450遺伝子やプラスミノーゲン・アクチベータ・インヒビター-2やインターリューキン 1 β などの炎症や分化に関与する遺伝子にも作用することが報告されている。

6. 3. Ah レセプターの生物活性の場における三次元定量的構造活性相関(3D-QSAR)

数多く認識されている内分泌障害性化学物質をそれらの化学構造の面から分類することの難しさの基礎となっている未解決の要因は、結局、内分泌ホルモン類似作用のメカニズムが明らかでないことにあり、その中でもこのことが受容体の機能研究のホットな領域に重なり合っていることがある⁷⁴⁾。同一物質がレセプターや補助因子(co-factors)の状態に応じてまったく異なる反応性を示すことの知られるレセプター・リガンド系にあっては、化学構造面から見た時、構造活性相関(SAR=structure activity relationship)が極く狭い範囲に限ってしか成立しないといったことが少なくない。そこでこの領域でも、単なる SAR ではなく、三次元(3D)空間での反応の定量性(quantitative)を考慮した 3D-QSAR で、しかもレセプターの反応性を変化させてレセプターとリガンドの双方の面から相互関係を検討する、生物活性の場(Comparative Biological Field Analysis)における 3D-QSAR によるダイオキシン類作用機構研究の機運が亢まっている^{75,76)}。もとより CBFA・3D-QSAR は、本来バイオ医薬品などの創薬領域に登場した、分子生物学と有機合成にまたがる創薬の為の新しい境界複合領域であるが、これが安全科学の領域で新たな役割を果たすことが求められつつあるということである。

米国 EPA は、ED-STAC(Endocrine Disruptor Screening & Testing Advisory Committee)なる委員会を作つて諮詢を行つた中で、酵母のレセプター結合試験によるプレ・スクリーニングを重視しているが、これはその答申にもあ

る通り、上記の三次元レベルでの構造活性相関情報が決定的に不足していることに対する抜本的な対策が必要との認識に立脚している。レセプターを様々に変異させてその三次元構造と、リガンドとなる化学物質の相互関係を求めるといった生物活性の場を考慮した 3D-QSAR を推進する研究母体は現在のところまだ整つてはいないが、筆者等の安全性生物試験研究センターでも此の領域に最重点をおいた研究の立ち上げに精力を注いでいるところである。

7. おわりに

WHO によるダイオキシン類の毒性再評価がなされ、TDI がこれまでより低い値に設定されたことは、規制面のみならず安全性評価の面でも、世界的に多大の影響を与えると思われる。規制面に関しては、今回の TDI がコブランナ PCB をも含むことから、日本では現状のままでは WHO の規制値を超える暴露量が想定される。また、今回の評価に際し、これまでの NOEL・NOAEL と不確実係数による方法から、薬物動態に基づいた体内蓄積量と不確実係数を用いたことが特記され、今後他の種々の化学物質安全性評価への波及効果が予想される。毒性データに関しては、TEF の数字に、より科学的正確さを与るために、他の多くのダイオキシン類についての in vivo 中期・長期実験が必要と思われる。このことは、IARC の発がん性評価において、データ量の問題でダイオキシン類の中で TCDD のみが対象となり、Group 1 とされたことからも分かる(ちなみに、IARC/EHC の評価文書は、これまで TCDD に関してのみであり、最近 PCDD・PCDF について作成中である)。アカゲザルの子宮内膜症に関しても、評価の定まらぬところがあり、現在進行中のカナダ保健省における実験結果が待たれる。

毒性発現機構については、Ah レセプターノックアウト動物の開発により、ダイオキシン類の生体影響が通常暴露レベルの影響の範囲では同レセプター依存性とみなすべき根拠が明らかになったことに触れた。このことにより、ダイオキシン類を巡る研究の今後の方向性と課題は一挙に明確になったように思われる。それはふたつ有り、先ず、同レセプターを介する様々なダイオキシン類ならびに PCBs の同レセプターとの結合・解離などの特性パラメータについての基本データ・ベースを整備することであり、次いで、その結合産物の転写活性調節物質としての種々の遺伝子に対する機能上の詳細を個々のダイオキシン類毎に明らかにすることである。そしてひいてはその両者を総合した、分子毒性学的な TEF を確立することである。従来用いてきた個体レベルの生物尺度による TEF の、そうした新しい TEF への移行は、将来のトキシコロジーに predictivity の高い飛躍的な科学的合理性を賦与する基盤を形成し、それが環境と生体に調和のとれた産業と生活を

切り開く為の力強いツールとして発展してゆくことを保証するものとなるに違いない。

謝　　辞

本稿の作成に際しての安全性生物試験研究センター・北條美伸、木村智秋さんの編集協力に深謝する。

文　　献

- 1) 生活環境調査研究事業「ダイオキシンの毒性発現機構に関する調査研究」報告書、平成4～6年度
- 2) 厚生科学研究費「ダイオキシンのリスクアセスメントに関する研究」中間報告書、平成7～8年度
- 3) 国立医薬品食品衛生研究所「化学物質のリスクアセスメント」編集委員会編、厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修：化学物質のリスクアセスメント、現状と問題点、薬業時報社、東京、pp.101-114(1997)
- 4) Kociba, R. J., Keyes, D. G., Beyer, J. E., Carreon, R. M., Wade, C. E., Dittenber, D. A., Kalnins, R. P., Frauson, L. E., Park, C. N., Barnard, S. D., Hummel, R. A., and Humiston, C. G.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **46**, 279-303 (1978)
- 5) Murray, F. J., Smith, F. A., Nitschke, K. D., Humiston, C. G., Kociba, R. J. and Schweta, B.A.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **50**, 241-252 (1979)
- 6) Rier, S. E., Martin, D. C., Bowman, R. E., Dmowski, W. P. and Becker, J. L.: *Fund. Appl. Toxicol.*, **21**, 433-441 (1993)
- 7) Coulston, F. and Kolbye, A. C. Jr.: *Regul. Toxicol. and Pharmacol.*, **20**, (1) Part2 of 2 Parts, S960-S1029 (1994)
- 8) Environmental Protection Agency (EPA), Health Assessment Document for 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and related compounds. (1994)
- 9) WHO Summary Report of "Consultation on Tolerable Daily Intake from Food of PCDDs and PCDFs" EUR/ICP/PCS 030 (S) 0369n (1991)
- 10) Bowman, R. E., Schantz, S. L., Gross, M. L. and Ferguson, S. A.: *Chemosphere*, **18**, 235-242 (1989a)
- 11) Bowman, R. E., Schantz, S. L., Weerasinghe, N. C., Gross, M. L. and Barsotti, D. A.: *Chemosphere*, **18**, 243-252 (1989b)
- 12) ダイオキシンリスク評価検討会報告書、環境庁(1997)
- 13) Kimbrough, R. D., Falk, H., Stehr, P. and Fries, G. F.: *J. Toxicology and Environmental Health*, **14**, 47-93 (1984)
- 14) Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR): Toxicological Profile for Chlorinated dibenzo-p-dioxins (Update, Draft for Public Comment) (1997)
- 15) Schantz, S. L., Barsotti, D. A., Allen, J. R.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **48**, A180, (1979)
- 16) Burleson, G. R., Lebrec, H., Yang, Y. G.: *Fund. Appl. Toxicol.*, **29**, 40-47 (1996)
- 17) DeCaprio, A. P., McMartin, D. M. and O'Keefe, P. W.: *Fundam. Appl. Toxicol.*, **6**, 454-463 (1986)
- 18) Nisbet, I. C. T. and Paxton, M. B.: *Am. Stat.*, **36**, 290-298 (1982)
- 19) Health Effects Assessment for 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. (US) EPA, EPA/540/1-86/044 (1984)
- 20) Environmental Protection Agency : "EPA Re-evaluating Dioxin, Science advisory board's review of EPA's reassessment of dioxin and dioxin-like Compounds. EPA-SAB-EC-95-021", 1-98 (1995)
- 21) Jirasek, L., Kalensky, J., Kubec, K., Pazderova, J. and Lukas, E.: *Hautarzt*, **7**, 328-333 (1976)
- 22) Mably, T. A., Moore, R. W. and Peterson, R. E.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **114**, 97-107 (1992a)
- 23) Mably, T. A., Moore, R. W. and Peterson, R. E.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **114**, 108-117 (1992b)
- 24) Mably, T. A., Moore, R. W. and Peterson, R. E.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **114**, 118-126 (1992c)
- 25) Gray, L. E. Jr., Kelce, W. R., Monosson, E., Ostby, J. S. and Birnbaum, L. S.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **131**, 108-118 (1995)
- 26) Gray, L. E. Jr. and Ostby, J. S.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **133**, 285-294 (1995)
- 27) Bjerke, D. L., Sommer, R. J., Moore, R. W. and Peterson, R. E.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **127**, 250-257 (1994)
- 28) Roman, B. L., Sommer, R. J., Shinomiya, K. and Peterson, R. E.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **134**, 241-250 (1995)
- 29) Kociba, R. J. and Schwetz, B. A.: *Drug. Metab. Rev.*, **13**, 387-406 (1982)
- 30) Couture, L. A., Harris, M. W. and Birnbaum, L. S.: *Fundam. Appl. Toxicol.*, **15**, 142-150 (1990)
- 31) McNulty, W. P.: *Environ. Health Perspect.*, **60**, 77-88 (1985)
- 32) Allen, J. R., Barsotti, D. A., Van, Miller, J. P. et al.: *Food Cosmet. Toxicol.*, **15**, 401-410 (1977)
- 33) Allen, J. R., Barsotti, D. A., Lambrecht, L. K. et al.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **320**, 419-425 (1979)
- 34) Barsotti, D. A., Abrahamson, L. J., Marlar, R. J. and Allen, J. R.: *J. Reprod. Fertil.*, **59**, 15-20 (1980)
- 35) Neal, R. A., Beatty, P. W. and Gasiewicz, T. A.: *Endocrinology*, **101**, 292-296 (1979)
- 36) McKinney, J. D., Chae, K., Oatley, S. J. and Blake, C. C.: *J. Med. Chem.*, **28**, 375-381 (1985)
- 37) McKinney, J. D., Fawkes, J., Jordan, S., Chae, K., Oatley, S., Cleman, R. E. and Briner, W.: *Environ. Health Perspect.*, **61**, 41-53 (1985)
- 38) Sewall, C. H., Flagler, N., Vanden-Heuvel, J. P., Clark, G. C., Tritscher, A. M., Maronpot, R. M. and Lucier, G. W.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **132**, 237-244 (1995)
- 39) Van-Birgelen, A. P., Smit, E. A., Kampen, I. M., Groeneveld, C. N., Fase, K. M., Van-der-Kolk, J., Poiger, H., Van-den Berg, M., Koeman, J. H. and Brouwer, A.: *Eur. J. Pharmacol.*, **293**, 77-85 (1995)
- 40) Seo, B. W., Li, M. H., Hansen, L. G., Moore, R. W., Peterson, R. E. and Schantz, S. L.: *Toxicol. Lett.*, **78**, 253-262 (1995)
- 41) MacLusky, N. J., Brown, T. J., Schantz, S., Seo, B. W. and Peterson, R. E.: *Toxicol. Ind. Health*, **14**, 185-208 (1998)
- 42) Gray, L. E. Jr. and Ostby, J.: *Toxicol. Ind. Health*, **14**, 159-184 (1998)

- 43) Pasquini, J. M. and Adamo, A. M.: *Dev. Neurosci.*, **16**, 1-8 (1994)
- 44) Rodriguez-Pena, A., Ibarrola, N., Iniguez, M. A., Munoz, A. and Bernal, J.: *J. Clin. Invest.*, **91**, 812-818 (1993)
- 45) Pipaon, C., Santos, A. and Perez-Castillo, A.: *J. Biol. Chem.*, **267**, 21-23 (1992)
- 46) Porterfield, S. P.: *Environ. Health Perspect.*, **102**, 125-130 (1994)
- 47) MacLusky, N. J., Brown, T. J., Schantz, S., Seo, B. W. and Peterson, R. E.: *Toxicol. Ind. Health*, **14**, 185-208 (1998)
- 48) Sher, E. S., Xu, X. M., Adams, P. M., Craft, C. M. and Stein, S. A.: *Toxicol. Ind. Health*, **14**, 121-158 (1998)
- 49) Okey, A. B., Riddick, D. S. and Harper, P. A.: *Toxicol. Lett.*, **70**, 1-22 (1994)
- 50) Fujisawa-Sehara, A., Yamane, M. and Fujii-Kuriyama, Y.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 5859-5863 (1988)
- 51) Lawrence, B. P., Leid, M. and Kerkvliet, N. I.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **138**, 275-284 (1996)
- 52) White, T. E. and Gasiewicz, T. A.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **193**, 956-62 (1993)
- 53) Hoffman, E. C., Reyes, H., Chu, F-F. and Sander, F.: *Science*, **252**, 954-958 (1991)
- 54) Ema, M., Sogawa, K., Watanabe, N., Chujo, Y., Matsushita, N., Gotoh, O., Funae, Y. and Fujii-Kuriyama, Y.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **184**, 246-253 (1992)
- 55) Burbach, K. M., Poland, A. and Bradfield, C. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 8185-8189 (1992)
- 56) 藤井義明: ファルマシア, **34**, 431 - 435 (1998)
- 57) Krishnan, V., Porter, W., Santostefano, M. et al.: *Mol. Cell Biol.*, **15**, 6710-6719 (1995)
- 58) Safe, S. H.: *Pharmacol. Ther.*, **67**, 247-281 (1998)
- 59) Fisher, J. M., Wu, L., Denison, M. S.: *J. Biol. Chem.*, **265**, 9676-9681 (1990)
- 60) Jones, P. B. C., Durrin, L. K., Galeazzi, D. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 2802-2806 (1986)
- 61) Neuhold, L. A., Gonzalez, F. J. and Jaiswal, A. K.: *DNA*, **5**, 403-411 (1986)
- 62) Fernandes-Salguero, P. M., Pineau, T., Hilbert, D. M., McPhail, T., Lee, S. S., Kimura, S., Nebert, D. W., Rudikoff, S., Ward, J. M. and Gonzalez, F. J.: *Science*, **268**, 722-726 (1995)
- 63) Fernandez-Salguero, P. M., Hilbert, D. M., Rudikoff, S., Ward, J. M. and Gonzalez, F. J.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **140**, 173-179 (1996)
- 64) Schmidt, J. V., Su, G. H., Reddy, J. K., Simon, M. C. and Bradfield, C. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 6731-6736 (1996)
- 65) Mimura, J., Yamashita, K., Nakamura, K., Morita, M., Takagi, T. N., Nakao, K., Ema, M., Sogawa, K., Yasuda, M., Katsuki, M. and Fujii-Kuriyama, Y.: *Genes Cells*, **2**, 645-654 (1997)
- 66) Birnbaum, L. S.: *Environ. Health Perspect.*, **102** (Suppl.9), 157-167 (1994)
- 67) Matsumura, F.: *Biochem. Pharmacol.*, **48**, 215-224 (1994)
- 68) Peattie, D. A., Haring, M. W., Fleming, M. A., DeCenzo, M. T., Lippke, J. A. and Livingston, D. J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 10974-10978 (1992)
- 69) Alnemri, F. S., Fernandes-Alnemri, T., Nelki, D. S., Dudley, K., Dubois, G. C. and Litwack, G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 6839-6843 (1993)
- 70) Safe, S., Astroff, B., Harris, M., Zacharewski, T., Dickerson, R., Romkes, M. and Biegel, L.: *Pharmacol. Toxicol.*, **69**, 400-409 (1991)
- 71) Lucier, G. W.: *Environ. Toxicol. Chem.*, **10**, 727-735 (1991)
- 72) Abbott, B. D., Perdew, G. H., Buckalew, A. R. and Birnbaum, L. S.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **128**, 138-150 (1994)
- 73) Birnbaum, L. S., Harris, M. W., Miller, C. P., Pratt, R. M. and Lamb, J. C.: *Teratology*, **33**, 29-35 (1986)
- 74) Carson-Jurica, M. A., Schrader, W. T. and O'Malley, B. W.: *Endocrine Rev.*, **11**, 201-220 (1990)
- 75) McKinney, J. D. and Waller, C. L.: *Environ. Health Perspect.*, **102**, 290-297 (1994)
- 76) McKinney, J. D. and Waller, C. L.: *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.*, **1**, 27-58 (1998)

薬用植物・生薬の利用とその安全性

佐竹元吉[#]

The Utilizatain and Safety of Medicinal Plants and Crude Drugs

Motoyoshi Satake[#]

Recently, herbal remedy and health caring food are widely used throughout the generation. These main plant materials have been characterized and classified into 5 categories, by the Ministry of Health and Welfare (MHW), Japanese Government, in 1971, which include 3 medicine divisions and 2 food divisions. These categories, having only limited number of plants, were quite difficult to classify the newly imported plant materials. In order to solve this problem, each category was updated to include new herbal materials in March 1998.

Kampo medicines are Japanese traditional medicines, which has been used for the patients mostly by doctors of western medicine and 3 kinds of Kampo prescription had been reevaluated by the drug reevaluation system of Japan. But, along with the expanding consumption of the Kampo medicines in the clinical treatments, several side effects of the Kampo medicines has recently been reported by the collection of adverse reaction data of MHW, these side effects are important signals for believing the safety of natural drugs.

The chapter I is definition of medicinal plant and crude drugs, and chapter II is reported of WHO guidelines for the traditional medicines. Chapter III is 4 section; 1. safety of the medicinal plants and crude drugs is included the poisonous plant and the side effect of Kampo medicines, 2. the pesticide for the crude drugs in Japanese Pharmacopoeia, 3. limited test of contamination of microorganisms, 4. Identification of medicinal plant names. Chapter IV is the definition of drugs and food. The chapter V is the drugs type materials used in young génération for hallucinogenic or sexual purpose. Chapter VI is the stance to research work for the new drugs from plant gene resources in the world.

Keywords: kampo medicines, medicinal plant, crude drugs, safety, pesticide

はじめに

我々の日常生活の中で、かつては家庭生活などで自然に身についていた健康な生活習慣が、急速な核家族化や多国籍文化の導入により、個人の判断で自分で健康を守る情報をいれ、それに基づき、日常生活を送らなければならなくなっている。特に、身の回りの薬用植物の知恵はいつのまにか非日常的なものとなってきている。しかし、化学医薬品では対応が出来ない一部の疾患においては、日本の伝統的医薬品である漢方薬が使われてきている。これらの漢方薬の有効性・安全性に関して、3種類の漢方エキス製剤が国が行った医薬品の再評価で有用であると評価された。しかし、漢方薬が広く使われるにつれ、漢方薬の副作用の報告が集まりだした。また、生薬製剤の副作用としては、

欧米で使われている中国の生薬製剤によるもので、ベルギーでの腎臓障害であるが¹⁾、同様な中国の製剤の副作用が日本でも起こっている^{2,3)}。

最近までは薬用植物・生薬が国民の健康福祉増進のために中心的役割を果たす程ではなく、厚生行政の中では行政通知はあまり見られなかったが、昨年末と今年の3月に二つの通知が出された。一つは平成9年12月26日付の食品化学課長通知で「サイリウム種皮、サイリウムシードガム等サイリウムを含む食品又は添加物によるアレルギーの報告について」⁴⁾であり、もう一つは厚生省医薬安全局長名の「いわゆるハーブ類の取り扱いについて」⁵⁾である。前者はダイエットを目的とするもので、植物性のものは安全と考えて多用すると危険があることへの警鐘であり、後者は政府の規制緩和推進計画（平成9年3月閣議決定）に基づき、食生活の多様化により、医薬品としての取り扱いの範囲を明らかにしたものである。

これらのこととは薬用植物が人類の健康に有用な財産とし

[#] To whom correspondence should be addressed: Motoyoshi Satake; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158, Japan; Tel:03-3700-1141; Fax:03-3700-0165; E-mail: satake@nihs.go.jp

て再認識され、幅広く利用され始めたことの反映だと思われる。

そこで、I. 薬用植物とは、II. 薬用植物・生薬に関するWHOの動き、III. 生薬・薬用植物の安全性、IV. 食品と医薬品の区分、V. いわゆる合法ドラッグの乱用、VI. 薬用資源植物の探索について述べる。

I. 薬用植物とは

(1) 世界の薬用植物の数

薬用植物は人類の営みのあるところには必ず存在するので、その数は膨大なものと思われる。世界各国の薬用植物の数はおよそその目安として、分布種約300,000種の約1割の30,000種が薬用と言える。例えば、日本では高等植物が約5,500種でその中の薬用植物は400種、アメリカでは全植物数が232科2,352属約15,000種で薬用は118科531属1,288種である。世界の自然の宝庫アマゾンにはその16%が分布しているので、約8,000種の薬用植物があつても不思議ではない。Harvard大学の民族植物学者 R. E. Schultes(1990)の調査によると北西部アマゾン(ペルー、エクアドル、コロンビア、ブラジル)だけでも、145科1,516種類の薬用植物があると報告している⁶⁾。

当所の薬用植物栽培試験場の植物目録には1987年の調査によると197科2,857種4,977系統が記録されている⁷⁾。

(2) 世界の薬用植物と医学

伝統薬物を大きく2つに分けてみると、一つは体系化された医学での薬物ともう一つは体系化された医学の無い地域や体系に含まれていない薬物で、その植物は個々に伝承され、現在まで受け継がれている。

前者は世界の四大文明発祥の地で使われてきた薬用植物で、エジプト文明及びメソポタミヤ文明(B.C.3,000年頃から)から、ギリシャ、ローマ文明を経由して西洋医学やアラブ医学に発展して、そこで用いられた薬用植物でハーブとされるカミツレ、ラベンダー、ゲンチアナ等である。インダス文明(B.C.2,500年頃より)はアユルベーダ医学となり、インドジャボク、セイロンケイヒ等多くの薬用植物が用いられている。中国文明(B.C.2,000年頃より)は漢方医学(中医学)に発展して、多くの薬用植物、例えば、ダイオウ、ケイヒ、シャクヤク、カンゾウ等が治療に用いられている。

後者は文明があったが文字文化がなく、薬用植物に関する情報が一部しか伝承されていないため、新大陸のマヤやインカ文明では薬物名だけが民間薬として残っている。大航海時代に多くの文明が入り込み、独自の治療体系となつたインドネシアの民間薬ジャムウ、その他、自分たちの経験から多くの薬用植物が見いだされ使われてきた。アマゾンのインディオの薬草、アフリカの民間薬などこれらに関する成書⁸⁾ African Ethnobotany が出版されている。日本

のセンブリやゲンノショウコなどの民間薬も後者に属する。

(3) 文明の交流と薬用植物

エジプト文明及びメソポタミヤ文明(B.C.3,000年頃から)で用いた薬はアロエ、ケシ、ゲンチアナ、ローズマリー、カミツレ、センナ、トリカブト、ヒマシ油、ヤナギなどがある。インダス文明(B.C.2,500年頃より)に用いた薬にはシタン、ニッケイの類があり、中国文明の漢方医学ではダイオウ、カンゾウ、ブクリヨウなどが用いられた。中国の医学は日本には6~7世紀に導入され、和漢医学として江戸時代に完成された。和漢薬として知られている、オウレン、トウキ、センキュウなど国内の植物を医学体系に用いるようになった。

文明の交流を表した例として、不老長寿の薬と思われたザクロ(最近までは駆虫剤として使われていた)がある。ザクロはペルシャ原産で、エジプトで栽培され、ギリシャ・ローマを経て中国(紀元前2世紀頃)に渡り、平安時代に渡来した植物である。アロエやウイキョウもギリシャ・ローマを経由して、唐の時代に中国へ伝えられた。

(4) 中国とアジアの薬用植物

中国の薬の歴史は古く、殷の遺跡の甲骨文に記載があり、馬王堆の遺跡(B.C.160年)からは52種類の病気に242種類の薬物を使用した記載が見られる。また、紀元1~2世紀頃に作られたという、神農本草經には365品目の薬物が上中下の3種類に区別して記載されている。上薬(120品目)は無毒で滋養強壮に用い、中薬(120品目)は発病を抑え、下薬(125品目)は有毒で病気の治療に用いるとされている。現在、中国で薬用植物とされている種類は約5,000種と言われている。

1996年の日本でのアジア行政官研修の伝統医学に関するカントリーレポートによると、インドネシアでは5,840種類、ラオスでは200種類、モンゴルでは400~500種、ベトナムでは中国から導入された163種にベトナム固有のも238種を加えた1,869種類が用いられている。ミャンマーでは伝統薬典に48处方が記載されている。

(5) 化学医薬品と薬用植物

化学医薬品と言われるものの中にはモルヒネやコデインのように、植物(ケシ)の成分がそのまま使われているものもあるが、植物成分の構造からヒントを得た医薬品も多数挙げられる。

例えば、ヤナギの樹皮は、ギリシャ本草⁹⁾では腹痛やリューマチの治療薬であり、中国の神農本草經では下薬で、歯痛の薬であったが、ヨーロッパでマラリヤの治療薬・キナ皮が入手困難なとき、代用としてこれを用いたところ、解熱作用が見られた。この薬効成分の解明は1827年、Goodmanによりサリシンとして構造が決まり、1899年にDreserにより、この化合物からアセチルサルチル酸が合成され、現在でもアスピリンの名前で広く用いられている。

しかし、天然物は構造が複雑なために、合成よりは天然物に頼っているものがまだまだある。下剤に用いるセンノシドはセンナの葉の成分で、アントラキノンが2個結合した構造をしている。合成されていないニチニチソウの成分ビンクリスチンは小児ガンの治療薬として知られている。簡単な化合物、例えば、マオウ（麻黄）の成分であるエフェドリンは合成されている。

II. 薬用植物・生薬に関するWHOの動き¹⁰⁾

WHOは1978年のアルマータ宣言で、各国の医薬品行政に有用性が証明された伝統薬（traditional remedy）を取り入れようと提唱した。第4回（東京、1987年）及び第5回（パリ、1989年）国際医薬品行政官会議（ICDRA）で国際的に取引される伝統薬の規制に関する検討会議が持たれ、第6回のオタワ会議でガイドラインが作成された。これに基づいて、品質及び有用性に関する4つのガイドラインが作成された。

(1) 生薬及び生薬製剤(Herbal Medicines)の品質、安全性、有効性及び実際の使用に関する評価のためのガイドライン(WHO, 1991, Guidelines for the Assessment of Herbal Medicines, Assessment of Quality, Safety, and Efficacy and Intended Use)

A) 薬物としての評価(Pharmaceutical assessment)は各国の薬局方の各条に収載されているものを重視し、製品にするためには生薬および生薬製剤に関してもGMPに従わなければならないとされている。

a) 生薬に関しては生薬の学名を正確に同定し、利用部位を明らかにして、特徴を記載すること。もし活性化合物が明らかなときはそれを記載すること。証拠となる標本は同定した分類学者の名前を記載して、少なくとも10年間は保存すること。ロット番号は記載すること。これは製品ラベルに記載すること。

b) 生薬製品原料に関しては詳細にその製造方法を記載しなくてはならない。品質を明らかに確認する方法を記載しなければならない。その方法がないときにはクロマトパターンでもよい。

c) 最終製品に関しては賦形薬等を詳細に記載すること。生薬が確認できる方法を記載すること。確認する方法がないときにはクロマトパターンでもよい。最終製品は服用する形に関する一般的な規則に従うこと

d) 安定性に関しては、市場に出したときの製品の物理的・化学的な安定性を貯蔵条件で試験して、自己管理法を確立すること。

B) 安全性の評価 (Safety assessment) に関しては、

a) 毒性研究を可能であれば評価法に取り入れるべきである。

b) 経験に基づく安全性の根拠としては、長い間使用し

て安全性の評価がされているということが原則となる。

C) 有効性と実際の使用に関する評価は、有効性評価の臨床試験、薬理試験及び関連ある文献のまとめを作り、試験結果と伝統的な使い方等の文献を参考にして、評価を行う。

- a) 活性は活性成分の薬理と臨床の効果を記載する。
- b) 適応症とするための根拠は、医師や伝統薬を用いる治療師から報告された個々の経験を考慮すべきである。
- c) 配合製品は古いものと新しいものとの配合の相違で評価すべきである。
- d) 消費者のための製品の情報は、製品や梱包にラベルを正確につけること。
- e) 製品の有用性は、宣伝やその他の啓蒙活動を通じて、医療関係者や一般の人々へ堅実に伝えるべきである。

(2) 生薬の品質確保に関するガイドライン

(Quality control methods for medicinal plant materials, WHO, July, 1992)

各国の薬局方生薬の一般試験法を参考にして、下記の17項目にまとめあげられたものである。

A) 品質試験を行うときの 試料の扱い方, B) 異物の鑑別法, C) 外部形態の観察及び顕微鏡観察法, D) 薄層クロマトグラフ法, E) 灰分の測定法, F) エキス含量測定法, G) 水分と揮発性物質の含量測定法, H) 精油含量測定法, I) 苦味の測定測定法, J) 溶血性の測定法, K) タンニンの測定法, L) 膨脹指数, M) 気泡指数, N) 残留農薬の試験 (42種類の農薬を対象に), O) 硫素と重金属の試験法, P) 微生物の検出法, Q) 放射線物質の汚染について記載されている。

(3) 生薬の安全性と有効性評価のための研究用ガイドライン (Research guideline for the safety and efficacy evaluation of herbal medicines WHO, Oct. 1992)

このガイドラインは、効果が科学的に裏付けされた生薬・薬用植物を医療に使用するための安全性や有効性を検討するためのもので、各国の生薬・薬用植物を用いた医療に対する法律や医療での取り扱いを考慮して作成し、伝統的に用いられてきた技術や文献資料を参考にして、1) 材料の品質, 2) 薬物動態学的及び薬理学的研究方法, 3) 毒性試験法 (急性, 慢性, 局所, 特殊毒性試験, 4) 臨床試験の検討方法 (伝統医療を参考にして、各フェイズで行う) によって、安全性や有効性を評価するものである。

(4) 薬用植物・生薬の使用を普及させるためのガイドライン¹¹⁾ (Guideline for Appropriate Use of Herbal Medicines) (WHO, Dec. 1997)

WHO西太平洋事務局管内での薬用植物・生薬を住民の健康増進のためにWHOと政府が積極的に行動するための方法を示した。この中で、薬用植物・生薬の安全と有効性を考慮して普及することや薬用植物資源の保護と保存に関

しても勧告している。

WHOでは各国が使っている薬用植物の内で、世界的に共通な植物について、モノグラフを作成中である。

III. 生薬・薬用植物の安全性

(1) 薬用植物の毒成分及び漢方薬の副作用

薬用植物・生薬は多くの人々が利用し、有効で、安全なものが残されてきたと考えがちである。しかし、薬用植物はその調製加工方法（修治）で毒性を減じて、服用するものもあり、一概に薬用植物は安全とはいえない。生薬の弱毒化の例として、トリカブトの生薬（附子）の修治されたものに塩附子及び炮附子がある。トリカブトの毒性成分アコニチン類はジエステル体で、強い毒性を示す。しかしこの化合物が加水分解されるとその毒性は約1/100に弱毒化される。この加水分解方法に、塩附子及び炮附子の伝統的な塩漬けと薰製がある。有毒成分のmesaconitineの毒性は腹腔内投与では0.2-0.3 mg/kgであるが、アセチル基が加水分解されたbenzylmesaconitineでは40-50 mg/kgで、ベンゾイル基が加水分解されたmesaconineでは300-330 mg/kgと弱毒化されている¹²⁾。（Fig. 1）（Fig. 2）

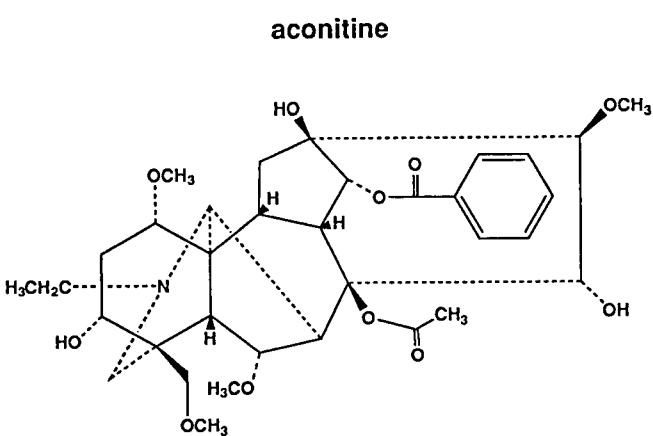


Fig. 1

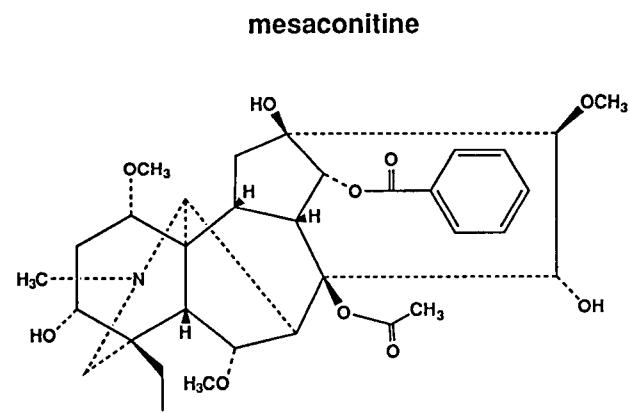


Fig. 2

ワラビの発ガン物質の解明は生薬部の大きな課題であり、その発ガン物質の母核の構造pterosinを明らかにし¹³⁾、その後、広野らによりワラビの発ガン物質ptaquilosideが発見された¹⁴⁾。ptaquilosideはワラビに約0.05-0.06%含まれ、酸、アルカリ、熱に弱い化合物で、灰汁抜き等の熱加工や塩漬け等の伝統的な調理方法で、3員環が開裂し、糖が外れて、無毒化する。（Fig. 3）

ptaquiloside

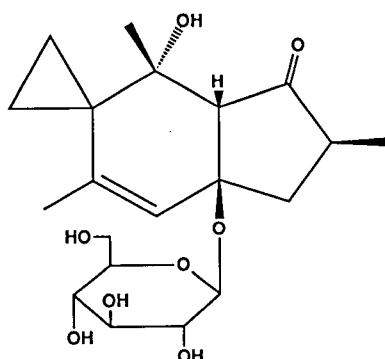


Fig. 3

漢方薬の副作用として、漢方薬の中で最も多く使われている処方である小柴胡湯の副作用の情報が厚生省に寄せられている。その副作用は単独又はインターフェロン- α の併用による間質性肺炎である。その他、配合されている甘草による偽アルドステロン症も懸念されている。この分野の安全性に関しては、漢方薬と複合された成分との相互作用も考えられるので、更なる基礎的な研究が必要である。

植物の毒性についてはHarboneの植物毒辞典が出版されている。この中で、急性毒性（LD₅₀値）が記載されている植物を表にまとめた¹⁵⁾。（Table 1）

(2) 生薬中の残留農薬¹⁶⁾

生薬の純度試験のうち、残留農薬について検討を行い、5品目にDDT類及びBHC類の規定を設定した。これまで生薬中の残留農薬についての分析結果の文献ではDDT類及びBHC類の残留の問題の指摘があった。局方生薬の残留農薬の有無について、検討を行ったところ上記5品目に関して一部に含有が認められたので、改正を行った。一方、WHOは薬局方の国際化を進めており、1992年、生薬の品質管理としてキャピラリーカラムを用いるガスクロマトグラフ（GC）法による各種残留農薬分析法を発表し、ヨーロッパ薬局方は1992年のPharneuropa（ヨーロッパ薬局方フォーラム）で生薬類（茶、スパイス、アロマティク・ハーブ）について暫定的な農薬の残留許容量を掲載している。

Table 1-1 List of Toxicants and Medicinal Plants 15) J.B.Harborne & H.Baxter; Dictionary of Plant toxins, Jon Wiley & Sons (1996)

Family name	Scientific name	chemical compound	LD50, lethal dose in human or animal,	Refarences
Amaryllidaceae ヒアガソバ科	<i>Galanthus</i> sp. <i>Haemanthus kalbreyeri</i> <i>Haemanthus montanus</i> <i>Lycoris</i> sp.	galantamine narciasine montanine radiata lycorine	11mg/kg,s.c., mice 5mg/kg, s.c., mice 42mg /kg,i.v., dog 41mg /kg, dog	Barton,D.H.R,J.Che.Soc.,1962,806 Fuganti,C., J.Chem.Soc. Chem.Commun.1972,239 Inubushi,Y.J.Orga.Chem.,1960,25,2153 Brossi,A.,The Alkaloids,1985,25,1,Academic Press
Apocynaceae キヨウチクツバ科	<i>Strophanthus gratus</i> <i>Strophanthus gratus</i> <i>Strophanthus kombe</i>	ouabain ouabain cymarin	0.11mg /kg,i.v., mice 14mg /kg,i.v., rat 0.095mg/kg in cat	Hauschchild-Rogat,P.,Helv.Chim.Acta,1967,50,2299 Hauschchild-Rogat,P.,Helv Chim. Acta,1967,50,2299 Wyss,E., Helv.Chim.Acta,1966,43,664
Aristolochiaceae ウマノスズクサ科	<i>Aristolochia clematitis</i>	aristololic acid	203.4mg/kg, p.o., male rat	Mengs,U.; Archiv of toxicology, 1987, 59,328
Asclepiadaceae ガガイモ科	<i>Asclepias eriocarpa</i> <i>Asclepias labriformis</i> <i>Calotropis procera</i> <i>Calotropis procera</i> <i>Gomphocarpus fruticosus</i> <i>Asclepias curassavica</i>	eriocarpin labriformin calacton ucharidin gofruside asclepin	6.5mg/kg, i.p., mice 9.2mg/kg, i.p., mice 0.12 mg/kg, cat 1.4mg /kg, i.v., cat 0.19mg/kg, cat 0.236mg/kg, i.v., cat	Chung,H.T.A.,J.Chem.soc.Perkin trans.1,1980,3169 Fonseca,G.,J.Nat.Prod.,1991,54,860 Al-Said, M.,S.,Phytochemistry, 1988,27,3245 Bruschweiler,F.,Helv.Chim.Acta,1969,52,2276 Hunger,A.Helv Chim Acta., 1952,35,1073 Patnaik, G.K.,Arzneim.,Forsch.,1978,28,1130
Cactaceae サボテン科	<i>Lophophora williamsii</i>	lophophorine	15-20mg /kg,i.v., rabbit	Spath,E.,Ber.Dtsch.Chem,Ges,1935,68,501
Compositae キク科	<i>Atractylis gummifera</i> <i>Heliumum autumnale</i> <i>Hymenoxys odorata</i> <i>Tetradymia glabrata</i>	atractyloside helenalin hymenoxon tetradymol	431mg /kg , rat 92mg/kg,p.o., male mice 75mg/kg,/kg, p.o., sheep 250mg/kg, o.p. , mice	Saiti, R., Attractyloside; Chemistry Biochemistry and Toxicology, 1978, 33, Piccin Editore,Padua, Italy. Lee,K.H.,J.Pharm.Sci.,1977,55,1194 Petersen,R.C.,J.Chem.Soc.Perkin Trans 2. 1976,1399
Convolvulaceae ヒルガオ科	<i>Convolvulus arvensis</i> <i>Ipomeoea batatas</i>	pseudotropine ipomeamarone	164mg/kg,lethal dose in mice 200mg/kg, i.p., mice	Jennings,P.W.,J.Org.Chem.,1974,39,3392 Todd,F.G.,Phytochemistry,1995,39,301
Coriariaceae ドクツツジ科	<i>Coriaria japonica</i>	coriantrytin	3ng/kg,i.p. in mice	Birch,A.J.,Chem.Ind.(London),1954,902 Okuda,T., Tetrahedron Letter,1965,4191
Cruciferae アブラナ科	<i>Erysimum heliticum</i>	helveticoside	0.104mg /kg, i.v., cat	Nagata,W., Helv.Chim.Acta,1957,40,41
Cucurbitaceae ウリ科	<i>Cucurbita hookerii</i>	cucurbitacin A	0.7mg/kg, rabbit	Lavie,D., Fortschr. Orga. Naturst., 1971,29,307
Ephdraceae マオリ科	<i>Ephedra sinica</i>	<i>l</i> -ephedrine	350mg/kg,i.p., mice	Martindale,The Extra Pharmacopoeia, 30th edn.1993,1244, The Pharmaceutical Press
Ginkgoaceae ツツジ科	<i>Ginkgo biloba</i>	grayanotoxin I	1.31mg/kg, i.p., mice	Kakisawa,H., Tetrahedron,1965,21,3091
Ericaceae イチヨウ科	<i>Rhododendrons</i> pp.			Wada,K.,Chem.Pharm.Bull.1988,36,1779
Leguminaceae マメ科	<i>Erythrina americana</i> <i>Cytisus scoparius</i> <i>Laburnum anagyroides</i> <i>Abrus precatorius</i>	β -erythroidine cytisine cytisine abrin	29.5mg/kg, i.p., mice 18mg/kg, mice 18mg/kg in mice 2mg/kg, mice	Aguilar,M.,Phytochemistry,1981,20,2061 Govindachari,T.R., J.Chem. Soc., 1957,3839 Govindachari,T.R., J.Chem. Soc., 1957,3839 Oliver-Bever,B.E.P.,Medicinal Plants in Tropical West Africa, 1986,220, CUP

Table 1-2 List of Toxicants and Medicinal Plant

Family name	Scientific name	chemical compound	LD50, lethal dose in human or animal,	References
Liliaceae ユリ科	<i>Convallaria majalis</i> <i>Bowiea volubilis</i> <i>Veratrum alba</i>	convallatoxin bufadienoide protoveratrine-A	0.3mg/kg, lethal dose,frog 0.12mg/kg, cat 20mg/kg,lethal dose in man	keblka,W, Phytochemistry, 1974,13,1805 Katz,A., Helv. Acta, 1953, 36, 1417 Kupchan,S.M.J.Am.Chem.,1960,82,2252
Loganiaceae マチン科	<i>Strychnos</i> spp.	brucine	200mg/kg, lethal dose in human	Robinson,R, prog. Org.Chem,1952,1,1
Malpighiaceae キントラノオ科	<i>Banisteria caapi</i>	harmine	243mg/kg, s.c., cat	Spayh,E,Ber,Disch,Chem,Ges,1930,63,120
Menispermaceae ツヅラフジ科	<i>Menispermum dauricum</i>	dauricine	6 mg/kg i.p., mice	Kametani,T,Trarahedron Letter,1964,2771
Myoporaceae ミオボラ科	<i>Myoporum mantanum</i>	myomorantane	10mg/kg, fetal dose, i.p., mice	Metra,P.L,Tetrahedron Lett.,1983,24,1749
Papaveraceae ケシ科	<i>Corydalis cava</i> <i>Papaver somniferum</i> <i>Papaver fugax</i> <i>Papaver orientale</i> <i>Papaver rhoeas</i>	isocorydine morphine meconamine isothebaine rhoeadline papaverine	10.9mg/kg, i.p., rat 1-10mg/kg, lethal dose in human 4.1mg/kg, mice 26mg/kg in human 530mg/kg, i.p., rat 25mg /kg,i.v., mice	Schlittler,E,Helv.Chim.Acta, 1952,35,111 Muhtadi,F., J.Anal.Profiles Drug subst., 1988,17,259 Slavil,J., Collect.Czech.Chem.Commun.1965,30,914 Battersby,A.R.,J.Chem.Soc.1965,4550 Santany,F.,Collect.Czech.Chem.Commun,1965,30,3479 Manske,R.H.F.,The Alkaloids,1954,4,29,Academic Press
Ranunculaceae キンポウヅケ科	<i>Aconitum</i> sp. <i>Adonis vernalis</i> <i>Coptis japonica</i> <i>Delphinium andersonii</i> <i>Delphinium andersonii</i> <i>Delphinium elatum</i> <i>Helleborus niger</i> <i>Thalictrum dasycarpum</i>	aconitine adonitoxin berberine 1,4-deacetylindicaueline nudicaloline methyl-lycaconitine hellebrin thalicarpine	3-6mg/kg,lethal dose in human 0.191 mg/kg, cat 27.5mg/kg, lethal in human 4 mg/kg, i.p. in mice 2.7mg /kg, i.v., mice 25-40mg/kg, cattle 0.85μ mol/kg, p.o., guinea-pig 58.6mg/kg,s.c., mice	Birnbaum,K.B.,Terahedron Letter,1971,867 Pitra,J.,Collect.Czech.Chem.Commun.,1961,26,1551 Brossi,A., The Alkaloids,1986,28,96, Academic Press. Pelletier,S.W.,Heterocycles, 1988,27,2387 Pelletier,S.W.,Heterocycles,1988,27,2387 Kuzovkov,A.D.,J.Gen.USSR,1959,29,2746 Tschesche,R.Z.,naturforsch,1965,20,8,707 Tomita,M.,TetrahedronLett.,1965,4309 Kofod,H.,Tetrahedron Lett.,1966,1289
Rosaceae バラ科	<i>Prunus</i> spp.	purunasin	0.25mg/kg,lethal dose, guinea pigs	
Rubiaceae アカネ科	<i>Cinchona officinale</i>	quinine	115mg/kg, i.p., mice	Muhtadi,F.,J.Anal.Profiles Drug Subst..1983,12,547
Scrophulariaceae ゴマノハグサ科	<i>Derris elliptica</i> <i>Digitalis lanata</i> <i>Digitalis purpurea</i>	rotenone gitorin digitoxin	2.8mg/kg, i.p., rat 0.44mg/kg, s.c., cat 60mg/kg, p.o., guinea-pig	Jacobson,M,Naturally Occuring Insecticides,1971,71,Marcel Dekker Sasaki,Y.,Chem.Pharm.Bull. 1959,7,265 Drakenberg,T.,CAN.J.Chem.1990,58,272 0.4mg /kg, i.v., cat
Solanaceae ナス科	<i>Atropa belladonna</i>	atropine	100mg/kg, lethal dose in human	Seeger,R.,Disch. Apoth.Zig.,1986,126,1930
Taxaceae イチイ科	<i>Nicotiana tabacum</i> <i>Solanum tuberosum</i> <i>Taxus brevifolia</i>	nicotine α-solanine taxol	about 50mg/kg, fatal dose in human 2.8mg/kg, p.o., man 9mg/kg,p.o. , dog	Enzell,C.R.,Fortschr.Chem.Org.Naturst.,1977,34,1 Kuhn,R.,Angew.Chem.,1954,66,639 Wani,M.C.,J.Am.Chem.Soc.,1971,93,2325
Thymelaeaceae ジンチョウゲ科†	<i>Daphne mezereum</i>	daphnetoxin	0.25mg/kg, p.o.,	Stout,G.H., J.Am. Chem. Soc, 1970,92,1070

コウジン, センナ, センナ末, ニンジン及びニンジン末(新収載)に純度試験としてDDT類及びBHC類の規定を設定した。これに伴い、試薬・試液にアセトン(生薬純度試験用), ジエチルエーテル(生薬純度試験用), ヘキサン(生薬純度試験用), o,p'-DDT, p,p'-DDT, p,p'-DDD, p,p'-DDE, α -BHC, β -BHC, γ -BHC及び δ -BHCが追加された。

生薬中の残留農薬の実態調査は、まず国内における生薬の残留農薬の現況を把握するために分析試験を行った。生薬は1993年度における大阪と東京の市場品の他、栽培品の14種類(トウキ, サイコ, ニンジン, カンゾウ, シャクヤク, ソウジュツ, センキュウ, ブクリヨウ, ケイヒ, センナ, チンピ, トウヒ, ハトムギ, トウニン)を用い、生薬の使用部位、繁用度、成分特性、過去の報告などを考慮に入れて選んだ。分析方法は、衛生試験法、衛生検査指針、衛生試験法・注解の方法などを参考にして行った。また、分析農薬として1990年までの衛生試験法で対象にしていた農薬を中心に使用の可能性のある有機塩素剤14種、有機リン剤5種及びカルバメート剤1種を選定した。

本調査の結果、いくつかの生薬において農薬が検出されたが、それらは土壤汚染によると推定されるものや通常の食品での残留農薬基準と比較しても低い値のものであった。しかし、ニンジン類とセンナ及びセンナ末においては無視できない量の残留が認められた。中国産(10試料)のニンジンでは、総BHCが8試料が0.2 ppmを越えた。消費量の少ない韓国産(生干)では4試料中2試料で総BHCが0.2 ppm以上であった。なお、国内産のもの(6試料)ではBHCとDDTが検出されたが、いずれも総量は0.01 ppm以下であり、バックグラウンド程度と推定される。またセンナでは、13試料中総BHCで0.2 ppmを越えたものが8試料、また総DDTで0.2 ppmを越えていたものが6試料であった。

(3) 生薬の微生物限度試験¹⁷⁾

第12改正日本薬局方第2追補において新たに微生物限度試験法が追加され、局方収載生薬に関して他の非無菌性医薬品とともに同法の適用が提案されている。このため、今後の改正時に参考とする資料を作成し、生薬及び生薬製剤への設定の可能性を検討するため、原形生薬、粉末生薬、生薬製剤、エキス剤について実態調査を行った。なお、対象生薬については、倉田らにより行われた昭和49年の生薬製剤の生菌数実態調査¹⁸⁾、昭和53年の生薬の生菌数実態調査¹⁹⁾の結果を参考に検討した。また、マイコトキシンの検出も行った。

原形生薬、粉末生薬は日局収載生薬のうちそれぞれ29種の原形生薬、21種の粉末生薬を、製剤は丸剤、錠剤、散剤、漢方エキス剤を用いた。1) 原形生薬：ウイキョウ、オウギ、オウゴン、オウバク、オウレン、カッコン、カンゾウ、

ケイヒ、ケツメイシ、ゲンチアナ、コウジン、サイコ、サンシシ、シャクヤク、ショウキョウ、センナ、センブリ、ソウジュツ、ダイオウ、タイソウ、チョウジ、チンピ、トウキ、トウニン、ニンジン、ハンゲ、ブクリヨウ、ボタンピ、ヨクイニンの29生薬、86検体。2) 粉末生薬：ウイキョウ末、オウゴン末、オウバク末、オウレン末、カンゾウ末、ケイヒ末、ゲンチアナ末、サンシシ末、シャクヤク末、ショウキョウ末、センナ末、センブリ末、ソウジュツ末、ダイオウ末、チョウジ末、チンピ末、トウキ末、トウニン末、ブクリヨウ末、ボタンピ末、ヨクイニン末の21生薬、86検体。3) 生薬製剤：丸剤154検体、錠剤6検体、散剤3検体。4) エキス製剤：漢方エキス剤49検体を用いた。

試験方法は試料を乳鉢で粉碎し、その1g(1g以下の場合は秤量可能量)をリン酸緩衝液9mlに分散混合し試料液とした。試料液の稀釀は、試料液1mlをとり10倍段階稀釀法(細菌は $\times 10^2 \sim \times 10^5$ 、真菌は $\times 10^2$)で調製した。

13改正日本薬局方の微生物限度試験法を用いて、・細菌(寒天平板混釀法)、・真菌(寒天平板混釀法)、・大腸菌、・黄色ブドウ球菌、・緑膿菌の測定を行った。マイコトキシンに関してはアフラトキシンの確認試験を行った。その結果、

1) 原形生薬の細菌出現率は $\times 10^3$ (CFU/g)(以下同)までが77%、 $\times 10^4$ が19%、 $\times 10^5$ 以上が4%で、真菌検出率は $\times 10^2$ までが86%、 $\times 10^3$ が10%、 $\times 10^4$ 以上が4%であった。細菌数が多く検出されたカンゾウ、ニンジン、真菌数が多く検出されたオウゴン、オウレン、ケイヒ、トウキは形状が複雑で土を落とし難いことが一因と考えられるが、調製時、保管時、輸送時等の諸条件が影響すると思われるところから、今後の調査が必要である。

2) 粉末生薬の細菌検出率は $\times 10^3$ までが56%、 $\times 10^4$ が38%、 $\times 10^5$ 以上が6%で、真菌検出率は $\times 10^2$ までが72%、 $\times 10^3$ が22%、 $\times 10^4$ 以上が6%であった。原形生薬と同様にカンゾウ。

3) 生薬製剤163検体の細菌検出率はNDが9%、 $\times 10^3$ までが60%、 $\times 10^4$ が22%、 $\times 10^5$ 以上が9%で、真菌検出率はNDが95%で、多く検出されたものでも $\times 10^2$ が2%であった。また、細菌数については剤形間での違いは認められなかったが、真菌は8試料で検出され、その内訳は散剤2試料、丸剤6試料で散剤の検出率が高い結果を示した。なお、生菌数が検出されなかった丸剤のうち3試料にはフェノール類の配剤が推定された。特定微生物の大腸菌、黄色ブドウ球菌、緑膿菌は全試料で確認されなかった。

4) エキス剤の細菌検出率は、 $\times 10$ 以下が84%で16%が $\times 10^2$ であり、真菌数については1試料に $\times 10$ が検出されたのみで残りは全て20以下であった。これらの加熱製剤について細菌の検出された試料については今後耐熱性菌の菌種の同定が必要と考えられる。

5) 生薬用の微生物限度試験法の作成を継続的に行って いるが、菌数の測定には希釈培養法が有効であるという結果を得ている。

6) アフラトキシンは検出されなかつたが、アフラトキシン産生菌は一部の生薬で認められた。

(3) 生薬の基原と品質²⁰⁾

生薬基原については、種が限定されているものも多いが、輸入生薬に頼っている現状では、その基原種名が曖昧なものがあった。生薬の品質規格が厳密に取り扱われるようになると、その基原の違いによって、品質の相違が認められる。近年、生薬原産国の中等との交流から基原が解明されてきている。このような研究成果の蓄積から、13改正日本薬局方第一追補に基原の植物名等を改正した。本来は基原の植物名や動物名が明記されるべきであるが、代表種を挙げるのみで、その他の同属や近縁種を明記していない品目があった。そこで品質規格をより厳密にするために、後者のような曖昧な表現を極力避け、“その他同属”や“その他近縁”的記載をなくし、種名を限定することを目的とした。

経過としては、生薬及び植物性油脂の品目の基原に“その他同属”や“その他近縁”記載のある品目について、対象となる種の学名を挙げて検討を行った。近年、各学問の発展に伴い、各分野の研究成果からその種名が明らかとされたものも多い。そのため曖昧な表現は削除したが、医薬品添加物等として用いられる生薬の中には複数の植物を基原とするものや、古くからの栽培品種で、どうしても種名が限定できないものがある。その場合に限り、EP や USP と同様に“その他同属”的記載を残した。また、カンゾウに関しては流通との関連を考慮して、リュウコツやユウタンは基原種が限定出来ないため改正を行わなかった。改正を行った品目はエイジツ、オウバク、オウレン、カノコソウ、キジツ、キヨウニン、ケイヒ、サイコ、サンシシ、サンショウ、シャクヤク、ショウマ、センソ、ソウハクヒ、ソヨウ、タイソウ、脱脂綿、精製脱脂綿、チンピ、ツバキ油、トウガラシ、トウキ、バクモンドウ、ハッカ、ハッカ油、ビヤクシ、マオウ、リュウタン、ロートコンである。“その他同属”等の記載が残った品目はアラビアゴム、アンソクコウ、オレンジ油、ガーゼ、カンゾウ、脱脂綿、テレピン油、トラガント、マクリ、ユウタン、ユーカリ油、リュウコツ、ロジンである。

IV. 医薬品と食品の区分

厚生省は昭和46年の「無承認無許可医薬品の指導取締まりについて」によって医薬品と食品の区分を行ってきた。昭和62年9月22日及び平成10年3月31日にこの通知の一部改正が行われた。新しい通知は「いわゆるハーブの取り扱いについて」で、ハーブの中に安全性に問題のある薬物が

入っていないかを検討して、安全であれば、より食品的な取り扱いをすることとした通知である。今回、明記された植物はエキナケア、エゾウコギ、ノコギリヤシ、マリアアザミ、イチョウ、セイヨウオトギリソウ、メマツヨイグサの7種類である。これらのものは既存の植物と同様に、医薬品的な効能効果を標榜しない限り、カプセル剤や錠剤、丸剤で取り扱えるとしてある。医薬品以外の健康を指向した薬用植物の市場は急成長しており、その安全に関する情報が待望されている。

欧米の取り扱いは国によって異なるので、数カ国の例を示す。

ヨーロッパの生薬にたいする規制を消費量の多い国について調べてみると²¹⁾、フランスでは34種類の生薬がフランスの法律によってポジティブリストに収載されており、食品として認められ自由に販売できる。その他の174種の生薬の場合、医薬品としての簡単な登録手続きが必要となる。その他の植物については、通常医薬品の登録手続きをすべて実施することが必要である。

ドイツではほとんど全ての生薬製品が医薬品として分類されている。1978年以前のドイツの市場で販売されており、ドイツまたはヨーロッパ原産で、予防あるいは緩和な治療効果を持つ生薬を含む製品のみが伝統的ハーブ治療薬としてみなされる。何種類かの生薬製品は、安全であり、栄養効果が認められる場合にのみ食品として黙認されている。この場合、食品と明示することが求められ、医薬品的なあるいは強力な栄養効果を表示してはいけないとされている。

イギリスでは生薬製品の場合、安全であり、かつ医薬品的効果を標榜しないものは食品とみなされる。安全性の担保は販売者の責任である。若干の毒性の強いハーブがネガティブリストに載っており、食品としても医薬品としても販売することはできない。また、別のリストには、禁忌を表示しなければならない生薬製品の例が載せてある。

アメリカでは生薬及び生薬製剤を含む Dietary Supplementの規制に関するハック・ホキン法 (Hatch-Harkin bill) が1994年10月に議会で可決された。この法律は食物又は Dietary Supplement の摂取とガン、心臓病や骨多孔症のような慢性病の予防との関連性を取り扱うもので、西洋医学の高い価格を避けることや国民の西洋医学以外の Dietary Supplement がヘルスケアに役立つことが裏付けられたためである。このため栄養食品産業はアメリカ経済の重要な産業の一つと位置づけ、連邦政府は安全でないものや偽物に対しては厳しい処置を取るが、消費者への正確な情報と安全なものの流通に関して、理由のない規制をしたり、処理を遅延することはしないとされている。現在、この法律の運用に関する細目が決定され、一部は米国薬局方 USP に収載の検討も行われている。米国の薬局方の1820年の初版では217種類の生薬が収載されていたが、現

在の USP 23版では26品目である。

アメリカのハーブ協会は独自の安全基準を作成し²³⁾、新法でのハーブの普及を安全面で喚起している。

日本における「いわゆるハーブ等の取扱いについて」が平成10年3月31日付けで出された。これは「規制緩和推進計画の再改訂について」(平成9年3月28日閣議決定)に基づき、食生活の多様化、医薬品としての使用実態等による一般消費者による意識の変化を踏まえ、また、諸外国における取扱いを勘案し、昭和46年6月1日薬発第476号薬務局長通知「無承認無許可医薬品の指導取締りについて」の見直しを行い、その一部を変更した。それに記載したエキナケア(根、地上部)、エゾウコギ(根、根茎)、ノコギリヤシ(果実)、マリアアザミ(種子)、イチョウ葉、セイヨウオトギリソウ(花、地上部)及びメマツヨイグサ(葉、茎、根、種子)植物について解説する。

その他、追加したものは(1)(a)にゴールデンシールを加える。(1)(c)にサンヤク末、スギナ、ツルナ、テングサ、ツボクサ、トケイソウ、モリアザミ、ヤシ油等を加える。(2)(a)にエキナケア、ノコギリヤシ、マリアアザミ、セイヨウオトギリソウ、メマツヨイグサを加える。(2)(b)にアズキ、アボガド等を追加した。

この中で、薬用植物であるが、薬効を表記しなければ、医薬品の形状で、食品として扱えることになった品目について、その情報を解説する。

(1) マリアアザミ

和名：マリアアザミ、オオアザミ

学名：*Silybum mariana* (Linne) Gaertner キク科
(Compositae)

英名：Milk thistle, Marian thistle, St. Mary's thistle

部位：種子

産地：マリアアザミは地中海沿岸の南ヨーロッパ、北アフリカ、及びアジア原産で、新大陸に帰化している。

特徴：葉は光沢のある大理石模様の白い斑紋がある。花はアザミに似ており、葉、根、頭花を食用に用いる。

成分：種子にシリマリン(Silymarin)，シリマリンはフラボノリグナンの混合物で、silybin, silydianin, silychristin, dehydrosilybin, desoxysilydianin (sylimonin), silandrin, silybionomerなどを含む。

伝統的使用：ギリシャ本草に記載され、近年、肝臓疾患に対する治療効果が確認されつつある。イギリスの文献は16世紀末に見出される。Gerard(1597)は「マリアアザミは全ての“melancholy diseases”(黒胆汁質の病気)に対する最良の治療薬になると記述している。マリアアザミ全草のチンキ剤は U. S. Homeopathic Pharmacopoeia, 第1版(1878)に収載されている。ホメオパシーの領域で種子のチンキ剤は肝疾患、黄疸、胆石、腹膜炎、咳、気管支炎、静脈瘤及び子宫の鬱血に用いられる。1985年にドイツのモノ

グラフにマリアアザミはホメオパシーの領域で収載され、胆のうおよび肝臓疾患が対象にされた。若い葉は春のサラダに、或いはほうれん草の代わりとして食されていた。若い茎の部分は皮をむいて水に浸し、アスパラガスのようにして食べられていた。根は一夜水に浸して苦みを除き、セイヨウゴボウ(salsify)のように食べる。花はアーティチョークに似ており、食べ方もアーティチョークと同様である。

作用としてはシリマリンの肝臓保護作用²³⁾、シリマリンの発癌抑制作用²⁴⁾の報告がある。

安全性：副作用が認められず、胎児毒性も認められない。臨床試験に於いても、種子抽出物を用いた場合一般に副作用が現れない²³⁾。

(2) ノコギリヤシ

和名：ノコギリヤシ

学名：*Serenoa repens* (Bartram) Small ヤシ科 (Palmae)

英名：Saw palmetto, Sabal

部位：果実

産地：北米、サウスカロライナ南部からフロリダに生育する。

成分：主要成分は、脂肪酸、ステロール類(β -シトステロールを多量に含む)、飽和及び不飽和の長鎖アルコール、カロチノイド、フラボノイド、ポリサッカライド等である。

伝統的使用：種子はアメリカ・インディアン(フロリダ先住民)の食用に用いられていた。また薬としてアメリカで膀胱、尿道、前立腺の炎症の治療に用いられた。果実は栄養価が高いとして、消耗性の疾患、気管支炎の治療に、また、利尿剤として1830年からほぼ100年間、米国薬局方に収載されたが、その後は果実の使用は民間薬に限られている。一方、ヨーロッパにおいては、ノコギリヤシは英國Herbal Pharmacopoeia 1979, 1983, 1996に収載され、ドイツでは German Federal Health Office が植物性医薬品として認めている。

種子のヘキサン抽出物(オイル)の作用は 5α -reductaseによるテストステロンからジヒドロテストステロンへの変換を阻害する作用²⁵⁾、昼間および夜間の排尿回数と尿流量、残尿量に関する他覚所見に改善²⁶⁾が認められている。

安全性：犬及びラットに抽出物を2g/kgの投与量で、6カ月間投与したが、毒性は認められなかった。抽出物には変異原性および発癌性は認められず、生殖能力および生殖行動に対しても何ら影響しなかった²⁵⁾。稀に胃腸障害が現れることがある²²⁾。

(3) イチョウ

学名：*Ginkgo biloba* Linne イチョウ科 (Ginkgoaceae)

英名：Ginkgo, Maidenhair tree

部位：葉

産地：中国原産。現在は日本各地、アジアで栽培。ドイツなどヨーロッパにも移植されている。

特性：イチョウは中生代から新生代の第3紀にかけて10数種類の属が存在していたが、現存種は1種のみである。日本へは室町時代頃に導入された。

成分：イチョウ葉の主要な成分は quercetin, kaempferol, isorhamnetin のフラボノイドとギンコライドおよびビロバライトのテルペンラクトンで、薬理学的ないし生理学的作用物質の本体と考えられている²⁷⁾。

伝統的使用：中国では果実を漢方薬として喘息、肺および気管支疾患の治療に用いしてきた。

作用：イチョウ葉エキスはフリーラジカル・スカベンジャーとしての作用を發揮し、過酸化脂質の産生を抑制、血流増加作用、血小板凝集因子抑制作用が報告されている²⁷⁾。

安全性：イチョウ葉エキスのラットおよびマウスの静注および皮下投与のLD₅₀は1～2 g/kgであった²⁸⁾。副作用の報告は、軽度の胃部不快感、胃腸障害、頭痛、アレルギー性皮膚炎などがあり、Brownは妊娠中および授乳中の女性には摂取は控えるべきであるとしている²⁷⁾。また、MAO-阻害剤との相互作用があるので、使用上注意することの報告もある²²⁾。種子（銀杏）の過剰の摂取や長期間にわたる摂取に注意が喚起されている²²⁾。

(4) セイヨウオトギリソウ

和名：セイヨウオトギリソウ

学名：*Hypericum perforatum* Linne オトギリソウ科 (Guttiferae)

英名：St. John's wort, Klamath weed

部位：花、地上部（地上部が対象になるが、特に重要なのは花である）

産地：北極に近い地域を除くヨーロッパから西アジア、北アフリカに広く分布する。

特性：直立する多年草で、高さ30～60 cmで、茎には2個の稜がある。葉には斑点がある。花は多数が集散花序をつくり、黄色で花弁には小黒点がある。

成分：全草に Naphthodianthrone (hypericin, pseudo-hypericin) 及び flavonoids (catechin, epicatechin, kaempferol, quercitrin, isoquercitrin, hyperin, amentoflavone, rutin) を含む。精油は大部分が monoterpenes, sesquiterpenes である²⁹⁾。

伝統的使用：ギリシャ本草で、創傷、利尿、神経痛薬とされている³⁰⁾。イギリスの最初の薬局方 Pharmacopoeia Londonensis に収載されている。

現在は、フランス、ドイツの局方に収載されている。

作用：MAO阻害作用、抗セロトニン作用、抗ウイルス作用、創傷治癒作用が報告されている³⁰⁾。

安全性：光感作性物質のヒペリシンが含まれるので、これに関する毒性情報がみられる³⁰⁾。牧畜用の動物がセイヨウオトギリソウを食べた白色の牛、馬、羊などが強い日光にさらされると顕著な皮膚炎症が引き起こされる³¹⁾。ヒト

における光毒性の発現は稀であるが、セイヨウオトギリソウを摂取した場合、太陽の光に当たり過ぎないように注意すべきである²²⁾。

(5) エキナケア

生薬名：エキナケア (Echinacea)³²⁾

学名：*Echinacea angustifolia* De Candolle, *E. pallida* (Nuttall) Nuttall

E. purpurea (Linne) Moench キク科 (Compositae)

英名：*Echinacea angustifolia*；和名：ムラサキバレンギク

部位：*Echinacea angustifolia*；根および地上部

産地：アメリカとカナダの大西洋流入河川流域に自生し、一部、ヨーロッパで栽培する。

特性：花頭は円錐形の多年生草本である。花壇や野生庭園に植えられる。

成分：カフェー酸とポリサッカライドのエキナコサイドを含有する。刺激成分はイソブチルアミドのエキナセインである。この化合物はイエバエの成虫に毒性を示す。

伝統的使用：元来、北アメリカの原住民の薬で、外用薬として創傷、火傷、リンパ節の腫脹、昆虫刺傷、内服薬として根を咬んで歯痛および頸部痛を軽減し、頭痛、胃痙攣、咳、悪寒、麻疹、敗血症、淋疾等に用いた。米国薬局方では1916～1950年まで、収載されていた。最近の免疫機能研究の中で、関心が高まっている。最近では、植物療法の薬剤として、ドイツのモノグラフに収載されている。

安全性：安全性に関する文献は、最近50年間で約350件の研究報告がある³³⁾。その多くは *Echinacea purpurea* の免疫機能刺激効果に関するものである。短期ならびに長期の経口投与における安全性（毒性、副作用）について問題を指摘するものは見あたらない³³⁾。ポリサッカライドの毒性を記述した総説がある³⁴⁾。ドイツのコミッショナEは全てのエキナケア種に対し、結核や白血病、膠原病、多発性硬化症、AIDS、HIV感染症、その他自己免疫不全のような進行性疾患時に服用はさけることを提言している²²⁾。

(6) エゾウコギ

和名：エゾウコギ

学名：*Eleutherococcus senticosus* (Ruprecht et Maximowicz) Maximowicz (= *Acanthopanax senticosus*) ウコギ科 (Araliaceae)

英名：Siberian ginseng, Eleuthero, Ciwujia, Ussurian thorny pepperbush

中国名：刺五加

部位：根および根茎

産地：北海道、東アジア、主にシベリア東部

特性：背丈1～3 m、棘の多い落葉性の低木で、通常5小葉に分かれた掌状複葉を有する。

成分：サポニンの eleutheroside A～Gは、根に0.6～0.9%，茎に0.6～1.5%を含有している。

伝統的使用：中国では、神農本草經（BC 1~200年）および本草綱目（1590~1596年）に五加皮（刺五加の旧呼称）として掲載され、根および根茎を興奮薬、強壮薬として、食欲増進、腰部の疼痛緩和、慢性関節リウマチの治療に用いた。近年、体力および意欲の増進剤として、体調を整えると共に集中力を高めることが立証されている。1962年に、ソビエト連邦で医薬品として承認されて、その後、薬局方に収載された。また、ドイツでは、モノグラフに収載され、植物療法に用いられている。

安全性：多くは旧ソビエト連邦で行われていた。臨床試験時の有害事象としては一過性の血圧上昇、相互作用としヘキソバルビタールの作用増強および作用延長等（動物実験による）が報告されている³⁵⁾。毒性を示す情報は報告されていない³⁶⁾。ドイツのモノグラフによると、ヒトの常用量は 2~3 g (70 kg×30~45 mg/kg) である³⁷⁾。

(7) メマツヨイグサ

和名：メマツヨイグサ（月見草）

学名：*Oenothera biennis* L. アカバナ科 (Onagraceae)

英名：Evening Primrose

部位：種子

産地：アメリカ、カナダ

特性：高 1 m, 1 年生草本で、黄色の花をつける。

成分：種子油には、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、 γ -リノレン酸、アラキドン酸、イコセン酸が含まれる。

伝統的使用：北アメリカで古くから皮膚病や切り傷の治療に用いていた。18世紀にヨーロッパに持ち込まれ、咳止めのシロップに用いられた。

安全性：トウモロコシ油との比較慢性毒性試験があるが毒性は認められていない³⁸⁾。臨床的に服用されたものでも副作用は殆ど認められていない³⁹⁾。

(8) パウダルコ

生薬名：パウダルコ

学名：*Tabebuia heptaphylla* Britton, *Tabebuia rosea* De Candolle ノウゼンカズラ科 (Bignoniaceae)

英名：Pau D'Arco, Lapacho Colorado, Lapacho morado, Ipe roxo, Taheebo, Five finger

部位：樹皮

産地：中南アメリカから南アメリカの熱帯地域

特性：落葉性の木本、花は円錐花序、花冠は鐘状ロート形で、さく果は線形。

成分：樹皮に iridoid glucoside、根に lapachol, dehydro- α -lapachone, β -sitosterol, prunetin

伝統的使用：西インド諸島の国々から南アメリカのコロンビア、ブラジル等に住む原住民の薬である。適用としては、バハマ諸島において、葉の煎液を鎮痛、排尿障害に用い、樹皮の煎液を遺尿症、失禁に用いている。メキシコで

は、根の煎液を貧血に用い、葉・樹皮の煎液を発熱に用いている。近年、アメリカで癌に効くということから話題になっている。

安全性：木部に含有されるラパコール (Lapachol) に関するもので、癌に対する効果を見たものである。ラパコールは毒性があり、低用量で吐き気や嘔吐を現し、また、血液凝固にも影響を与えることなどが分かっている^{40),41)}。安全性に関する情報が不十分なため、今回は指定されていない。

V. いわゆる合法ドラッグの実態調査

(1) いわゆる合法ドラッグとは

いわゆる「合法ドラッグ」については、国内においてその売買等がある程度報告されているものの、その流通実態がはっきりしない。また、そのもの自体が何であるのか、実際に麻薬様作用、幻覚作用及び強壮作用等の成分を含有するのか、また併せてその作用がどの程度あるかも不明であるものが多い。一方、ハーバルドラッグとして製造、販売し、ブームを起こしたアメリカでは、過剰摂取により死亡事故が発生している。

そこで、麻薬様作用、幻覚作用及び強壮作用等を標榜して販売されているいわゆる「合法ドラッグ」の販売実態を調査し、内容物の鑑定及び成分分析を行った。幻覚物質に対してハーバルドラッグとして未規制薬物が現れたのは1996年と極く最近ではあるが、アメリカではこれらの植物性のものを dietary supplement として食品に近い扱いなり、自然食ブームにも乗って爆発的に流行している。アメリカでの死亡事故は、含有成分のエフェドリン系アルカロイドと大量のカフェインが原因であると報道されている。この対策として、1998年に FDA (アメリカ：食品薬品局) は、エフェドリンの1日摂取量を 24 mg、1 回摂取量を 8 mg と規制した。幻覚作用を持つ植物を表にまとめた。

(Table 2)

(2) 販売実態と表示成分

厚生省医薬安全局監視指導課はアメリカで利用が拡大され、国内への波及を予測して、国内への持ち込み、盛り場での販売、通信販売及びインターネットによる流通の実態を把握するために研究を当所生薬部に委託した。実態調査は平成9年度に栃木県、埼玉県、神奈川県、新潟県、静岡県、愛知県、大阪府、広島県および福岡県の9府県の薬事専門家の協力を得て行った。

入手した検体は35品目で、その表示されている生薬等はガラナエキス、ビタミンC、ヨヒンビエキス、シベリアニンジン、朝鮮人参、ゴツコーラ、イチョウ、コーラナッツ、ナイアシン、ナルコユリエキス、オットセイエキス、緑茶、ナツメグ、カバカバ、アルファルファ、スピルナ、パッションフラワー、ホッピー、レイシ抽出物、アスパルテーム、

Table 2-1 List of Hallucinogenic Plants¹¹⁾

キノコ類		
<i>Lycoperdon mixtorecorum</i>	Mexico	
<i>Amanita muscaria</i>	fly agaric	North America, Siberia
	Muscarine(0.0002~0.0003% of fresh <i>Amanita muscaria</i>)	
	ibotenic acid	
<i>Psilocybe mexicana</i>	Aztecs	psilocybin
<i>Psilocybe azteca</i>		
<i>Conocybe siliginoide</i>		
<i>Panaeolus sphinctrinus</i>		
<i>Stropharia cubensis</i>		
<i>Claviceps purpurea</i>		ergota alkaloid
被子植物		
双子葉植物		
Acanthaceae キツネノマゴ科		
<i>Justicia pectoralis</i> var. <i>stenorhyncha</i>		Amazone
	<i>N,N</i> -dimethyltryptamine	
Aizoaceae ツルナ科		
<i>Mesembryanthemum expansum</i>	southern African (Hottentot)	
	mesembrine (cocain-like)	
Apocynaceae キヨウチクトウ科		
<i>Tabernanthe iboga</i>	Congo	ibogaine
Cactaceae サボテン科		
<i>Lophophora williamsii</i> (ウバタマ)	Mexico(peyote)	mescaline, peyotine
<i>Trichocereus pachanoi</i>	Andes	mescaline
<i>Ariocarpus retusus</i>	Mexico	<i>N,N</i> -dimethyltryptamine
<i>Epithelantha micromeris</i>	Mexico, North American	
<i>Pachycereus pecten-aboriginum</i>	Mexico	
	carnegine(deshydro-pellotine)	
Campanulaceae キキョウ科		
<i>Lobelia tupa</i>	Andes tabacode diablo leaf	piperidine alkaloid lobeline
Cannabaceae アサ科		
<i>Cannabis sativa</i> (アサ)		tetrahydrocannabinol
Compositae キク科		
<i>Calea zacatechichi</i>	Amazone, Mexico, Costa Rica	
Convolvulaceae ヒルガオ科		
<i>Ipomea violacea</i>	seed	
<i>Rivea corymbosa</i>	Mexico (ololiuqui)	lysergic acid

ペパーミント, スペアミント, バジル, サリエット, ローズマリー, レモングラス, レモンパーム, オレンジ, カラス麦抽出物, カミツレ, ハイビスカス, オート麦, マリアアザミ, 浜防風, ジンジャー, 蓼根, 甘草, 蜂蜜, ヨーロピアンアンジェリカ, シイタケ, リュウガン, ウイキョウ, クコの実等が記載されている。

そこでこれらのエキス等に含有されていると考えられる成分（カフェイン, ヨヒンビン）および取り締り対象となる成分（エフェドリン系アルカロイド, ステロイドホルモン, ハルミン, シロシビン）の合計7種の化合物群に関して薄層クロマトグラフィー(TLC), 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)およびガスクロマト質量分析(GC-MS)を用いた成分分析を行った。

(3) 含有成分分析

カフェインはコーヒー, 茶等の嗜好品に含まれるキサンチン系アルカロイドであり, 中枢神経興奮, 利尿, 強心作用を示す。今回分析を行った半数以上のドラッグにその存在が認められた。カフェインはブラジル産熱帯性植物ガラナの種子にも多く含まれており, 内容物表示にガラナと記載されていたドラッグ群全てにその存在が確認された。同時に比較実験としてガラナ種子抽出エキスについてTLC(展開溶媒; クロロホルム:メタノール=10:1)を用いて分析を行った結果, 明白なカフェインのスポット($R_f = 0.50 \sim 0.55$)が認められた。このことからガラナエキスが添加されているドラッグにはカフェインが含まれていることが明らかになった。

Table 2-2 List of Hallucinogenic Plants

Coriariaceae ドクウツギ科		
<i>Coriaria thymifolia</i> Andean Countries	coriamyrtin	
<i>Coriaria myrtifolia</i> Meditarenien	narcotic poison	
Desfontainiaceae デルフォンタニア科		
<i>Desfontainia spinosa</i> Chile		
Ericaceae ツツジ科		
<i>Pernettya furens</i> Chile fruit	andromedotoxin	
Gomortegaceae ゴモルテガ科		
<i>Gomortega keule</i> Chile	essential oil	
Himantandraceae ヒマンタンドラ科		
<i>Galbulimima belgraviana</i> Papua	himabacine(poly cyclic piperidine derv. alkaloid)	
Labiatae シソ科		
<i>Salvia divinorum</i> Mexico	unknown	
<i>Nepeta cataria</i>	catnip(チクマハッカ)	
<i>Coleus pumilus</i> Amazon		
Leguminosae マメ科		
<i>Anadenanthera peregrina</i> Amazon (Yopo)		
(5-hydroxy-N,N,dimethyltryptamine)		
<i>Cytisus canariensis</i>	cytsine	
<i>Mimosa hostilis</i> Brazil		
<i>Sophora secundiflora</i>	Mexico, Texas and New Mexico	
sophorine (lupine alkaloid)		
<i>Rhynchosia logeracemosa</i> seed	Amazone	
<i>Rhynchosia pyramidalis</i> seed	Amazone	
Malpighiaceae キントラノオ科		
<i>Banisteriopsis caapi</i> Amazon (ayahausca)	harmine, harmaline	
Moraceae クワ科		
<i>Maquira sclerophylla</i> Amazone		
Myristicaceae ニクズク科		
<i>Myristica fragrans</i> (ニクズク) Nutmeg	myristicin	
<i>Virola calophylla</i>	Amazon	
<i>Virola calophylloidea</i>	Amazon	
<i>Virola theiodora</i>	Amazon	Triptamines, resin
Piperaceae コショウ科		
<i>Piper methysticum</i> カワカラワ Polynesia	Kawain	

ハルミンは TLC (展開溶媒；クロロホルム：メタノール=10:1) を用いた分析を行ったが、今回のドラッグ群からは検出されなかった。

ヨヒンビンは TLC (展開溶媒；クロロホルム：メタノール=10:1) を用いた分析を行った結果、若干の存在が示唆された。しかし標品と比較してその吸収スポットは非常に弱く、判別は不可能であった。今後の更なる検討が必要であると考えられる。

ステロイドホルモンは、男性ホルモンとしてテストステロンおよびプロピオン酸テストステロン、女性ホルモンとしてエチニルエストラジオールおよびエストリオールの合計4品目について TLC (展開溶媒；クロロホルム：メタノール=10:1) を用いた分析を行ったが、検出されなかった。

エフェドリン系アルカロイドに関しては、エフェドリン、ノルエフェドリン、メチルエフェドリンおよびそのプソイド体全6品目について1日の薬用量を念頭にHPLC, GC-MSを用いた分析を行った結果、これを超過するピークは観測されなかった。しかし、若干、エフェドリンと推測される部分にピークが観測されたため、今後の詳細な検討が必要と考えられた。

シロシビンはメキシコ原住民が宗教上の儀式に使用するキノコより分離されたインドール系アルカロイドであり、精神活動に関与するセロトニンと類似の構造を有し、催幻覚作用が認められている。日本ではヒカゲタケ属およびシビレタケ属のキノコにその存在が確認されている。TLC (展開溶媒；n-プロピルアルコール：5%アンモニア水=5:2) を用いた分析の結果、今回のドラッグ群の中で1検

Table 2-3 List of Hallucinogenic Plants

Rubiaceae アカネ科		
<i>Psychotria viridis</i>	Amazone	(ayahuascaと併用) N,N-dimethyltryptamine
Solanaceae ナス科		
<i>Atropa belladonna</i> (ベラドンナ)	hyoscyamine	
<i>Brunfelsia grandiflora</i>	Amazone	tropane alkaloid
<i>Cestrum laevigatum</i>	Brazil	gotogeninn, digitogenin, solasonine
<i>Datura suaveolens</i> , <i>D. sanguinea</i> ,	<i>D. candida</i> , <i>D. stramonium</i> (ダツラ)	
Tropane alkaloid		tropane alkaloid
<i>Datura metel</i>		meteloidine
<i>Hyoscyamus niger</i>		tropane alkaloid
<i>Latua pubiflora</i>		
<i>Mandragora officinarum</i> (マンドラゴラ)	Europea	
		cuscohygrine (mandragorine)
<i>Methysticodendron americana</i>		
Zygophyllaceae ハマビシ科		
<i>Peganum harmala</i> seeds	Mediterranea	β -carboline alkaloid (harmine, harmaline)
<i>Iochroma fuchsioides</i>	Colombian Andes	
单子葉植物		
Araceae (サトイモ科)		
<i>Acorus calamus</i>	North American Indians	asarone
<i>Homalomena seriba</i>	Papua	
Amaryllidaceae (ヒガンバナ科)		
<i>Pancratium trianthum</i>	west tropical Africa	
Zingiberaceae (ショウガ科)		
<i>Kaempferia galanga</i>	New Guinea	

体（マジックマッシュルーム）にその存在が示唆された。そこでGC-MS分析を行ったところ、シロシン、シロシビンに類似するマススペクトルを有するものは検出されなかった。

しかしながら、最近上記キノコの菌体を試験管に封入したもののが渋谷等の盛り場で販売されている。本品を付属の指導書に従って培養後、形成した子実体からは TLC 上でシロシビンに相当するスポットが検出されており今後その取り扱いには充分な注意が必要と思われる。

(4) 形態的鑑定（市場のベラドンナとワンウッド）

ベラドンナは淡紫青色の花を乾燥したもので、花の構造からヒレンソウ属植物 (*Delphinium*) であると鑑定した。花序は総状で、花の構造は5花被は離弁で、花被の一部には、距が認められる。この特徴はスミレ類とヒレンソウ属植物の特徴であるが、スミレの距は1個であるが、ヒレンソウ属は2片に見られる。この試料では距が明らかで、2枚の花弁にあり、外片の距の中に内片の距が入り、一つの距となる。スミレ類は草質のガク片と膜質の花片は明らかに区分できるが、ヒレンソウ属はガク片と花片共に膜質で

区別できない。雄しべ10~12本で、花糸はへら状になる。花弁の色は青色なことからヒレンソウ属植物 (*Delphinium*) と鑑定した。ヒレンソウ属植物の園芸品種にベラドンナと呼ばれる *Delphinium x belladonna* 種がある。この植物は *Delphinium elatum* と *Delphinium grandiflorum* の交配種で20世紀にヨーロッパで作出された品種である。この品種の青色の系統と特徴がよく一致する。なお、薬用植物のベラドンナ *Atropa belladonna* はナス科植物で、花は合弁、花に色は暗黒紫色であり明らかに異なる。成分としてはジテルペナルカルイドが知られているので、含有量によっては幻覚作用との関連も予測される。

ワンウッドは草本植物の地上部の乾燥品で、ルーペ視及び顕微鏡で特徴を観察したところ、葉の要素、茎の要素がみられた。これらの特徴からニガヨモギ（キク科、*Artemisia abssinthium*）の特徴とよく一致した。ニガヨモギは成分の absinthin が知られている。ニガヨモギの英名は Worm wood であることから、“ワンウッド”と呼ばれたのではないかと思われる。ヨーロッパではこれから作るアブサン酒があるが、中毒を起こすために使用が規制されて

いる。

(5)今後の課題

今回、延べ35品目のいわゆる合法ドラッグについて、6種の活性化合物群に関する成分分析を行った。この結果、半数以上の検体よりカフェインが検出された。一方、催幻覚作用物質であるハルミン、シロシビン、また各種ステロイドホルモン、ヨヒンビンおよびエフェドリン系アルカロイドは検出されなかった。

今後も引き続き、成分分析の対象となる化合物群を拡大すると同時に、より簡便で高感度な分析方法を検討する予定である。

また、マジックマッシュルームは菌糸状態で流通しているため、菌の同定を行う目的で培養を行い子実体を形成させると共に、比較のために沖縄でオオシビレタケ *Psilocybe subaeruginascens* を採集し、シロシン、シロシビンの生成を確認した。

これらの未規制薬物について含有成分やその作用について明確にすることは、乱用や長期摂取による健康障害を防止するために重要な役割を果たす。また、「合法ドラッグ」への興味と接近が「非合法ドラッグ」への近道となり低年齢化する「麻薬」使用者や「麻薬」使用を安易に認める保護者への科学的警告としたい。

このほか、有毒な植物が持ち込まれることも考えられる。例えば、香港支庁が有毒注意を要する生薬29品を上げている¹⁰⁾。これらは鬼臼、トリカブト類（生川鳥、生草鳥、生附子、雪上一枝蒿）、ナス科植物（生天仙子、洋金花）、サトイモ科植物（生白附子、生半夏、生南星）、ホミカ（生馬錢子）、ハズ（生巴豆）、トウダイグサ類（生甘遂、生狼毒、生千金子）、生藤黄、シャクナゲ類（鬧羊花）、山豆根、センソ（蟾酥）、カンタリス類（斑蝥、青娘蟲、紅娘蟲）、砒素類（砒石、砒霜、雄黃、雌黃）、水銀類（水銀、紅、朱砂、輕粉、白降丹）である。幻覚植物に関してはSchultesが1980年にまとめている¹¹⁾。

VI. 薬用資源植物の探索

世界の薬用資源植物は各国の伝統薬として、研究されてきているが、まだ研究材料となつたことのない植物も多数ある。近年、薬用植物資源に関しては民族植物学 Ethnobotany や民族薬学 Ethnopharmacology としての論文も多く見られる⁴³⁾。薬用資源の探索を生薬部及び薬用植物栽培試験場が行っているのでその一部を報告する。筆者は植物資源の最も多く分布しているアマゾン川流域への調査や技術援助を1985年から1996年までおこなってきた。アマゾン川の中流のペルー・イキトスの薬用植物は興味あるものが多い。

アマゾン川は多くの支流がペルーとブラジルの国境で合流して本流となる。この合流点がペルーアマゾンの中心地

イキトスである。アマゾン川流域は、そのほとんどが熱帯雨林で覆われ、薬用植物の宝庫である。イキトスの薬用植物を扱っている市場の薬草露店には木の幹から草の根までが所狭ましと置いてある。これらの中で目を引いたのは、薪のようなクマセバ、樹皮のタワリ、根茎が連珠状と芋状の2種類のピリピリである。色々な薬用植物のアルコール漬けの飲みものが瓶に詰められて並んでいる。この市場の植物の取れるところは、アマゾン川の支流ナナイ川を小形船で約2時間位遡った小さな村（ヤリナコウチャ）のジャングルである。この村のシャーマン（祈祷師）の収穫しているものは黄褐色の樹皮の大木で、タワリ（真菌症の治療薬、抗癌薬として売られている）である。このシャーマンは人の手が届く高さの樹皮をはぎ取り、剥ぎ採ったところが過去の採取の痕として残り、古い傷は充填組織ができる新しい樹皮になっている。薬用としての収穫を計画的にやっているようで感心した。この植物はノウゼンカズラ科の *Tabebuia* sp. で、抗癌作用があると言われるが、抗腫瘍性の試験では強い活性は見られていない。大木の間に生えている黒褐色の細い木がクマセバで、この植物はマメ科の *Swartzia polylla* で、材は脱臼の治療に使われている。この植物から取られた成分は 5 α -reductase 活性阻害作用があり、脱臼以外の作用も期待される。ジャングルの外側の草地に幻覚植物として知られているアヤワスカ（キントラノオ科の *Banisteriopsis caapi*）が生えている。アヤワスカは蔓状で、低い草に覆い被さっている。このシャーマン（祈祷師）はアヤワスカを用いて、インディオへの治療を行っている。シャーマン（祈祷師）の庭で栽培されている植物ピリピリは根茎が連珠状で、カヤツリグサ科の *Cyperus articulatus* である。ピリピリは経口避妊薬としてシャーマン（祈祷師）を経由して利用されている。これに用いる植物はアマゾン地域で数種類が知られているが、菌の寄生によって花が咲かないものがあるので、植物の学名が判明していないものもある。寄生している菌は *Ballesia cyperii* で、この菌の代謝産物にバッカクアルカロイドが見いだされている。このアルカロイドの子宮筋収縮作用だけではこの避妊の作用は説明できない。ピリピリは漢方薬の香附子に類似した生薬で、共に婦人病に使うので成分や作用の類似性に興味が持たれる。ブラジルの Tukano 族はポリピリと類似した *Cyperis corymbosus* の根茎をお茶として飲み、避妊に用いている。Tukano 族の現地名 ta-sexka-ponamanise-ko は「子供を作らないための草」の意味である。ここでは、44種類の薬用植物を集めることができた。現在これらの資源としての利用価値を検索中である。

おわりに

薬用植物・生薬の分野に関係して、約30年になるが、今ほど国内の動きと世界の動きが違っている時期はなかった。

生薬、特に漢方製剤の使用の拡大に連れて、その副作用が話題になり、国民経済の縮小と共に漢方エキス製剤の市場は小さくなりつつある。しかし、生薬製剤が医薬品として効果がなく、副作用のあるものなら、使用の減少も認めざるを得ないが、漢方薬の効果に関しては多くの有効性の論文が発表されている。治療薬としての薬用植物・生薬製剤の重要性のみならず、予防薬として大きな効果を持っていえると思われる。

欧米での、薬用植物・生薬製剤の普及は、化学薬品では果たせない、医療効果を上げているからと思われる。

我々が取り扱っている薬用植物・生薬は国民の健康増進のために多くの作用が期待されている。国内の市場しかない漢方エキス製剤や伝統薬を世界の医薬品にするにはどうしたらよいのか、生薬の分野から行えることはなにか、このことからの研究を進めていきたいと思っている。

生薬・薬用植物が医薬品として利用されてきた歴史を考えると、我々の世代でこれらのものについて科学的に解明できることはほんのわずかであるかもしれない。しかしその資源の重要性を考えると、保存と保護を考慮した上での適切な利用を再度検討する必要がある。特に薬用植物の栽培においては、生薬の規格が整理されればされるほど、その資源としての見直しの重要性が生まれてくるものと思われる。

これらの資源と自然を守ることと、医薬品開発材料としての薬用植物の利用は矛盾するようであるが、自然を十分に理解して、活用することが自然を守るために必要であるといえる。1988年3月26日にWHO、国際自然保護連合、世界野生生物基金の共同で、“植物を救って、命を救おう”というチェンマイ宣言が出された。1992年にはリオ宣言が出され、このアジェンダ21に従って、自然と調和した資源の利用を行う時代である。

文 獻

- 1) Jean-Louis Vanherwegen, Michel Depierreux, Christian Tielemans, Daniel Abramowics, Max Dratwa, Michel Jadoul, Claude Richard, Dominique Vandervelde, Dirk Verbeelen, Renee Vanhaelen-Fastre, Maurice Vanhaelen: *The Lancet*, **341**, 387-391 (1993)
- 2) 田中敬雄, 新開五月, 糟野健司, 前田康司, 村田雅弘, 濑田公一, 奥田譲治, 菅原 照, 吉田壽幸, 西田律夫, 桑原 隆: 日腎会誌, **39**, 438-440 (1997)
- 3) 田中敬雄, 西田律夫, 澤井一智, 永江徹也, 新開五月, 石川資章, 前田康司, 村田雅弘, 濑田公一, 奥田譲治, 吉田壽幸, 菅原 照, 桑原 隆: 日腎会誌, **39**, 794-797 (1997)
- 4) 厚生省生活衛生局食品化学課長及び保健課長; サイリウム種皮、サイリウムシードガム等サイリウムを含む食品又は添加物によるアレルギーの報告について, 平成9年12月26日
- 5) 厚生省医薬安全局長; 「いわゆるハーブ類の取り扱いについて」, 医薬発第344号, 平成10年3月31日
- 6) R. E. Schultes, R. F. Raffauf, (1990); *Rhe Healing Forest, Medicinal and Toxic Plants of the Northwest Amazonia*, Discovers Press, USA, (1990)
- 7) 国立衛生試験所薬用植物栽培試験場; 植物目録, アップル社 (1987)
- 8) Neuwinger, H. D.: *African Ethnobotany, poisons and Drugs, Chemistry/Pharmacology/toxicology*, Chapman & Hill, London (1996)
- 9) William Turner: *A New Herballr* (1568, new edition), apartI-III, Cambridge, (1995)
- 10) WHO Report, *Regulatory Situation of Herbal Medicines, A World Review* (1998)
- 11) WHO Report, *Working Group on Herbal Medicines, (W0) TRM/ICP/TRM/001/VD/96, Report series number; RS/07/GE/36 (PHL)*, March 1998
- 12) 後藤: 日薬理誌, **52**, 496-510, 511-519, (1956)
- 13) Kuroyanagi M., Natori, S.: *Chem. Phar. Bull.* **27**, 592 (1979)
- 14) Hirano, I., et all.: *Cann.* **75**, 883 (1984)
- 15) Harborne, J. B.: *Dictionary of Plant Toxins*, Wiley (1996)
- 16) 佐竹元吉, 鈴木英世, 永井吉澄, 岡田 稔, 相樂和彦, 檀浦國夫, 倉重満雄: 生薬の純度試験に関する検討, 医薬品研究, **27**, 467-480 (1996)
- 17) 佐竹元吉, 関田節子, 安田一郎, 藤田正雄, 白鳥 誠, 人見信之, 清水袈裟光, 岡田 稔, 箕浦修介, 新 邦夫, 永井吉澄, 有本恵子: 生薬の微生物限度に関する研究, 医薬品研究, **27**(10), 706-707 (1996)
- 18) 倉田 浩, 名取信策: 昭和49年度厚生科学研究, 酵素・臓器・生薬含有製剤の菌数限度基準作成実態調査結果, 未発表 (1974)
- 19) 倉田 浩, 名取信策: 昭和54年度厚生科学研究, 生薬に対する滅菌法確立のための研究, 未発表 (1979)
- 20) 佐竹元吉, 木島正夫, 後藤 実, 西岡五夫, 岡田 稔, 永井吉澄: 市場生薬と医薬品各条の整備, 医薬品研究, **25**, 300-305, (1994)
- 21) Benzi, G., Ceci, A.: *Pharmacological Research*, 35, 5 *Herbal Medicines in European Regulation* (1997)
- 22) McGuffin, M., Hobbs, C.: *American Herbal Products Association's Botanical Safety Handbook*, CRC Press (1997)
- 23) Weiss, R. F., "Herbal Medicine (translated from German)". Beaconsfield Publishers Ltd., England (1988)
- 24) Katiya, S. K., Korma, N. J.: *Anal. Nat. Cancer Inst.*, **89**, 556-566 (1997)
- 25) Strauch, G., Perrles, P.: *Eur. Urol.* **26**(3), 247-252 (1994)
- 26) Bonbardelli, E., Morazzoni, M. R.: *Fitoterapia*, LX VIII, 99-113 (1997)
- 27) Kleijnen, J., Knipschild, P.: *Lancet*, **340**(7), 1136-1139 (1992)
- 28) Hoon, H., Staba, E. J.: *J. Herbs. Species & Medicinal Plant*, **1**(1/2), 91-124 (1992)
- 29) Okpanyi, S. N., Lidzba, H.: *Arzneim., Forsch.*, **40**, 851-855 (1990)
- 30) American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium, Quality control, Analytical and Therapeutic Monograph, July (1997)
- 31) Kato, M., Al-Sultan, Saleem, A. N.: *Vet. Hum. Toxicol.*, **35**(4), 298-300 (1993)

- 32) C. Hobbs: *HerbalGlam*, **30**, p33-48 (1994)
- 33) Bauer, H., Wagner, H.: *Economic and Medicinal Plants Research* **5**, 253-321 (1991)
- 34) Parnham, M. J.: *Phytomedicin*, **3**(1), 95-102 (1996)
- 35) Medon, P. J., Fwagusum, P. W., Watson, C. F.: *J. Rjionopharmacology*, **10**, 235-241 (1984)
- 36) Awang, D.V.C.: *Can. Pharm. J.*, **129**(oct), 52-55 (1996)
- 37) German Commission E Monograph: *Bundesanzeiger*, No.11 (Jan., 1991)
- 38) Bverett, D. J., Perry, C. J., Bayliss, P.: *Medical. Sci. Res.*, **16**, 865-866 (1988)
- 39) Cant, A., Shay, J., Horrobin, D. F.: *J. Nutr. Sci. Sci. Vitaminol.*, **37**, 573-579 (1991)
- 40) M. da Consolac[#]o, F. Linardi, M. M. de Oliveira, M. R. P. Sampaio: *Journal of Medicinal Chemistry*, **18**(11) p 1159-61 (1975)
- 41) J. K. Grace, D. L. Wood, G. W. Frankie: *Journal Chemistry Ecol.*, **15**, p129-139 (1989)
- 42) R. E. Schultes: *The Botany and Chemistry of Hallucinogenes*, Charles C. Thomas Publishers, Springfield. III., Ed.2 (1980)
- 43) B. Holmstedt: *Journal of Ethnopharmacology*, **1**, 3-21 (1979)

依存性薬物の毛髪への移行に関する研究^{#1}

木倉瑠理^{#2}・中原雄二

Studies on mechanism of drug incorporation into hair^{#1}

Ruri Kikura^{#2} and Yuji Nakahara

Drugs and endogenous compounds circulating in the blood are partially incorporated into the growing hair and are retained there for a long time. Therefore, hair analysis has been used as a useful method for detecting and monitoring drugs from days to years after ingestion. Although numerous drugs and metabolites have been detected in hair, many factors are still not cleared on the mechanisms responsible for the incorporation and retention of drugs in hair. In this study, the incorporation mechanisms of drugs from blood into hair were investigated with respect to the contributions of the physicochemical properties of the drugs. The following conclusions were drawn from the results. 1. Drug concentrations in hair were compared to their pharmacokinetic parameters using an animal model, and it was shown that the incorporation of drugs from plasma into hair distinctly depended upon the physicochemical properties of each drug. 2. As an index of facility of incorporation of a drug into hair, Incorporation Rate (ICR) was defined as the ratio of drug concentration in hair to the area under the concentration versus time curve (AUC) in plasma. The effects of structural factors on ICRs were determined using amphetamine analogs, and it was shown that the basicity and lipophilicity affected the drug incorporation into hair. 3. In *in vitro* experiments, ICRs positively correlated with melanin affinity and lipophilicity. In particular, melanin affinity principally controls the incorporation of basic drugs into hair. 4. In distinguishing legitimate amphetamine - like OTC drug use from illegal amphetamine/methamphetamine use, hair samples were more useful than urine samples due to the easier long term detection of parent drugs or specific metabolites in hair.

Keywords: hair analysis, drugs of abuse, drug incorporation

1. はじめに

毛髪中の薬物分析について本格的に研究が行われるようになったのはここ10数年のことであるが、薬物を摂取した場合、その一部が毛髪中へ取り込まれることはすでに多くの研究結果から明らかにされている。1979年に Baumgartner ら¹⁾がラジオイムノアッセイを用いてヘロイン中毒者の毛髪からモルヒネを検出して以来、現在までに裁判化学の分野を中心に、覚せい剤²⁻¹⁵⁾、コカイン(COC)¹⁵⁻⁴¹⁾、オピエイト^{15,34-40,42-65)}、フェンシクリジン(PCP)^{41,66-69)}、リゼルギン酸ジエチルアミド(LSD)⁷⁰⁾、大麻成分^{40,71-73)}など様々な薬物が、ng/mg レベルで毛髪中から検出されている。

毛髪は主に毛根部と毛幹部に大別される。毛根部分に存

在する毛乳頭には毛細血管が入り込み、ここで血液中の薬物が一部毛髪中に取り込まれ、毛母細胞が成長して分裂を繰り返し角化しながら毛幹部へと押し上げられていく際に、細胞の角化に従ってその部位に固定され、毛髪の成長とともに毛根側から先端に移動していくと考えられている。また、現在までに、薬物の使用時期と毛髪中の薬物分布が良く一致し、毛髪分析により長期間にわたる過去の薬物使用歴の推定が可能であることが示されている^{6,7,10)}。このため、毛髪試料を用いた薬物分析では、血液や尿など他の生体試料中から完全に薬物が消失した後でも数年間にわたる薬物モニタリングが可能であり、様々な分野で用いられるようになってきた。例えば、近年では、妊婦の薬物使用による胎児への薬物暴露の評価⁷⁴⁻⁸⁶⁾、薬物依存の進行度の診断¹⁰⁾、医師の処方通り薬を使用しているかを知るコンプライアンス⁸⁷⁻⁹⁵⁾、オリンピック等の競技会のドーピング証明⁹⁶⁾、またダイオキシン等の環境汚染物質のヒトへの長期暴露評価⁹⁷⁾などに毛髪分析が応用されている。

このように、毛髪は過去の化学物質の暴露状況を長期間にわたって記録する、いわばテープレコーダーとしての役

^{#1} 本総説は学位論文「依存性薬物の毛髪への取り込み機構に関する研究」(千葉大学大学院薬学研究科博士号, 1998. 2) の内容の一部を要約したものである。

^{#2} To whom correspondence should be addressed: Ruri Kikura; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext.245; Fax: 03-3707-6950; E-mail:kikura@nihs.go.jp

割を持つ大変有用な試料と考えられる。しかしながら、血液中から毛髪へどのような機構で薬物が移行し、そして保持されているのか未だ不明な点も多い。毛髪は主にケラチン蛋白、メラニン色素、脂質、微量元素、水分から構成されている^{98,99)}。その中でも特にメラニン色素は、化合物の毛髪への移行や毛髪中の保持に大きく関与しているのではないかと考えられている。いくつかの薬物は、生体中のメラニン含有組織に蓄積されることが以前より指摘されているが、クロロキンを一回投与した有色マウスの眼中のメラニン画分から、一年を経ても相当量の薬物が検出されることが報告されている¹⁰⁰⁾。毛髪においても近年、ニコチン¹⁰¹⁾、オキサフロシン⁹²⁾、メサドン¹⁰²⁾、COC¹⁰³⁾、コデイン⁶²⁾などの薬物は、白色の毛髪と比較して、有色の毛髪により高濃度検出されることが報告されている。Cone らのグループ¹⁰⁴⁾では、様々な処置を施した頭髪を用いて、毛髪の構成成分と COC との結合を *in vitro* の系で調べている。その結果、異なる色の頭髪では、薬物結合能に大きな差がみられ、特に脱色した頭髪では薬物結合能が著しく低下することを示した。また、メラニン色素は、その構造中に多くのカルボキシル基、フェノール基、インドール・キノン構造を有することから^{98,99)}、塩基性薬物とイオン的な結合をすることが指摘されている。フェノチアジン系薬物やキノロン系薬物といった塩基性化合物はメラニンとの結合性が高いことで知られているが、この結合能は原子価の高い金属イオンの存在下で阻害されることが報告されている¹⁰⁵⁾。また最近、Rollins らのグループ⁶⁵⁾は、同一個体に黒毛と白毛を持つラットを用いた実験において、弱塩基性薬物であるコデインの毛髪中濃度は黒毛の方が高いものの、中性薬物であるフェノバルビタールは黒毛と白毛における薬物濃度がほぼ等しく、メラニン色素が塩基性薬物の毛髪への移行及び毛髪中の保持に関与していることを示した。一方、メラニン色素以外にも、毛髪の主成分であるケラチン蛋白も多くの酸性基をその構造中に有することから^{98,99)}、薬物との相互作用が考えられる。その他にも、Kalasinsky らのグループ¹⁰⁶⁾では、赤外顕微鏡を用いて毛髪横断面での薬物分布を可視的に表わす試みをしており、薬物により毛髪の異なる部位に存在することを示している。

このように、ここ数年で少しづつ個々の薬物について毛髪への移行に関する知見が蓄積してきた。しかし、薬物の血中パラメーターと毛髪中濃度にはどのような関係があるのか、血液から毛髪への移行に化合物の構造及び物性がどのように関与するのかを系統的に評価した報告はない。そこで、本研究では、薬物の血中から毛髪への移行を薬物の物性面で説明することを目的として、まず、毛髪中の各薬物のガスクロマトグラフィー/質量分析(Gas chromatography/mass spectrometry, GC/MS) を用いた微量分析法を検討し、COC 及びその代謝物について、動物実験モデルを用

いて、各血中パラメーターと毛髪中薬物濃度との関係を調べた^{107,108)}。また、血中薬物がどの程度の割合で毛髪中に取り込まれるのかを表わす指標のひとつとして、血中濃度時間曲線下面積 (Area under concentration versus time curve, AUC) 値に対する毛髪中濃度の比を Incorporation rate (ICR) 値として定義し、様々な物性を持つ35種類のアンフェタミン系薬物の ICR 値を求めた。そして、薬物の血中から毛髪への移行性に及ぼす化学構造の影響を検討した^{109,110)}。その結果、毛髪への移行には薬物の塩基性、脂溶性が関与していることを見い出したが、さらにそれらの物性の影響を調べるために、*in vitro* の系を用いて、塩基性が大きく関与していると思われるメラニン親和性及び脂溶性を20種類の依存性薬物について測定し、ICR 値との相関関係を調べた¹¹¹⁾。また最後に、これらの結果を踏まえ、毛髪を用いた薬物分析の裁判化学的分野における利用法として、摂取すると体内で覚せい剤に代謝され、既存の尿分析では覚せい剤との摂取識別が困難である合法的医薬品に着目し、毛髪を用いた覚せい剤との摂取識別法を確立して、毛髪分析の有用性を示した¹¹²⁻¹¹⁴⁾。

2. COC 及び代謝物の血中から毛髪への移行性

COC は中枢興奮性の麻薬として、強い精神作用をもたらす薬物である。COC は、摂取すると速やかに加水分解をうけ、血中、尿中からはベンゾイルエクゴニン (BE) 及びエクゴニンメチルエステル (EME) が主代謝物として検出される^{115,116)} (Fig.1)。Jeffcoat ら¹¹⁵⁾は、ヒトに COC を静脈注射、吸引、喫煙の3種類の経路で投与し、48 時間にわたる COC 及び BE の血中濃度変化を報告している。それによると、それぞれの投与経路における COC 及び BE の AUC 値の比は、静脈投与で1:7、吸引で1:13、喫煙で1:8となり、いずれにおいても COC と比較して BE の AUC 値は明らかに大きい値を示した。一方、現在までに、数多くの COC 乱用者の毛髪中の薬物分析が行われ、乱用者の毛髪中では他の代謝物濃度と比較して COC が極めて高濃度存在することが報告されている^{19,22)}。これらのことを考え併せると、血中薬物が毛髪へ移行する際、その物性により難易があることが推測される。しかし、実際、COC 及びその代謝物の血中薬物濃度比は毛髪中濃度比に相関しているのか、それとも薬物により毛髪への移行には何らかの差異が認められるのかを同一個体で検討した報告はない。そこで、まず、毛髪中の COC 及びその代謝物 BE 及び EME の GC/MS を用いた微量分析法を検討し、動物実験において COC 及びその代謝物の血中パラメーターと毛髪中濃度を比較して、それぞれの化合物の血中から毛髪への移行性の難易を調べた。なお動物実験では、有色の体毛を有する Dark-Agouti (DA) ラットを使用し、毛髪中の薬物濃度は、ラットから同一条件で採取した毛髪試

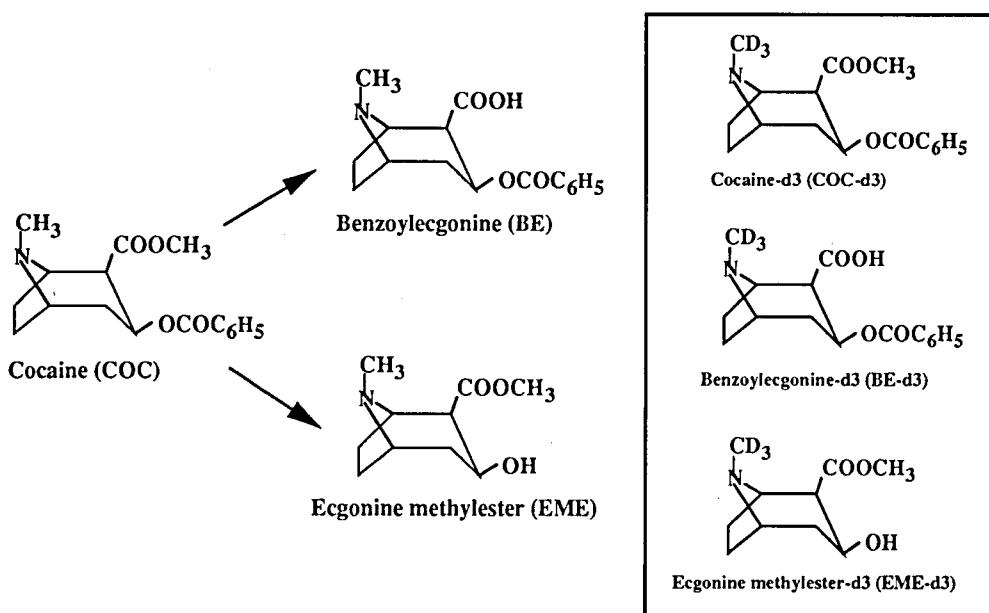


Fig.1 Structures of COC, its metabolites and their deuterated compounds

料を使用して測定した。すなわち、投与直前にラットの背部の毛を一定領域動物用バリカンで刈り取っておき、すべての薬物が血中、毛根中から毛幹部に移行すると考えられる初回投与4週間後（投与期間も含む）に同程度の長さで新たに生えてきた毛髪を刈り取り、その試料中の薬物濃度を測定した。またこの際、刈り取った毛髪を0.1%ラウリル硫酸ナトリウム溶液で3回、次いで水で3回、超音波下で各1分間ずつ表面洗浄し、十分乾燥させたものを試料として使用した。

2-1. ラット毛髪試料中からの薬物の抽出法の検討

毛髪中の薬物を効率良く、しかも夾雑物をできる限り除去する抽出方法は、毛髪分析において重要な要因となる。現在までに報告されている毛髪からの薬物の抽出法は大別すると、①アルカリで可溶化して抽出^{2,4}、②酸または酸性メタノール溶液で抽出^{17,19,20}、③酵素により可溶化して抽出^{18,22}の3方法がある。毛髪中からのCOC及び代謝物BE、EMEの抽出を考えた場合、COCはアルカリ条件下で速やかに加水分解を受けるので①のアルカリ可溶化は適さない。そこで、まず、②の酸性メタノール溶液による抽出法及び③の酵素処理による抽出法について、実際にCOCを投与したラットから採取した毛髪試料を用いて、毛髪中の薬物を効率よく抽出できる方法を検討した。

DAラットに塩酸COCを5 mg/kgずつ、5日間腹腔内投与し、背部に初回投与4週間後、新たに生えてきた毛髪を採取した。その毛髪試料30 mgを洗浄後、1)メタノール/5M塩酸(20:1)溶液による抽出、2)プロテイナーゼKによる酵素処理、3)ジオトレイトル(毛髪内のジスルフィド結合切断)及びプロテイナーゼKを用いる酵素処

理の3方法により抽出を行い、それぞれ固相カラムで精製して、GC/MS-SIM選択イオン検出法(selected ion monitoring, SIM)により各薬物の測定を行った。なお定量は、精度の良い微量分析を可能とするために、各々の薬物の重水素標識体を合成し内部標準物質として使用した。またBE、EMEは、それぞれペントフルオロプロピオン酸無水物(PFPA)及び1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール(HFiP)を用いて誘導体化して測定を行った。

3方法によって抽出した毛髪中の各薬物濃度はほぼ等しく、また、異なる2種類の抽出方法を続けて行った場合、2回目の抽出では3化合物のいずれも検出されなかった。ただし、夾雑物による妨害ピークを考慮すると、2)のプロテイナーゼK消化法を用いた抽出法が最も適していた。そこで以下の実験では、COC及びその代謝物の毛髪からの抽出はプロテイナーゼK消化法により行った。なお、分析に使用したGC/MS-SIMの条件下において、毛髪中のCOC、BE、EMEは良好な分離を示し、また試料中の常在成分による妨害はクロマトグラム上では認められなかった。定量は、COCをm/z 182、BEのPFPAによる誘導体を318、EMEのHFiPによる誘導体を182のモニタリングイオンで行った。それぞれの重水素標識体とのピーク面積比により検量線を作成したところ、0.3-20 ng/mgの範囲で直線性が得られ(r^2 は0.997以上)、添加回収率はいずれも90%以上であった。また分析の相対標準偏差(n=3)は、毛髪試料30 mgにCOC、BE、EMEをそれぞれ1.0 ng/mg添加した時は4.1、1.7、2.8%，10 ng/mg添加した時は2.4、1.6、1.3%であった。

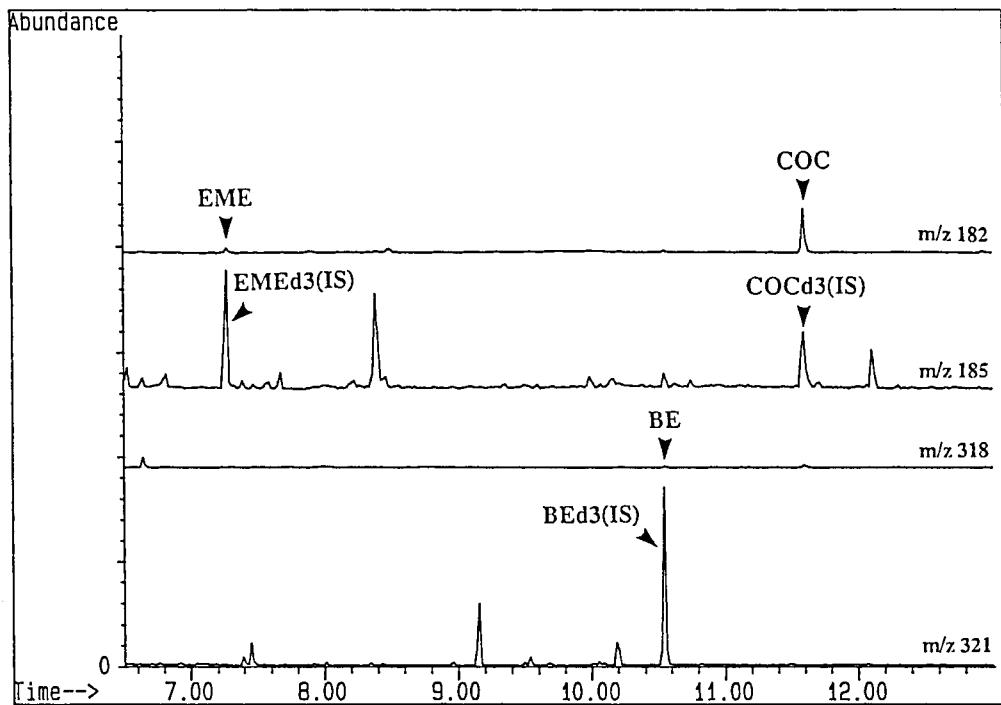


Fig.2 GC/MS - SIM chromatogram of rat hair extract
After i.p. administration of COC at 5 mg/kg for 5 days,
rat hair was cut, extracted and derivatized with PFPA
and HFiP.

2-2. コカイン及び代謝物のラット血漿中及び毛髪中濃度

9匹のDAラットに塩酸COCを5 mg/kgずつ5日間腹腔内投与し、初回投与後経時的に眼窩静脈叢より採血して、COC及びその代謝物であるBE、EMEの血漿中濃度をGC/MSにより測定した。分析の結果、いずれのラットもCOCは速やかに血中から消失し、COCの半減期は13.5分と、BE、EMEの半減期のそれぞれ1/6、1/13となった。最高血中濃度はCOCとBEはほぼ同程度、EMEはCOCの1/2程度であった。また、血漿中AUC値は、COC、BE、EMEでそれぞれ14.2、60.7、53.4 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$ となり、COCは代謝物の値の1/4程度となった。一方、初回投与4週間後に採取した毛髪試料中のCOC及びBE、EME濃度をGC/MSにより測定した。Fig.2に毛髪抽出物の誘導体のGC/MS - SIMクロマトグラムを示す。測定の結果、毛髪中の各薬物濃度は、COC、BE、EMEがそれぞれ 16.4 ± 4.8 、 1.7 ± 0.4 、 $0.8 \pm 0.3 \text{ ng/mg}$ となり、COC濃度がBE、EMEの9.6及び20.5倍と極めて高い値を示した。もし、血中から毛髪への移行には薬物によって選択性がないとすると、毛髪中の各薬物濃度比は血中の各薬物濃度比を反映すると思われる。しかしながら、今回の結果において、ラット血漿中COC、BE、EMEのAUC値の比は1:4.3:3.8であったにもかかわらず、毛髪中の薬物濃度比は1:0.10:0.05であった。以上の結果より、COCは、BE、EMEと比較して、血中から毛髪中への移行性あるいは毛髪中での

保持力が極めて高い化合物であることが示唆された。COCは脂溶性の高い塩基性化合物(pK_a 8.6)として知られているが¹¹⁾、BE、EMEはそれぞれカルボキシル基と水酸基を有するより極性の高い代謝物である。このような化合物の物性の違いにより、移行性が異なるのではないかと考えられる。

2-3. コカインの代謝物を投与したラットの血漿中及び毛髪中薬物濃度

さらに上記化合物の毛髪への移行性を検討するために、代謝物BE、EMEそのものをそれぞれDAラットに投与して、血漿中のAUC値と毛髪中濃度を比較した。DAラットにBE、EMEをそれぞれ10 mg/kgずつ5日間腹腔内投与し、初回投与後経時的に採血して、血漿中の薬物濃度をGC/MSにより測定した。血中濃度変化からBE、EMEの血漿中AUC値を算出したところ、それぞれ1323及び $411 \mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$ であった。一方、初回投与4週間後に新たに生えてきた毛をラット背部から刈り取り、毛髪中薬物濃度を測定したところ、EMEは 6.0 ng/mg であったが、BEは 0.3 ng/mg であった。前述した通り、COCを投与したラット毛髪中からCOCとともにBE、EMEも検出され、AUC値に対する毛髪中濃度の比はそれぞれ0.028、0.015であった。今回、代謝物そのものを単独投与した場合、AUC値に対する毛髪中濃度の比はEMEでは0.015を示した。しかし、BEにおいては、AUC値はCOC投与の際に代謝物として検出された値の21.6倍であったものの、

毛髪からは1/6程度しか検出されなかった。このことから、COC投与ラットの毛髪中から検出されたBEは、BE自身が血中から毛髪へ移行したものではなく、主に、COCが毛髪へ移行した後、毛根もしくは毛幹部分で酵素的、化学的加水分解を受けて生じたものである可能性が示唆された。

2-4. コカイン及び重水素標識した代謝物を同時投与したラットの血漿中及び毛髪中薬物濃度

COCを投与した際に毛髪中から検出された代謝物BEの由来を確認するために、ラットにCOC及び代謝物の重水素標識体BE-d3, EME-d3をそれぞれ3, 0.5, 0.5 mg/kgずつ、同時に10日間腹腔内投与し、COCとその代謝物であるBEとEME、そしてBE-d3, EME-d3の血漿中薬物濃度変化を測定した。また、初回投与後4週間で新たに生えてきた毛をラット背部から刈り取り、各々の毛髪中濃度を測定した。

2-2. でも見られたように、COCの血漿中AUC値はCOCの代謝産物であるBE, EMEと比較して低い値を示したが、毛髪中濃度は15.4 ng/mgであり、BE, EMEのそれぞれ3倍、7倍の高濃度を示した。一方、COCと一緒に投与したBE-d3, EME-d3の血漿中AUC値はそれぞれ38.5, 33.5 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$ と、BE, EMEの値よりも2.6及び4.6倍高い値を示した。しかし、毛髪中では、EME-d3はEMEと同程度検出されたが、BE-d3は痕跡量しか検出されず、その濃度はBEの1/17以下であった(Fig.3)。これらのことから、BEは血中から毛髪へはほとんど移行せず、COCを投与した際に毛髪中から検出されたBEは、主にCOCが毛髪中、毛根中で分解もしくは代謝をうけた結果生成したものであることが示された(Fig.4)。

以上の結果より、血中から毛髪への薬物の移行性は化合

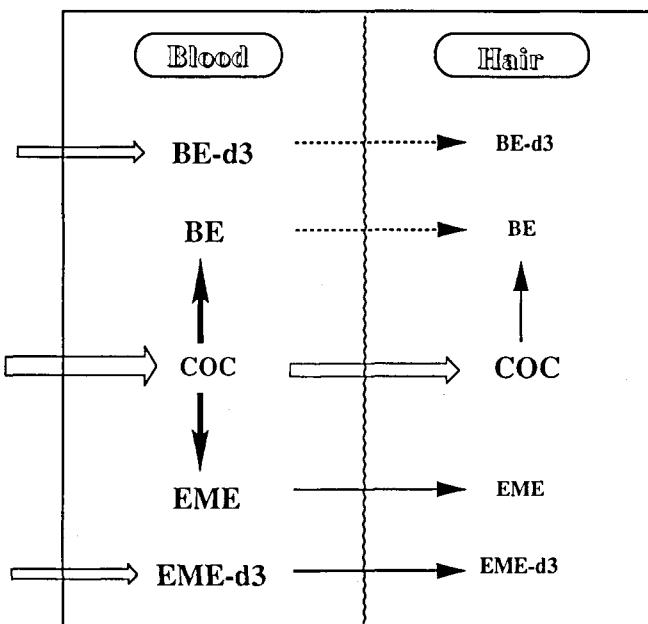


Fig.4 Mechanism model of incorporation of COC and its metabolites from blood into hair and chemical conversion of COC in hair

物により異なり、COCはその極性代謝物であるBE, EMEと比較して極めて毛髪への移行が高いことが明らかとなった。毛髪では、薬物の挙動が他の生体試料とは異なり、消失が速いために他の試料中からは検出が困難であるCOCのような薬物でも、長期にわたり高濃度検出されることは、注目に値する結果であると思われる。

3. 薬物の毛髪への移行性と化学構造との相関

前述したように、血中から毛髪への移行には化合物により難易があることが明らかとなった。そこで、毛髪への薬物の移行性を薬物の物性面からさらに検討することを目的とし、覚せい剤アンフェタミン(AP), メタンフェタミン(MA)に着目して、これらをモデル化合物とした様々な側鎖を持つ35種類のアンフェタミン系薬物(Table 1)を用いて、薬物の毛髪への移行性に及ぼす化学構造の影響を調べた。

薬物の血液中から毛髪への移行性を検討する際、血中側の薬物動態的なパラメーターとして、その薬物の消失の速さを示す半減期、最高血中濃度、血中薬物の総量を示すAUC値等が考えられる。我々¹⁰⁾は今までに、MAを投与したラットの毛髪中のMAと脱メチル代謝物であるAP濃度は投与量に比例して増加し、投与量及び血漿中AUC値と毛髪中濃度には正の相関関係がみられることを報告している。一方、米国のRollinsら⁶³⁾のグループにおいても、コデインをモデル化合物とした動物実験において、コデインとその代謝物であるモルヒネでは、投与量と毛髪中濃度に高い相関があることを示している。また、反復静脈投与

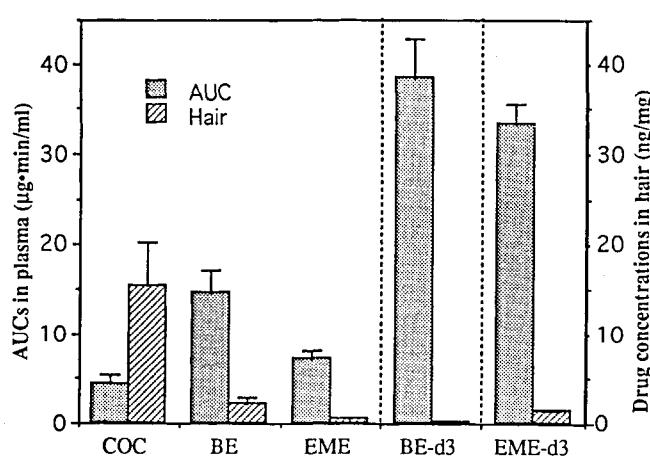
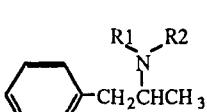
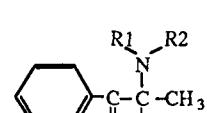
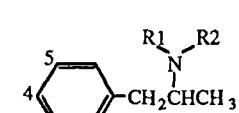
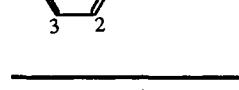


Fig.3 Comparison of rat plasma AUC and hair concentration of drugs

Rat was i.p. co-administered by COC, BE-d3 and EME-d3 at 3, 0.5 and 0.5 mg/kg, respectively.

Table 1. Structures and ICRs of 35 drugs

Drugs	R1	R2	ICR ([Hair]/AUC) *				
Amphetamine (AP)	H	H	0.10				
Methamphetamine (MA)	H	CH ₃	0.13				
Ethyldamphetamine (EAP)	H	CH ₂ CH ₃	0.14				
Propylamphetamine (PAP)	H	CH ₂ CH ₂ CH ₃	0.26				
Mefenorex (MFX)	H	CH ₂ CH ₂ CH ₂ Cl	0.33				
							
Clobenzorex (CBX)	H	CH ₂ C ₆ H ₄ Cl	1.81				
Prenylamine (PLA)	H	CH ₂ CH ₂ CH(C ₆ H ₅) ₂	1.43				
Desmethylbenzphetamine (norBZP)	H	CH ₂ C ₆ H ₅	0.38				
Benzphetamine (BZP)	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	1.55				
Desmethylfurfenorex (norFFX)	H	CH ₂ C ₄ H ₃ O	0.33				
Furfenorex (FFX)	CH ₃	CH ₂ C ₄ H ₃ O	0.69				
							
Dimethylamphetamine (DMA)	CH ₃	CH ₃	0.04				
Fenproporex (FPX)	H	CH ₂ CH ₂ C≡N	0.05				
Desmethyldeprenyl (norDPN)	H	CH ₂ C≡CH	0.02				
Depronyl (DPN)	CH ₃	CH ₂ C≡CH	0.03				
Formylmethamphetamine (FMA)	CH ₃	CHO	0.005				
Acetylamphetamine (AcAP)	H	CH ₃ CO	**				
Acetylmethamphetamine (AcMA)	CH ₃	CH ₃ CO	**				
							
Cathinone (CTN)	H	X	Y				
Amfepramone (AFP)	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	O	0.01			
Phenylpropanolamine (PPA)	H	H	O	0.01			
Ephedrine (EP)	CH ₃	H	H, OH	0.07			
Methylephedrine (MEP)	CH ₃	CH ₃	H, OH	0.10			
Phentermine (PTM)	H	H	H, H	0.03			
Mephentermine (MPT)	CH ₃	H	H, H	0.17			
			CH ₃	0.24			
							
3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDA)	H	H	2	3	4	5	0.30
3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA)	CH ₃	H	-OCH ₂ O-	H			0.77
3,4-Methylenedioxymethylamphetamine (MDEA)	C ₂ H ₅	H	-OCH ₂ O-	H			0.85
3-Methoxy-4,5-methylenedioxymethamphetamine (MMDA)	CH ₃	H	-OCH ₂ O-	H			1.24
Methoxyphenamine (MOP)	CH ₃	H	OCH ₃	-OCH ₂ O-			0.43
p-Methoxymethamphetamine (MOMA)	CH ₃	H	OCH ₃	H	H	H	0.40
p-Hydroxyamphetamine (OHAP)	H	H	H	OCH ₃	H		0.03
p-Hydroxymethamphetamine (OHMA)	CH ₃	H	H	H	OH	H	0.07
4-Hydroxy-3-methoxyamphetamine (HMAP)	H	H	H	OCH ₃	OH	H	0.35
4-Hydroxy-3-methoxymethamphetamine (HMMA)	CH ₃	H	H	OCH ₃	OH	H	0.47

*: ICR means the ratio of drug concentration in hair to AUC in plasma.

**: Drug was not detected in the hair sample.

と定速静脈投与の2種類の投与方法において、AUC値に対する毛髪中濃度の比がほぼ一定となることから、毛髪中のコデイン濃度は血中の最高血中濃度や半減期よりも、むしろAUC値に影響されることを示唆している⁶³⁾。そこで、以上の点を考慮し、血中薬物がどの程度の割合で毛髪中に取り込まれるのかを表わす指標のひとつとして、AUC値に対する毛髪中濃度の比 ([Hair]/AUC) をICR値として定義した。そして、それぞれの薬物についてICR値を求め、薬物の構造が毛髪への移行にどのような影響を及ぼしているのかを検討した。

まず、35種類のアンフェタミン系薬物をそれぞれ単独でDAラットに5 mg/kgずつ10日間連続して投与し、2に述べた方法と同様にして、血漿中AUC値と4週間後の毛髪中薬物濃度を測定した。アンフェタミン系薬物の毛髪からの抽出は、メタノール/5 M塩酸(20:1)溶液を用いて、1時間超音波抽出後1晩放置することにより行った。また、分析は血漿試料及び毛髪試料の酸性メタノール抽出物を固相カラムにより精製し、トリフルオロ酢酸無水物(TFAA)を用いて誘導体化した後、GC/MS-SIMにより行った。なお、定量には、各々の化合物の重水素標識体を合成し内部標準物質として用いた。

測定した35種類の薬物のAUC値及び毛髪中濃度からICR値を計算した結果、ICR値はそれぞれの薬物の物性により0から1.81もの広い範囲の値を示した(Table 1)。また、これら薬物について、導入した置換基を構造別に分類して検討した結果、以下に示す通り、それぞれの構造がICR値に影響を及ぼすことが明らかとなった(Fig. 5)。すなわち、1. 窒素に置換した炭素側鎖の長さ ($H < C1 < C2 < C3$) に従ってICR値は増加し、ハロゲン基が導入されることによりその効果は増強される。2. ベンゼン環やフラン環の導入によりICR値は増加し、その効果はベンゼン環の方が強く働く。3. ケトン基及び水酸基の導入によりICR値は減少し、その効果は芳香環水酸基のほうが脂肪族水酸基より強く働く。4. プロパルギル基、シアノエチル基の導入はICR値を減少させる。5. 窒素にアシル基を導入して薬物の塩基性を消失させると、薬物の毛髪への移行は消失する。6. 芳香環上のメチレンジオキシ基やメトキシ基は薬物の毛髪への移行を大きく上昇させるが、特にメチレンジオキシ基はその効果が大きい。7. β位の炭素にメチル基が導入されることにより、ICR値は増加する、以上の結果が得られた。窒素にアシル基を導入して塩基性を消失させた薬物では、毛髪への薬物の取り込みが認められなかつたが、

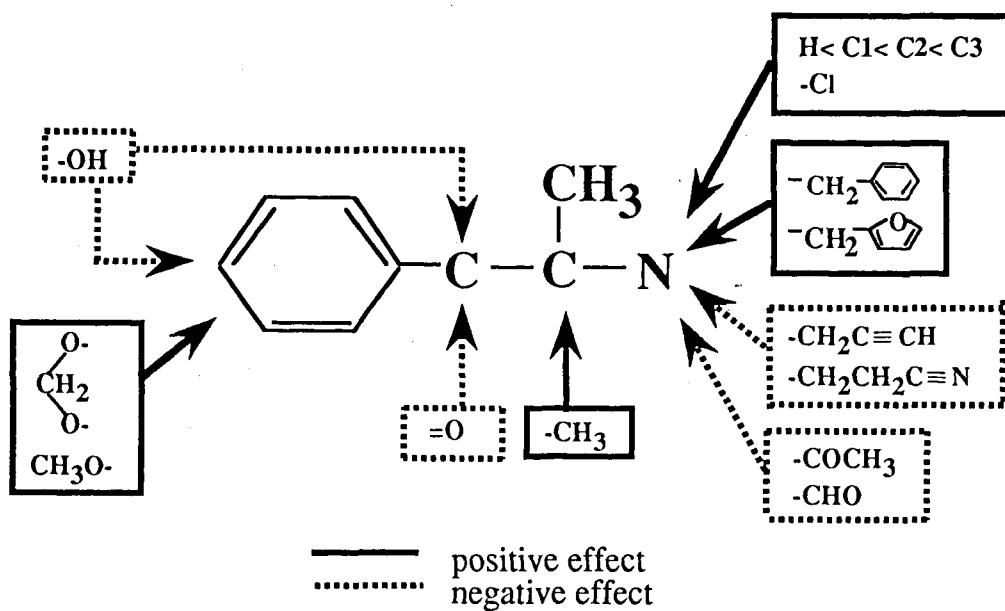


Fig.5 Effect of structural factors on incorporation of drugs into hair

のことから、薬物の塩基性 (pK_a) が毛髪への取り込みに大きく影響していることが明らかとなった。毛髪中のメラニン色素は酸性基を多く含み、毛髪の等電点は pH 4.0 程度であると言わわれている¹¹⁸⁾。そのため、毛髪中のメラニンとイオン的な相互作用を持ちやすい pK_a の大きい塩基性化合物ほど毛髪への移行もしくは毛髪中での保持力が高いのではないかと考えられる。一方、上記の結果において、薬物の窒素に置換した炭素側鎖の長さが増えるほど ICR 値が増大する、2 位の炭素にメチル基が導入されると ICR 値が増大する、ベンゼンやフラン環の導入により ICR 値が増大する、極性基の導入により ICR 値が減少することが示されたが、これらの結果より、薬物の脂溶性も毛髪への移行に影響を与えるのではないかと考えられる。また、ベンゼン環上にメチレンジオキシ基やメトキシ基を導入することにより ICR 値の増大が認められたが、ベンゼン環上のこれら電子供与性を有する基は、その薬物の毛髪への移行性に影響を与えるのではないかと思われる。

以上の結果より、薬物の毛髪への移行にはその構造により差異があり、薬物の塩基性、脂溶性が関与していることが示唆された。しかし、薬物の中にはそれだけでは説明できない化学構造の影響が見られるものもある。こうした複数の要因が関与して、毛髪中では他の組織では見られない薬物の挙動を示していると思われる。

4. 薬物の物性と毛髪への移行性

薬物の毛髪への移行性にはその薬物の塩基性と脂溶性が関与していることが示されたが、それらの物性が毛髪への移行性にどのような影響を及ぼしているかをさらに検討するために、薬物の塩基性が大きく関与していると思われる。

メラニン親和性及び脂溶性に焦点をあて検討を加えた。

薬物は、2 及び 3 で用いた13種類の薬物 (COC, BE, EME, MA, AP, OHMA, OHAP, MDA, MDMA, MOP, BZP, norBZP, DPN) とデスマチルメトキシフェナミン (norMOP)，ならびに Fig. 6 に示した6種類の代表的な依存性薬物及びその代謝物 (モルヒネ (MO), 6-アセチルモルヒネ (6MAM), PCP, 4-フェニール-4-ピペリジノ-シクロヘキサンオール (PPC), LSD, 11-ノル- Δ^9 -テトラヒドロカンナビノール-9-カルボン酸 (THCA)) の計20種類を使用した。これらの薬物について、まず動物実験において、ラット血漿中 AUC 値と毛髪中濃度を求め、各薬物の ICR 値を算出した。また、*in vitro* の系において、各薬物のメラニン親和性と脂溶性を測定し、それぞれの ICR 値と比較して、薬物のこれら物性と毛髪への移行性の関係を検討した。なお、薬物の毛髪からの抽出法は、COC 及びその代謝物は 2 で示した通り、アンフェタミン系薬物は 3 で示した通り行った。他の薬物については、最も効率良く、夾雑物が少ない毛髪からの薬物の抽出条件を検討した結果^{53,69,70)}、モルヒネ系薬物はメタノール/トリフルオロ酢酸 (9:1) 溶液による抽出が、PCP, PPC 及び LSD についてはアンフェタミン系薬物と同様にメタノール/5M 塩酸 (20:1) 溶液による抽出が、THCA についてはアルカリ可溶化による抽出が最も適した抽出方法であることが示された。

4-1. 依存性薬物の血漿中及び毛髪中濃度と ICR 値

まず、20種類の薬物について、それぞれの薬物を投与したラットの血漿中 AUC 値及び毛髪中濃度を測定し、それらの値から各 ICR 値を算出した。薬物の測定は、LSD については蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフィー

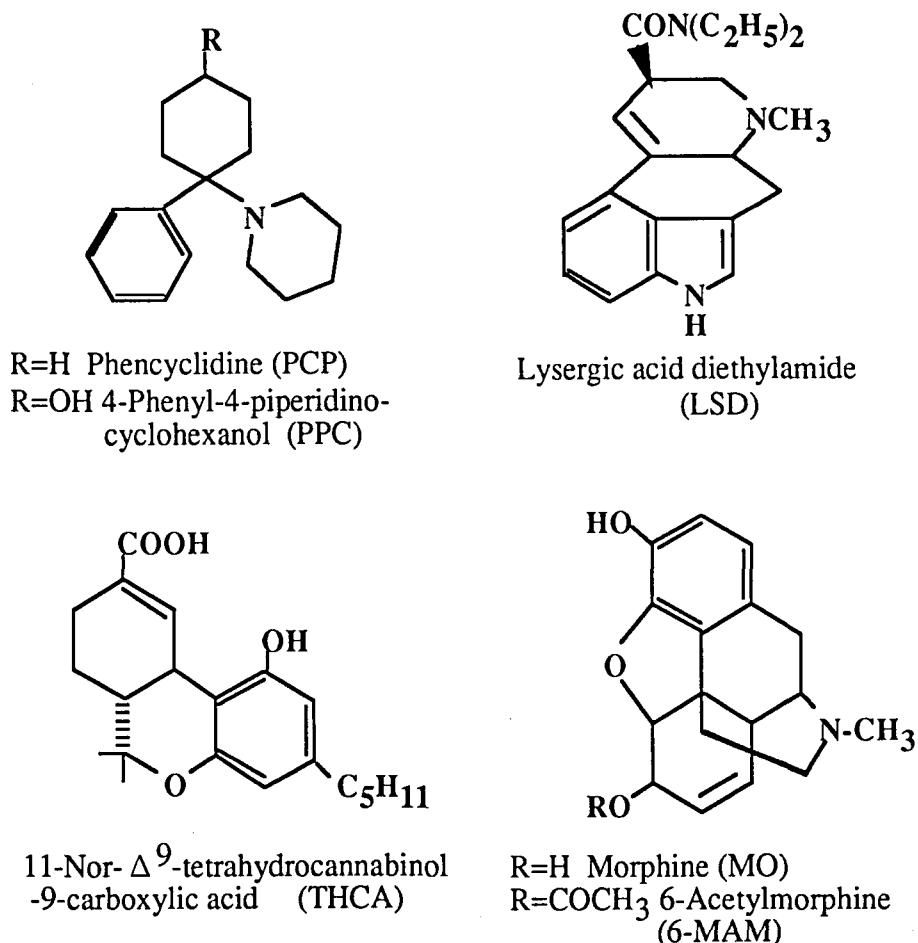


Fig.6 Structures of 6 abused drugs and their metabolites

(HPLC)により、他の薬物についてはGC/MS-SIMにより行った。Fig. 7に各薬物のICR値の対数値を示す。ICR値はそれぞれの薬物の物性により広い範囲の値を示し、その差は3600倍にも及んだ。これらの薬物を、高いICR値($\log ICR > 0$)、中程度のICR値($-1 < \log ICR < 0$)、低いICR値($\log ICR < -1$)の3つのグループに分類した場合、

COC, BZP, PCP等の塩基性薬物が高いICR値を示すグループに分類された。一方、酸性薬物であるTHCAや両性薬物であるBEなどは低いICR値を示すグループに分類されており、これらと比較して塩基性薬物のICR値は高い値となることが示された。

4-2. 薬物のメラニン親和性とICR値

In vitro 実験において、20種類の薬物のメラニン親和性を測定した。各薬物のメラニン親和性は次の通り算出した。各薬物溶液とメラニンの懸濁液を混和しインキュベーションした後、メンブランフィルターを通し、非結合薬物濃度をGC/MSもしくはHPLCで測定した。メラニンに結合した薬物濃度はコントロール値から非結合薬物濃度を差し引くことにより算出して、Langmuirの吸着等温式にあてはめて算出したk値をメラニン親和性とした¹¹⁹⁾。測定の結果、メラニン親和性はCOCが最も高い値を示し、次いでアンフェタミン構造の窒素にベンジル基が導入されたBZP及びPCPなどの塩基性薬物が高い値を示した。一方、酸性薬物であるTHCAが最も低い値を示し、他にも構造内にカルボキシル基を有するBEや水酸基を有する薬物などが低いメラニン親和性を示した。また、各薬物のICR

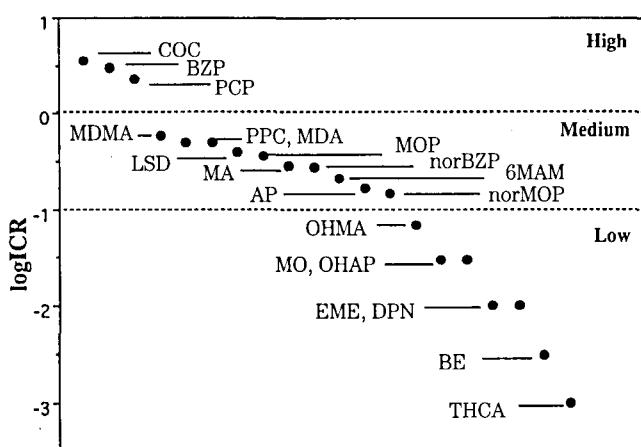


Fig.7 Classification of 20 drugs by ICRs into hair

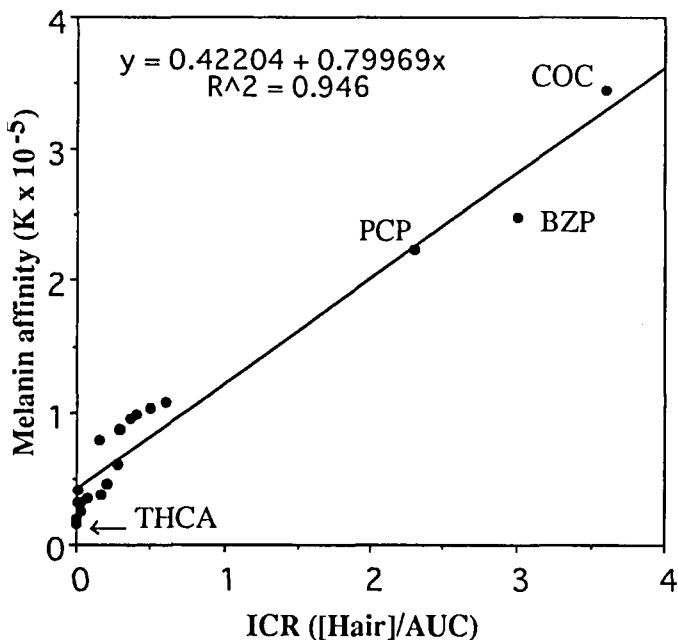


Fig.8 Relationship between melanin affinity and ICRs on 20 drugs

値とメラニン親和性との関係を検討したところ、ICR 値とメラニン親和性の間には正の相関が見られ、その相関係数は0.973と極めて高い値を示した (Fig. 8)。このことから、薬物の毛髪への移行にはメラニン親和性が大きく関与しており、そのメラニン親和性には薬物の塩基性が重要な要因であることが明らかとなった。

4-3. 薬物の脂溶性と ICR 値

20種類の依存性薬物の脂溶性を Kaliszan ら¹²⁰⁾の方法に従い、HPLC により測定した。HPLC において、ODS カラムを用いて、移動相の有機溶媒濃度を変えることにより各濃度における薬物のキャパシティーファクターの対数値 $\log k'$ を求め、有機溶媒濃度が0となった時の $\log k'$ 値を外挿した値、すなわち $\log k'w$ 値を脂溶性を表わすパラメーターとして用いた。測定の結果、 $\log k'w$ は THCA が最も高い値を示し、次いで PCP, BZP, COC であった。また、20種類の薬物の $\log k'w$ と ICR 値間の相関係数は0.201と低いものの、非常に高い $\log k'w$ を示す THCA を除いた場合、その相関係数は0.875となった (Fig. 9)。以上の結果より、脂溶性も薬物の毛髪への移行性に関与していることが示された。しかし、THCA は極めて高い脂溶性を示すにもかかわらず、その ICR 値は20化合物中最も低い値であった。THCA を除く19化合物は、その構造中にアミノ基を有する塩基性もしくは両性の化合物であるが、THCA は構造内にカルボキシル基を含む酸性化合物であり、メラニン親和性が最も低い化合物であるためではないかと思われる。

現在までに数多くの薬物が生体中のメラニン含有組織に

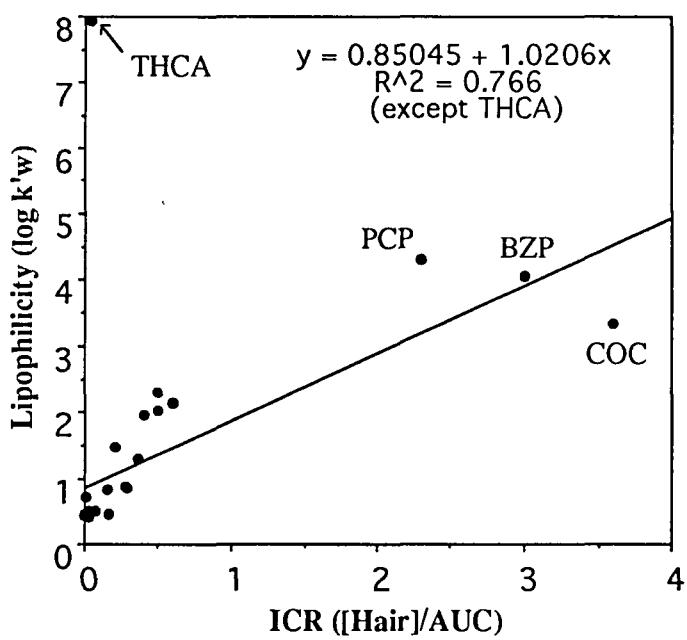


Fig.9 Relationship between lipophilicity and ICRs on 19 drugs
The correlation coefficient was calculated using the two factors of 19 drugs excluding THCA.

蓄積されることが報告されている。メラニンはインドール-5,6-キノンユニットの酸化重合体であり、その構造内には、フリーのカルボキシル基やフェノール性水酸基を有するドーパクロム、5,6-ジヒドロキシインドールカルボン酸などがある。Larsson¹⁰⁵⁾ らは塩基性薬物であるクロルプロマジン、クロロキン、パラコートについて *in vitro* の系でウシの眼中メラニン画分との結合を検討しているが、その結果、これら薬物は金属イオンによりその結合が阻害され、その阻害は金属の原子価が上がるほど強く現れることを報告している。また、溶液の pH を下げることによっても、これら薬物とメラニンとの結合が阻害されることから、薬物とメラニンとの結合には静電的相互作用が関与していると述べている。一方、Stepien¹²¹⁾ らは、合成ドーパ・メラニンとクロロキンとの結合における pH、イオン強度、有機溶媒の存在の影響を検討している。また、メラニン中のカルボキシル基をメチル化して薬物との結合に及ぼす影響を検討し、クロロキンとメラニンとの結合には、静電的相互作用だけではなく、メラニン中のインドール環と薬物の芳香環との van der Waals 力や疎水的相互作用なども関与していることを示した。さらに Zane¹²²⁾ らは、様々な物性をもつ27薬物のメラニン含有組織への分布を調べている。薬物の組織分布状態を、投与後5分と96時間後に有色系 Long-Evans ラットにおけるオートラジオグラムで評価したところ、初期の5分間での薬物のぶどう膜中（メラニン含有組織）への移行には、その薬物の酸・塩基性、pKa (イオン化状態)、薬物-メラニン結合エネルギー、 $\log P_{o/w}$ (オクタノール・水分配係数) が最も関与してお

り、96時間後での薬物のメラニン含有組織における保持には、それに加えその薬物の分布容積が関与していることを報告している。

今回の研究では、メラニン含有組織のひとつである毛髪において、薬物の毛髪への移行性を示すICR値には、メラニン親和性と脂溶性が大きく関与していることが明らかとなった。また、メラニン親和性の高い化合物はいずれも塩基性化合物であり、構造中にカルボキシル基を有するBEやTHCAはメラニン親和性が低いことが示された。特に酸性化合物であるTHCAは、極めて高い脂溶性を示し、さらに構造中にメラニン中のインドール環とvan der Waals力による相互作用が可能な芳香環を有するにもかかわらず、そのメラニン親和性及びICR値が極めて低いことが明らかとなった。メラニンと薬物との結合には前述したように、静電的相互作用が大きく関与しており、メラニン中の酸性基とイオン的な相互作用を及ぼすことができる塩基性薬物の方が、毛髪への移行性が高いのではないかと思われる。

このように、メラニンは薬物、特に塩基性薬物の毛髪への移行に重要な役割を果たしていると考えられる。しかし、ヒトの白髪や白色ラット毛髪にも、少量ながら薬物が検出されており、必ずしもメラニン親和性だけで薬物の毛髪への移行が説明できるわけではない。メラニン色素以外にも、毛髪の主成分であるケラチン蛋白も多くの酸性基をその構造中に有しております^{98,99)}、塩基性薬物との相互作用が考えられる。また、毛髪中に少量ながら存在する脂質も、薬物との非特異的な結合に関与しているのではないかと考えられる⁹⁹⁾。

5. 裁判化学的応用—毛髪分析による覚せい剤とアンフェタミン系医薬品との摂取識別一

日本の最大の薬物乱用問題は覚せい剤の乱用とそれに係わる犯罪である。現在、覚せい剤MA、APの不正使用証明は、尿中からのMA、APの検出により行われている。しかし、アンフェタミン系医薬品のなかには、デプレニール¹²³⁻¹²⁶⁾、ベンツフェタミン¹²⁷⁻¹³⁰⁾、フルフェノレックス^{127,128)}、メフェノレックス¹³¹⁾、フェンプロポレックス¹³²⁾、フェネチリン^{133,134)}のように、体内で覚せい剤に代謝され、これらが尿中に主代謝物として排泄される合法的医薬品が存在する。これらの薬物と覚せい剤の摂取識別を行うためには、生体試料中から未変化体、もしくはその薬物に特徴的な代謝物の検出が必要である。しかしながら、これら化合物のほとんどは速やかに体内から消失するため、血液や尿を試料として用いた分析では、一定時間を経ると、合法的な医薬品を摂取したのか、あるいは覚せい剤を摂取したのかの識別が困難な場合がある。

前述したように、薬物の血液から毛髪への移行性は、その物性により異なり、毛髪中の各薬物濃度比は血液中や尿

中のそれとは異なる様相を示す。また、一度取り込まれた薬物は長期間にわたり毛髪中に保持される。これらの毛髪の特性を考慮すると、毛髪試料を用いれば、時間を経ても未変化体が検体中から検出できる可能性が考えられ、過去のアンフェタミン系医薬品使用と覚せい剤使用の識別にも適用できるのではないかと思われる。そこで代表的なアンフェタミン系医薬品であるデプレニール(R(-)-N-メチル-N-(1-フェニル-2-プロピル)-2-プロパルギルアミン、DPN)、ベンツフェタミン(1-フェニル-2-(N-メチル-N-ベンジルアミノ)プロパン、BZP)及びフェネチリン(7-[2-(α-メチルフェニルエチルアミノ)エチル]-テオフィリン、FNT)の3薬物(Fig. 10)について、まず動物実験モデルを用いて、未変化体とその代謝物の血中から毛髪への移行性の違いを調べた。さらにはヒトにおいて、毛髪分析により覚せい剤との摂取識別が可能であるかを検討し、裁判化学の分野における毛髪分析の有用性を示した。

なお、毛髪からのこれら3種のアンフェタミン系医薬品の抽出は、3で述べた方法と同様に、メタノール/5M塩酸(20:1)溶液を用いて行い、分析は、血漿試料及び毛髪試料の酸性メタノール抽出物を固相カラムにより精製し、TFAAにより誘導体化した後、GC/MS-SIMにより行った。この際、内部標準物質として各々の化合物の重水素標識体を合成して用いた。

5-1. 毛髪分析によるDPNの摂取識別

DPNは、モノアミン酸化酵素B型の特異的阻害剤であり、パーキンソン病治療薬として、特に欧州で広く使用されている。DPNは摂取すると、ヒト尿中からMA及びAPが主代謝物として検出される¹²³⁻¹²⁶⁾が、未変化体やその脱メチル体(デスマチルデプレニール；norDPN)は消失が速いために、一定時間を経た尿中から検出することは困難である。一般に治療用に用いられているDPNはR(-)-エナンチオマーであり¹³⁵⁾、摂取をするとR(-)-MA、R(-)-AP及びそれらの水酸抱合体に代謝される¹²⁴⁾。現在日本で乱用されている覚せい剤MA、APはそのほとんどがS(+)-エナンチオマーであることから¹³⁶⁾、生体試料中のMA、APのキラル分析を行うことにより、覚せい剤と医薬品DPNとの摂取識別の参考となることが今までに報告されている^{125,126,137,138)}。しかし、代謝物であるMA、APのキラル分析を行うだけでは、実際にDPNを摂取したのかを確認することは難しい。

まず、塩酸DPN 10 mg/kgをラットに10日間腹腔内投与し、DPN及び3種の主代謝物、norDPN、MA、APの血漿中AUC値と毛髪中の薬物濃度を測定してICR値を求めた。その結果、DPNとnorDPNのICR値はMA、APと比較して低く、1/4から1/15程度であることが示された。また、本法を用いて塩酸DPNを毎日15 mg、5日間摂取したヒト(n=3)の尿中、ヒゲ中及び頭髪中の薬物濃度を

Illegal use

Methamphetamine(MA)
Amphetamine(AP)

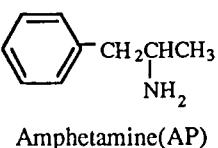
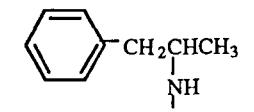
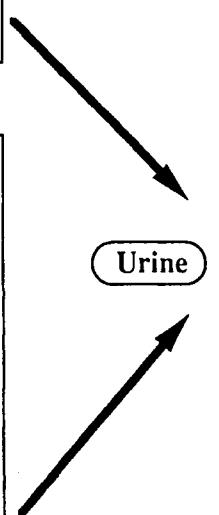
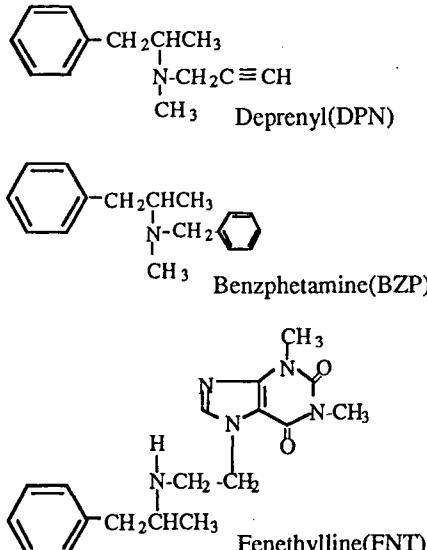
Legitimate use of OTC drugs

Fig.10 MA and/or AP in urine

They are excreted into urine after illegal use of MA and/or AP, and legitimate use of DPN, BZP and FNT.

測定したところ、尿中には MA, AP が96時間後まで検出されたが、DPN は36時間以後は検出不可能であった。一方、頭髪中からは MA (1.30-2.25 ng/mg), AP (0.42-0.99 ng/mg) と共に、DPN (trace level) 及び norDPN (0.17-0.29 ng/mg) が検出され、ヒゲからも同様に検出された。このことから、毛髪中の DPN もしくは norDPN を検出することにより、覚せい剤との摂取識別が可能であることが示された。

なお、DPN 使用者と実際の覚醒剤 MA 乱用者 ($n = 39$) の頭髪中の MA, AP 濃度を比較したところ、DPN 使用者の $[AP]/[MA]$ は0.32-0.54 であり、MA 乱用者の $[AP]/[MA]$ は 0.11 ± 0.05 であった。また、DPN 使用者と覚せい剤乱用者の頭髪中の MA のキラル分析を行ったところ、DPN 使用者の頭髪からは R(-)-エナンチオマーの MA のみが検出され、覚せい剤乱用者の頭髪からは、S(+)-エナンチオマーの MA のみが検出された。これらのことから、頭髪中の $[AP]/[MA]$ の値もしくは MA, AP の光学活性は、DPN 使用者と覚せい剤乱用者の摂取識別の参考になると思われる。

5-2. 毛髪分析による BZP の摂取識別

BZP は食欲減退剤として主に欧米で使用されている医

薬品である。しかしながら、服用すると体内で速やかに覚せい剤 MA 及び AP に代謝され、尿試料からは未変化体の検出が極めて困難であることが知られている¹³⁹⁻¹⁴²。

まず、塩酸 BZP をラットに10 mg/kg ずつ10日間腹腔内投与し、BZP と4種の主代謝物、すなわち脱メチル体 (デスマチルベンツフェタミン；norBZP)，水酸化体 (*p*-ヒドロキシデスマチルベンツフェタミン；OHnorBZP)，脱ベンジル体 (MA, AP) の血漿中 AUC 値及び毛髪中濃度を測定して ICR 値を求めた。その結果、BZP の ICR 値は MA, AP の ICR 値の 5-15倍もの値となり、BZP は他の代謝物と比較して、血中から毛髪への移行性が極めて高いことが示された。また、本法を BZP を 1 日 1 回 30 mg, 5 日間使用したヒト ($n = 2$) の尿、頭髪及び陰毛に適用した。その結果、BZP は尿中では速やかに消失し、摂取1時間後までしか検出されなかった。また、OHnorBZP, AP が尿中主代謝物として検出されたが、72時間後の試料からは AP のみが検出され、他の代謝物はほとんど検出されなかった。一方、頭髪中からは、MA, AP がそれぞれ 0.10, 1.06-1.66 ng/mg 検出され、尿中からほとんど検出できなかった BZP, norBZP もそれぞれ 0.14-0.56, 0.29-0.63 ng/mg と比較的高濃度検出された (Fig. 11)。ま

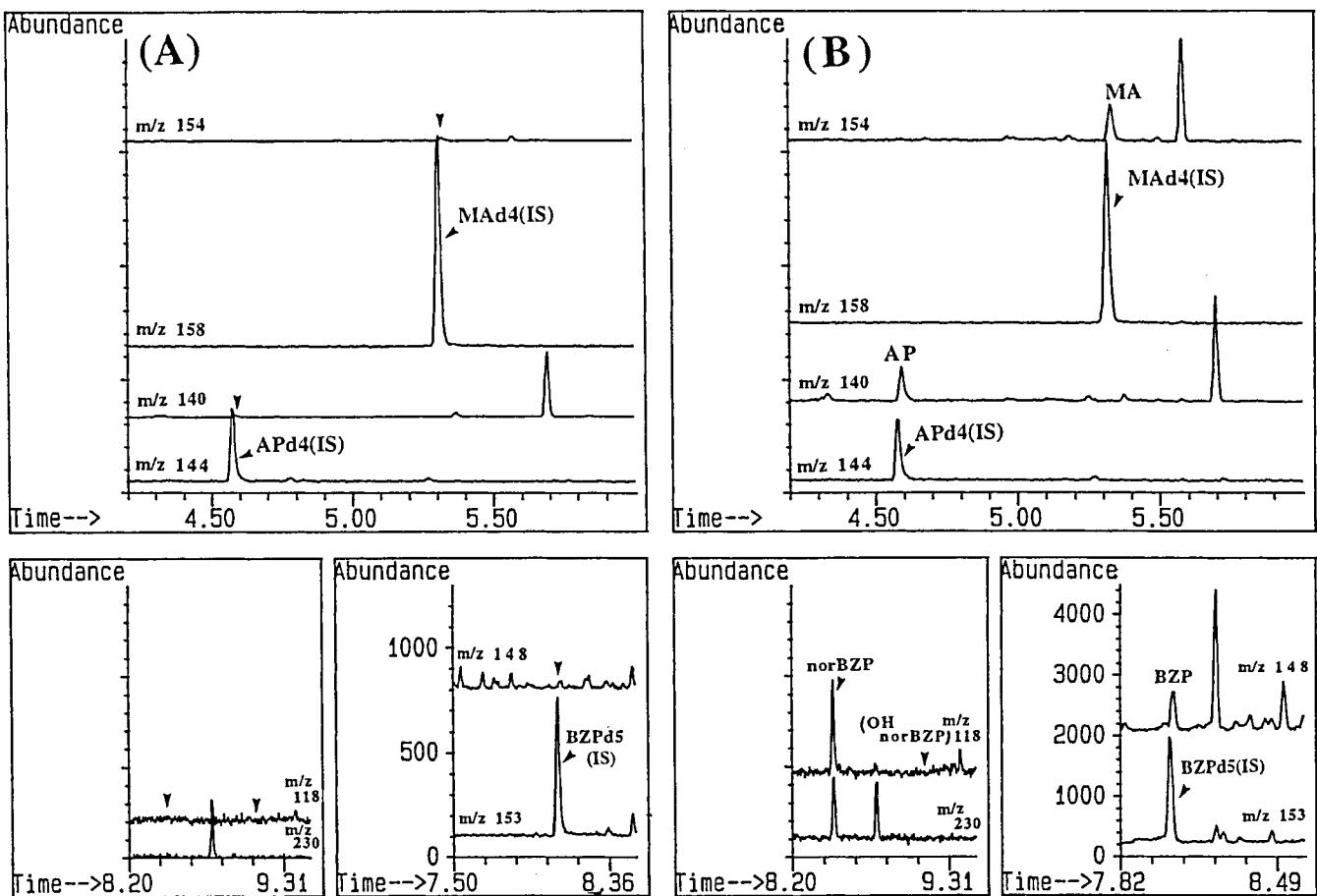


Fig.11 GC/MS-SIM chromatograms of human hair extracts

Scalp hair sample was spiked with IS compounds, extracted and derivatized with TFAA. A: control scalp hair, B: scalp hair after 3 weeks from the first dosage of BZP-HCl (oral, 30 mg × 5 days).

た、陰毛からも同様にこれらの薬物が検出された。このことから、頭髪及び陰毛中のBZP, norBZPを検出することにより、BZPと覚せい剤との摂取識別が可能であることが示された。なお、BZP使用者の頭髪中のAP濃度はMA濃度の10倍もの値を示しており、頭髪中の[AP]/[MA]の値もBZP使用者と覚せい剤乱用者の摂取識別の参考になることが示された。

5-3. 毛髪分析によるFNTの摂取識別

FNTは精神賦活剤として主に欧州で使用されている医薬品であり、体内で脱アルキル化を受けAPを尿中に排泄することが報告されている^{133,134)}。Yoshimuraら¹³⁴⁾は、FNTをヒトに30 mg経口投与した際の尿中主代謝物は7-(カルボキシメチル)テオフィリン及びAPであるが、7-(カルボキシメチル)テオフィリンの尿中からの消失が速いため、摂取48時間以後の尿中からはAPのみが高濃度検出されることを報告している。そのため、摂取後時間を経た

尿試料を用いた薬物分析では、FNTとAPとの使用識別が困難な場合があると考えられる。

まず、塩酸FNT 5 mg/kgをラットに10日間腹腔内投与し、FNT及び代謝物APの血漿中AUC値と毛髪中の薬物濃度をGC/MSにて測定してICR値を求めた。その結果、FNTのICR値は0.93とAPの4.2倍もの高い値を示し、FNTがAPと比較して毛髪に移行しやすいことが示された。一方、ヒト被験者5名にFNTを50 mgずつ3日間、1名に1日間経口で投与し、投与後経時的に尿中薬物濃度を測定するとともに、投与4週間後の頭髪中の薬物濃度を測定した。尿中ではAPが24時間後でも高濃度検出されたにもかかわらず、FNTは12時間後までしか検出されなかった。一方、ヒト頭髪中薬物濃度は、3日間投与群でFNT 0.51±0.23, AP 0.35±0.12 ng/mgであり、1回投与したのみの被験者の頭髪中からもそれぞれ0.25, 0.11 ng/mg検出された。また、頭髪中のFNT濃度は、

一例を除き AP の 1.2 から 2.7 倍であった。このことから、毛髪中の FNT を検出することにより、覚せい剤との摂取識別が可能であることが示された。

以上の結果から、尿試料では未変化体 (DPN, BZP, FNT) や特徴的な代謝物 (norDPN, norBZP) が検出困難な場合でも、毛髪を用いれば長期間にわたり検出することが可能であり、毛髪はこれらアンフェタミン系医薬品と覚せい剤との摂取識別を行うのに有用な試料であることが明らかとなった。

6. おわりに

本研究により薬物の毛髪への移行に関する以下の知見が得られた。

1. 動物実験モデルを用いて、コカイン及び代謝物の血中パラメーターと毛髪中濃度を比較し、薬物の血中から毛髪への移行性はその物性と密接に関連することを明らかにした。

2. 血中の薬物がどの程度の割合で毛髪中へ移行するのかを示す指標として、AUC 値に対する毛髪中薬物濃度の比を ICR 値と定義し、アンフェタミン系薬物において、構造の変化が ICR 値に及ぼす影響を検討した。その結果、薬物の塩基性及び脂溶性が毛髪への移行に関与していることを明らかにした。

3. *In vitro* の系において、ICR 値は薬物のメラニン親和性と脂溶性の両者と高い相関を示し、特に塩基性薬物の毛髪への移行には、メラニン親和性が関与することを明らかにした。

4. 毛髪分析は、他の生体試料を用いた分析では困難であるアンフェタミン系医薬品と覚せい剤との摂取識別が可能であり、裁判化学の分野でも利用価値が高いことを示した。

毛髪試料には主に、1)毛髪内の薬物分布状態と薬物使用歴がよく一致し、数年にも及ぶ長期間の薬物使用状況をモニタリングできる、2)未変化体を検出しやすい等、他の試料では得られない情報を得ることができる、3)採取、保存が容易である、という大きな利点がある。すでに裁判化学の領域ではこれらの利点をいかして、毛髪分析による過去の不法薬物の使用証明及び使用歴の推定が行われている。臨床化学の分野においても、毛髪分析を用いた患者に対する薬物治療へのコンプライアンス⁸⁷⁻⁹⁵⁾や、母親及び新生児の頭髪中の薬物分析を行うことにより、母親の自己申告に頼るしかなかった妊娠中の薬物使用による胎児への薬物暴露の評価⁷⁴⁻⁸⁶⁾などが可能となった。一方、環境衛生化学の分野では、発ガン性を有するダイオキシンなどの環境汚染物質のヒトへの長期暴露評価に毛髪分析が注目されている⁹⁷⁾。頭髪以外の毛髪、例えばヒゲ、陰毛、脇毛、臍毛からの薬物の検出も報告されており^{9,47,51,139,140)}、分析手段

としてより一般的に利用が可能となってきた。また、長期間の薬物モニタリングだけではなく、薬物が摂取後きわめて速く毛根部に到達することを利用して、毛根を用いた薬物分析による急性中毒の原因物質解明にも応用されている^{141,142)}。今後さらに、化合物の毛髪への取り込み機構に関する基礎的な知見が蓄積されていくことにより、毛髪分析が薬学の様々な分野に応用されていくことが期待される。

謝 辞

本研究遂行にあたりご支援いただきました寺尾允男前薬品部部長、小嶋茂雄薬品部部長に深く感謝致します。また、数々のご協力、ご助言をいただきました、薬品部ならびに毒性部の皆様に心より感謝致します。そして、本研究総括に際し、適切なご指導、ご鞭撻を賜りました、千葉大学薬学部今成登志男教授及び澤井哲夫教授に謹んで感謝致します。

文 献

- Baumgartner, A. M., Jones, P. F., Baumgartner, W. A. and Black, C. T.: *J. Nucl. Med.*, **20**, 748-752 (1979)
- Ishiyama, I., Nagai, T. and Toshida, S.: *J. Forensic Sci.*, **28**, 380-385 (1983)
- Niwaguchi, T., Suzuki, S. and Inoue, T.: *Arch. Toxicol.*, **52**, 157-164 (1983)
- Suzuki, O., Hattori, H. and Asano, M.: *J. Forensic Sci.*, **29**, 611-617 (1984)
- Suzuki, S., Inoue, T., Hori, H. and Inayama, S.: *J. Anal. Toxicol.*, **13**, 176-178 (1989)
- Nakahara, Y., Takahashi, K., Takeda, Y., Konuma, K., Fukui, S. and Tokui, T.: *Forensic Sci. Int.*, **46**, 243-254 (1990)
- Nakahara, Y., Takahashi, K., Shimamine, M. and Takeda, Y.: *J. Forensic Sci.*, **36**, 70-78 (1991)
- Nakahara, Y., Shimamine, M. and Takahashi, K.: *J. Anal. Toxicol.*, **16**, 253-257 (1992)
- Nakahara, Y., Takahashi, K. and Konuma, K.: *Forensic Sci. Int.*, **63**, 109-119 (1993)
- Nakahara, Y., Kikura, R., Takahashi, K. and Konuma, K.: *Adv. in Chem. Diagn. Treat. of Met. Diseases.*, **2**, 187-199 (1994)
- Kintz, P., Cirimele, V., Tracqui, A. and Mangin, P.: *J. Chromatogr. B.*, **670**, 162-166 (1995)
- Nakahara, Y.: *Forensic Sci. Int.*, **70**, 135-153 (1995)
- Takayama, N., Tanaka, S. and Hayakawa, K.: *Biomed. Chromatogr.*, **11**, 25-28 (1997)
- Nakahara, Y. and Kikura, R.: *Forensic Sci. Int.*, **84**, 157-164 (1997)
- Moeller, M. R., Fey, P. and Wennig, R.: *Forensic Sci. Int.*, **63**, 185-206 (1993).
- Baumgartner, W. A., Black, C. T., Jones, P. F. and Blahd, W. H.: *J. Nucl. Med.*, **23**, 790-792 (1982)
- Martz, R., Donnelly, B., Fetterolf, D., Lasswell, L., Hime, G. W. and Hearn, W. L.: *J. Anal. Toxicol.*, **15**, 279-281 (1991)
- Harkey, M. R., Henderson, G. L. and Zhou, C.: *J. Anal.*

- Toxicol.*, **15**, 260-265 (1991)
- 19) Cone, E. J., Yousefnejad, D., Darwin, W. D. and Maguire, T.: *J. Anal. Toxicol.*, **15**, 250-255 (1991)
- 20) Mieczkowski, T., Barzelay, D., Gropper, B. and Wish, E.: *J. Psychoactive Drugs*, **23**, 241-249 (1991)
- 21) Fritch, D., Groce, Y. and Rieders, F.: *J. Anal. Toxicol.*, **16**, 112-114 (1992)
- 22) Henderson, G. L., Harkey, M. R., Zhou, C. and Jones, R. T.: *J. Anal. Toxicol.*, **16**, 199-201 (1992)
- 23) Pirozhkov, S. V., Watson, R. R. and Eskelson, C. D.: *Forensic Sci. Int.*, **57**, 99-107 (1992)
- 24) Ferko, A. P., Barbieri, E. J., DiGregorio, G. J. and Ruch, E. K.: *Life Sci.*, **51**, 1823-1832 (1992)
- 25) Moller, M. R., Fey, P. and Rimbach, S.: *J. Anal. Toxicol.*, **16**, 291-296 (1992)
- 26) Janzen, K.: *J. Anal. Toxicol.*, **16**, 402 (1992)
- 27) Springfield, A. C., Cartmell, L. W., Aufderheide, A. C., Buikstra, J. and Ho, J.: *Forensic Sci. Int.*, **63**, 269-275 (1993)
- 28) Mieczkowski, T. and Newel, R.: *Forensic Sci. Int.*, **63**, 85-98 (1993)
- 29) Martinez, F., Poet, T. S., Pillai, R., Erickson, J., Estrada, A. L. and Watson, R. R.: *J. Anal. Toxicol.*, **17**, 138-142 (1993)
- 30) Tagliaro, F., Antonioli, C., De-Battisti, Z., Ghielmi, S. and Marigo, M.: *J. Chromatogr. A.*, **674**, 207-215 (1994)
- 31) Selavka, C. M. and Rieders, F.: *Forensic Sci. Int.*, **70**, 155-164 (1995)
- 32) Smith, F. P. and Kidwell, D. A.: *Forensic Sci. Int.*, **83**, 179-189 (1996).
- 33) Henderson, G. L., Harkey, M. R., Zhou, C., Jones, R. T. and Jacob III, P.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 1-12 (1996)
- 34) Valente, D., Cassini, M., Pigliapochi, M. and Vansetti, G.: *Clin. Chem.*, **27**, 1952-1953 (1981)
- 35) Curcuruto, O., Guidugli, F., Traldi, P., Sturaro, A., Tagliaro, F. and Marigo, M.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **6**, 434-437 (1992)
- 36) Cone, E. J., Darwin, W. D. and Wang, W. L.: *Forensic Sci. Int.*, **63**, 55-68 (1993)
- 37) Tagliaro, F., Poiesi, C., Aiello, R., Dorizzi, R., Ghielmi, S. and Marigo, M.: *J. Chromatogr.*, **638**, 303-309 (1993)
- 38) Wang, W. L., Darwin, W. D. and Cone, E. J.: *J. Chromatogr. B.*, **660**, 279-290 (1994)
- 39) Kintz, P. and Mangin, P.: *Forensic Sci. Int.*, **73**, 93-100 (1995)
- 40) Jurado, C., Gimenez, M. P., Menendez, M. and Repetto, M.: *Forensic Sci. Int.*, **70**, 165-174 (1995)
- 41) Kidwell, D. A.: *J. Forensic Sci.*, **38**, 272-284 (1993)
- 42) Puschel, K., Thomasch, P. and Arnold, W.: *Forensic Sci. Int.*, **21**, 181-186 (1983)
- 43) Marigo, M., Tagliaro, F., Poiesi, C., Lafisca, S. and Neri, C.: *J. Anal. Toxicol.*, **10**, 158-161 (1986)
- 44) Franceschin, A., Morosini, L. and Dell'Anna, L.: *Clin. Chem.*, **33**, 2125 (1987)
- 45) Tagliaro, F., Marigo, M., Dorizzi, R. and Rigolin, F.: *Clin. Chem.*, **34**, 1365-1366 (1988)
- 46) Sachs, H. and Arnold, W.: *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, **27**, 873-877 (1989)
- 47) Cone, E. J.: *J. Anal. Toxicol.*, **14**, 1-7 (1990)
- 48) Goldberger, B. A., Caplan, Y. H., Maguire, T. and Cone, E. J.: *J. Anal. Toxicol.*, **15**, 226-231 (1991)
- 49) Nakahara, Y., Takahashi, K., Shimamine, M. and Saitoh, A.: *Arch. Toxicol.*, **66**, 669-674 (1992)
- 50) Polettini, A., Groppi, A. and Montagna, M.: *Forensic Sci. Int.*, **63**, 217-225 (1993)
- 51) Kintz, P. and Mangin, P.: *J. Forensic Sci.*, **38**, 657-662 (1993)
- 52) Sachs, H., Denk, R. and Raff, I.: *Int. J. Legal Med.*, **105**, 247-250 (1993)
- 53) Nakahara, Y., Kikura, R. and Takahashi, K.: *J. Chromatogr. B.*, **657**, 93-101 (1994)
- 54) Edder, P., Staub, C., Veuthey, J. L., Pierroz, I. and Haerdi, W.: *J. Chromatogr. B.*, **658**, 75-86 (1994)
- 55) Moeller, M. R. and Mueller, C.: *Forensic Sci. Int.*, **70**, 125-133 (1995)
- 56) Staub, C.: *Forensic Sci. Int.*, **70**, 111-123 (1995)
- 57) Kintz, P., Cirimele, V. and Mangin, P.: *Ann. Biol. Clin. Paris*, **53**, 565-567 (1995)
- 58) Gygi, S. P., Wilkins, D. G. and Rollins, D. E.: *J. Anal. Toxicol.*, **19**, 387-391 (1995)
- 59) Wilkins, D. G., Haughey, H. M., Krueger, G. G. and Rollins, D. E.: *J. Anal. Toxicol.*, **19**, 492-498 (1995)
- 60) Wilkins, D., Rollins, D. E., Seaman, J., Haughey H., Krueger, G. and Foltz, R.: *J. Anal. Toxicol.*, **19**, 269-274 (1995)
- 61) 中原雄二, 高橋一徳, 木倉瑠理: 分析化学, **44**, 747-755 (1995)
- 62) Gygi, S. P., Joseph Jr., R. E., Cone, E. J., Wilkins, D. G. and Rollins, D. E.: *Drug Metab. Dispos.*, **24**, 495-501 (1996)
- 63) Gygi, S. P., Colon, F., Raftgians, R. B., Galinsky, R. E., Wilkins, D. G. and Rollins, D. E.: *Drug. Metab. Dispos.*, **24**, 282-287 (1996)
- 64) Rollins, D. E., Wilkins, D. G. and Krueger, G. G.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **50**, 391-397 (1996)
- 65) Gygi, S. P., Wilkins, D. G. and Rollins, D. E.: *J. Pharm. Sci.*, **86**, 209-215 (1997)
- 66) Baumgartner, A. M., Jones, P. F. and Black, C. T.: *J. Forensic Sci.*, **26**, 576-581 (1981)
- 67) Sramek, J. J., Baumbartner, W. A., Tallos, J. A., Ahrens T. N., Heiser, J. F. and Blahd, W. H.: *Am. J. Psychiatry*, **142**, 950-953 (1985)
- 68) Slawson, M. H., Willkins, D. G., Foltz, R. L. and Rollins, D. E.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 350-354 (1996)
- 69) Sakamoto, T., Tanaka, A. and Nakahara, Y.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 124-130 (1996)
- 70) Nakahara, Y., Kikura, R., Takahashi, K., Foltz, R. L. and Mieczkowski, T.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 323-329 (1996)
- 71) Kintz, P., Cirimele, V. and Mangin, P.: *J. Forensic Sci.*, **40**, 619-622 (1995)
- 72) Wilkins, D., Haughey, H., Cone, E., Huestis, M., Foltz, R. and Rollins, D.: *J. Anal. Toxicol.*, **19**, 483-491 (1995)
- 73) Cirimele, V., Sachs, H., Kintz, P. and Mangin, P.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 13-16 (1996)
- 74) Graham, K., Koren, G., Klein, J., Schneiderman, J. and Greenwald, M.: *JAMA*, **262**, 3328-3330 (1989)
- 75) Callahan, C. M., Grant, T. M., Phipps, P., Clark, G., Novack, A. H., Streissguth, A. P. and Raisys, V. A.: *J. Pediatr.*, **120**, 763-768 (1991)
- 76) Forman, R., Schneiderman, J., Klein, J., Graham, K., Greenwald, M. and Koren, G.: *Life Sci.*, **50**, 1333-1341

- (1992)
- 77) Marques, P. R., Tippetts, A. S. and Branch, D. G.: *Am. J. Drug Alcohol Abuse*, **19**, 159-75 (1993)
- 78) Kintz, P., Kieffer, I., Messer, J. and Mangin, P.: *J. Forensic Sci.*, **38**, 119-123 (1993)
- 79) Kintz, P. and Mangin, P.: *J. Forensic Sci. Soc.*, **33**, 139-142 (1993)
- 80) Kintz, P. and Mangin, P.: *Forensic Sci. Int.*, **63**, 99-104 (1993)
- 81) DiGregorio, G. J., Barbieri, E. J., Ferko, A. P. and Ruch, E. K.: *J. Anal. Toxicol.*, **17**, 445-446 (1993)
- 82) Grant, T., Brown, Z., Callahan, C., Barr, H. and Streissguth, A. P.: *Obstet. Gynecol.*, **83**, 524-531 (1994)
- 83) Klein, J., Forman, R., Eliopoulos, C. and Koren, G.: *Ther. Drug Monit.*, **16**, 67-70 (1994)
- 84) Eliopoulos, C., Klein, J., Phan, M. K., Knie, B., Greenwald, M., Chitayat, D. and Koren, G.: *JAMA*, **271**, 621-627 (1994)
- 85) Strano - Rossi, S., Chiarotti, M., Fiori, A., Auriti, C. and Seganti, G.: *Life Sci.*, **59**, 1909-1915 (1996)
- 86) Charotti, M., Strano - Rossi, S., Offidani, C. and Fiori, A.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 555-558 (1996)
- 87) Uematsu, T., Sato, R., Suzuki, K., Yamaguchi, S. and Nakashima, M.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **37**, 239-244 (1989)
- 88) Sato, R., Uematsu, T., Sato, R., Yamaguchi, S. and Nakashima, M.: *Ther. Drug Monit.*, **11**, 686-691 (1989)
- 89) Uematsu, T. and Sato, R.: *Ther. Drug Monit.*, **12**, 183-187 (1990)
- 90) Matsuno, H., Uematsu, T. and Nakashima, M.: *Br. J. Clin. Pharmac.*, **29**, 187-194 (1990)
- 91) Uematsu, T., Sato, R., Fujimori, O. and Nakashima, M.: *Arch. Dermatol. Res.*, **282**, 120-125 (1990)
- 92) Uematsu, T., Miyazawa, N., Okazaki, O. and Nakashima, M.: *J. Pharm. Sci.*, **81**, 45-48 (1992)
- 93) Uematsu, T., Kondo, K., Yano, S., Yamaguchi, T., Uemura, K. and Nakashima, M.: *J. Pharm. Sci.*, **83**, 42-45 (1994)
- 94) Nakano, M., Uematsu, T., Sato, H., Kosuge, K., Nishimoto, M. and Nakashima, M.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **47**, 195-202 (1994)
- 95) Uematsu, T., Nakashima, M., Fujii, M., Hamano, K., Yasutomi, M., Kodaira, S., Kato, T., Kotake, K., Oka, H. and Matsuike, T.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **50**, 109-113 (1996)
- 96) Hold, K. M., Wilkins, D. G., Crouch, D. J., Rollins, D. E. and Maes, R.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 345-349 (1996)
- 97) Miyata, H., Nakano, T., Aozasa, O., Ohta, S., Huang, C. W. and Tsai, H. T.: *Organohalogen Compd.*, **30**, 154-157 (1996)
- 98) 日本パーマネントウェーブ液工業組合編：毛髪とパーマネントウェーブ，新美容出版，東京，pp. 26-63 (1989)
- 99) Cone, E. J. and Joseph Jr., R. E.: "Drug testing in hair," eds. by Kintz, P., CRC Press, Florida, pp. 69-93 (1996)
- 100) Kindquist, N. G.: *Acta Radiol. Suppl.*, **325**, 1-92 (1973)
- 101) Gerstenberg, B., Schepers, G., Voncken, P. and Volkel, H.: *Drug Metab. Dispos.*, **23**, 143-148 (1995)
- 102) Green, S. and Wilson, J.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 121-123 (1996)
- 103) Reid, R. W., O'Connor, F. L. and Crayton, W.: *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, **32**, 405-410 (1994)
- 104) Joseph Jr., R. E., Su, T. P. and Cone, E. J.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 338-344 (1996)
- 105) Larsson, B. and Tjalve, H.: *Biochem. Pharmacol.*, **28**, 1181-1187 (1979)
- 106) Kalasinsky, K. S., Maglilio Jr., J. and Schaefer, T.: *J. Anal. Toxicol.*, **18**, 337-341 (1994)
- 107) Nakahara, Y., Ochiai, T. and Kikura, R.: *Arch. Toxicology*, **66**, 586-589 (1992)
- 108) Nakahara, Y. and Kikura, R.: *Arch. Toxicology*, **68**, 54-59 (1994)
- 109) Kikura, R. and Nakahara, Y.: *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 267-272 (1995)
- 110) Nakahara, Y., Takahashi, K., and Kikura, R.: *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 1223-1227 (1995)
- 111) Kikura, R. and Nakahara, Y.: *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 1694-1699 (1995)
- 112) Nakahara, Y. and Kikura, R.: *Arch. Toxicol.*, **70**, 841-849 (1996)
- 113) Kikura, R., Nakahara, Y., Mieczkowski, T. and Tagliaro, F.: *Forensic Sci. Int.*, **84**, 165-177 (1997)
- 114) Kikura, R. and Nakahara, Y.: *J. Anal. Toxicol.*, **21**, 291-296 (1997)
- 115) Jeffcoat, A. R., Perez-Reyes, M., Hill, J. M., Sadler, B. M. and Cook, C. E.: *Drug Metab. Dispos.*, **17**, 153-159 (1989)
- 116) Ambre, J., Ruo, T., Nelson, J. and Belknap, S.: *J. Anal. Toxicol.*, **12**, 301-306 (1988)
- 117) "Clarke's isolation and identification of drugs," 2nd ed., eds. by Moffat, A. C., The pharmaceutical press, London, UK, pp. 489-490 (1986)
- 118) Corbett, J. F.: *J. S. D. C.*, Aug., 285 (1976)
- 119) Braweja, R., Sokoloski, T. D. and Patil, P. N.: *J. Pharm. Sci.*, **66**, 1544-1547 (1997)
- 120) Kaliszan, R., Kaliszan, A. and Wainer, I. W.: *J. Chromatogr.*, **615**, 281-288 (1993)
- 121) Stepien, K. B. and Wolczok, T.: *Biochem. Pharmacol.*, **31**, 3359-3365 (1982)
- 122) Zane, P. A., Brindle, S. D., Gause, D. O., O'Buck, A. J., Raghaven, P. R. and Tripp, S. L.: *Pharm. Res.*, **7**, 935-941 (1990)
- 123) Reynolds, D. P., Elsworth, J. D., Blau, K., Sandlar, M., Lees, A. J. and Stern, G. M.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **6**, 542-544 (1978)
- 124) Karoum, E., Chuang, L. W., Eisler, T., Calne, D. B., Liebowitz, M. R., Quitkin, F. M., Klein, D. F. and Wyatt, R. J.: *Neurology*, **32**, 503-509 (1982)
- 125) Maurer, H. H. and Kramer, T.: *Arch. Pharm.*, **324**, 609 (1991)
- 126) Maurer, H. H. and Kraemer, T.: *Arch. Toxicol.*, **66**, 675-678 (1992)
- 127) Marsel, J., Doring, G., Remberg, G. and Spitteler, G.: *Z. Rechtsmedizin.*, **70**, 245-250 (1972)
- 128) Inoue, T. and Suzuki, S.: *Xenobiotica*, **16**, 691-698 (1986)
- 129) Budd, R. D. and Jain, N. C.: *J. Anal. Toxicol.*, **2**, 241 (1978)
- 130) Niwaguchi, T., Inoue, T. and Suzuki, S.: *Xenobiotica*, **12**, 617-625 (1982)

- 131) Blum, J. E.: *Arzneim. Forsch.*, **19**, 748-755 (1969)
- 132) Beckett, A. H., Shenoy, E. V. B. and Salmon, J. A.: *J. Pharm. Pharmacol.*, **24**, 194-202 (1972)
- 133) Ellison, T., Levy, L., Bolger, J. W. and Okun, R.: *Eur. J. Pharmacol.*, **13**, 123-128 (1970)
- 134) Yoshimura, H., Yoshimitsu, T., Yamada, H., Koga, N. and Oguri, K.: *Xenobiotica*, **18**, 929-940 (1988)
- 135) Csanda, E., Antal, J., Antony, M. and Csanaky, A.: *J. Neural transm.*, **43**, 263-269 (1978)
- 136) 木倉瑠理, 島峯望彦, 中原雄二, 寺尾允男:衛生試験所報告, **110**, 1-6 (1992)
- 137) 中原雄二, 高橋一徳, 石上暁子, 木倉瑠理, 島峯望彦:衛生化学, **37**, 473-479 (1993)
- 138) 木倉瑠理, 石上暁子, 中原雄二:衛生化学, **38**, 136-141 (1993)
- 139) Mangin, P. and Kintz, P.: *Forensic Sci. Int.*, **63**, 77-83 (1993)
- 140) Offidani, C., Rossi, S. S. and Chiarotti, M.: *Forensic Sci. Int.*, **63**, 105-108 (1993)
- 141) Nakahara, Y. and Kikura, R.: *Forensic Sci. Int.*, **84**, 157-164 (1997)
- 142) Nakahara, Y. and Kikura, R.: *Biol. Pharm. Bull.*, **20**, 969-972 (1997)

ラテックスアレルゲンとしての植物の生体防御蛋白質^{#1}矢上 健^{#2}Plant Defense-Related Proteins as Latex Allergens^{#1}Takeshi Yagami^{#2}

Immediate-type allergic reactions to latex products made from natural rubber are called latex allergy. One of the notable features of latex-allergic people is their cross-reactivity to various vegetable foods and pollen. The structurally similar proteins which most kinds of plants potentially induce must be responsible for these cross-reactions. However, the taxonomical dissimilarity among the causative plants has kept us from concrete explanations of such cross-reactive allergens. We have speculated that plant defense-related proteins are a possible cause of the latex allergy. The well-known serologic relationships and sequence similarities of these ubiquitous plant proteins can explain the cross-reactivity without difficulty. Rubber trees cultured in plantation farms are repeatedly tapped and treated with phytohormones. These stresses would result in the significant induction of defense-related proteins. Indeed, we were able to detect defense-related enzymes in latex extracts. Moreover, three hydrolytic enzymes (β -1,3-glucanase, chitinase/lysozyme, and carboxylesterase) that are very likely to take a defensive role were specifically recognized by the IgE antibodies of latex-allergic people and atopic patients. These experimental results strongly support our hypothesis. Because of their conserved structures, defense-related proteins should form a family of plant pan-allergens.

Keywords: latex allergy, cross-reactivity, defense response, conserved protein, pathogenesis-related protein

はじめに

80年代後半から、天然ゴム製品が原因となって発症する即時型（I型）アレルギーが各国で報告されるようになった¹⁻³。天然ゴム製品がゴムの木 (*Hevea brasiliensis*) の樹液(ラテックス)を原料として作られることから、このアレルギーはラテックスアレルギーと呼ばれている (Table 1)。原因となる天然ゴム製品は、手術用手袋やカテーテル、ラバーダムといった医療用具・歯科材料を始め、家庭用手袋、ゴムバンド、ゴム風船といった各種の日用品・玩具に至るまで、多種多様に及んでいる¹⁻³。つまりラテックスアレルギーは、特殊な天然ゴム製品や一部の粗悪な製品だけでなく、天然ゴムを含むあらゆる製品により引き起こされる可能性がある。

ラテックスアレルギーのハイリスクグループは、医療従

Table 1. Characteristics of latex allergy

Causes	Gloves, catheters, rubber dam, balloons, etc.
Prevalence	5 to 15 % of medical personnel are IgE positive
Symptoms	Local to generalized urticaria, anaphylaxis
Allergens	Proteins in natural rubber and their derivatives
Cross-reaction	Vegetable foods, pollen, medical plants, etc.

事者や先天性疾患を持つ患者など、日常的に天然ゴム製品に接する機会が多い人であると考えられている¹⁻³。しかし、天然ゴム製品に直接接触した場合にのみアレルギー症状が出現するとは限らない。例えば、ラテックス製手袋に塗布されているパウダーが、アレルゲンを吸着したまま室内に飛散し、既に感作が成立している患者に喘息等の即時型アレルギーを引き起こすことが明らかにされている⁴。また、浮遊しているパウダーが、アジュバント様の作用を有するエンドトキシンにより高度に汚染されている可能性も疑われている^{5,6}。このような状況から、パウダーが塗布されたラテックス製手袋の使用を禁止する病院も現れ始めた。浮遊微粒子の量を減らすことで、ラテックスアレルギーの発生率が低下すると共に、感作される患者の数も減少

^{#1} The views stated in this article are those of the author and do not reflect the official policy of National Institute of Health Sciences and the Ministry of Health and Welfare, Japan.

^{#2} To whom correspondence should be addressed: Takeshi Yagami; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-4842; Fax: +81-3-3707-6950; E-mail: yagami@nihs.go.jp

の傾向を示したと報告されている^{4,5)}。一方、ラテックスアレルゲンを伴ったゴムタイヤの摩耗粉が、幹線道路の周辺に飛散しているという知見も報告された^{8,9)}。このようにラテックスアレルギーは、天然ゴム製品に接する機会が多い人にとっての驚異となっているだけでなく、浮遊アレルゲンを吸入する恐れがある全ての人にとっての環境汚染という側面も有する。

天然ゴム製品によるアレルギーとしては、接触性の皮膚炎を主な症状とする遅延型（IV型）アレルギーが以前から知られており、ゴムアレルギーと呼ばれている。ゴムアレルギーの原因物質（アレルゲン）は、天然ゴム製品の製造過程で添加される低分子量の化学物質（加硫促進剤あるいは老化防止剤）やその変化体であることが、既に解明されている。一方、ラテックスアレルギーの原因物質は、ゴムの木の樹液に含まれる複数の蛋白質やその変化体であることが、これまでの各国における研究により明らかにされてきた^{3,10)}。蛋白性のアレルゲンが患者のIgE抗体に結合して架橋構造を形成し、蕁麻疹やアナフィラキシーショックといった症状の発生に至る即時型アレルギーが、ラテックスアレルギーである（Table 1）。しかし、ラテックスアレルゲンの具体的な特徴や、ゴムの木の中におけるそれらの生理的な役割については、現在でも不明な点が多い。

ラテックスアレルギーに関して最も注目すべき点は、交差反応性である^{1-3,11)}。ラテックスアレルギーの患者がバナナやアボカドといった果物に対してもアレルギー反応を示すケースがあることは、当初の段階から指摘され、

latex-fruit syndrome と呼ばれてきた^{12,13)}。その後、交差反応性が確認された植物の種類は急増し、果物・野菜・穀類といった植物性食品に限らず、ある種の木の花粉や薬草に対する交差反応例も報告された¹⁴⁾。現在では、食物アレルギーやアトピー病歴を有する患者も、ラテックスアレルギーのハイリスクグループを形成すると考えられている¹⁻³⁾。前述の通り、天然ゴム製品が原因となって発症に至る即時型アレルギーを、ラテックスアレルギーと呼んできた。しかし、50%を超える患者が何らかの植物に対して交差反応性を示す実状から判断すると^{12,13)}、一般的な植物アレルギーの一断面としてラテックスアレルギーを理解する方が、より正確であると思われる。

ラテックスアレルギーの患者が広範囲な植物に対して交差反応性を示す理由は、植物に普遍的に含まれる、構造の似た蛋白質がラテックスアレルゲンであり交差反応性抗原であるからだと考えられる。しかし、形態学的な分類法によれば、原因となる植物群が近縁種に属しているとはいえない。したがって、具体的にどのような蛋白質がラテックスアレルゲンであり交差反応性抗原になっているのかは、これまで全く解明されていなかった。

著者は、天然ゴム製品の安全性試験や患者の診断法を確立する上で不可欠な、ラテックスアレルゲンの特定化に関する研究を進めてきた。その過程で、患者の大多数が広範な植物に対してもアレルギー反応を示すという事実に、一早く着目した。そして、植物の生体防御^{15,16)}に関わるような蛋白質¹⁷⁻²²⁾は進化の過程で保存されているという知見

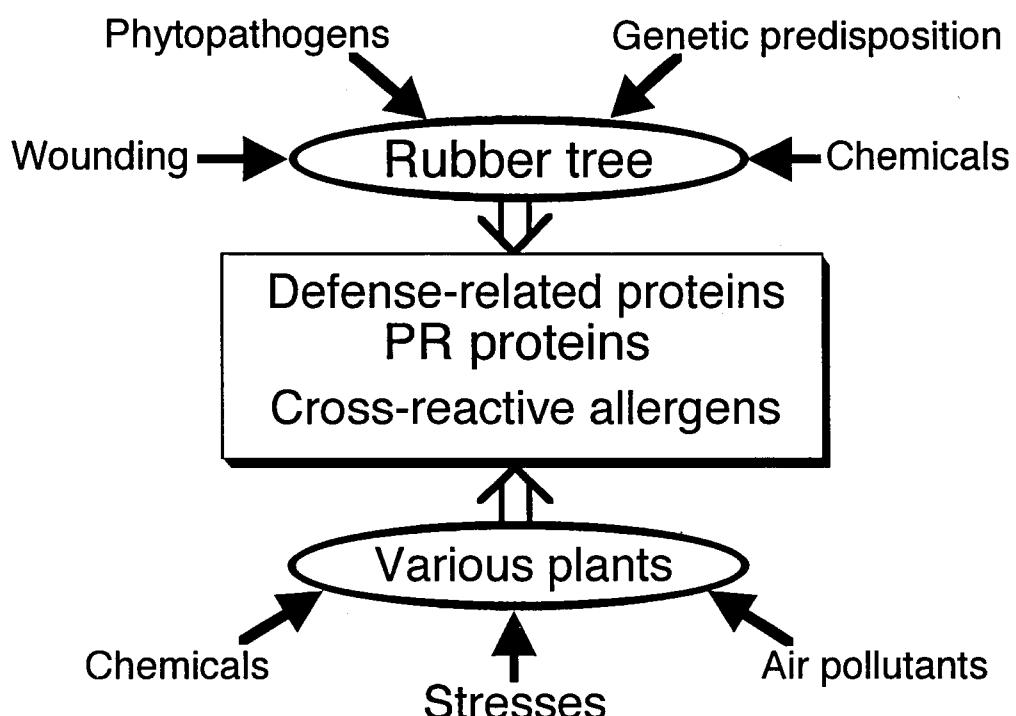


Fig. 1 Relevance of plant defense-related proteins to latex allergy

を考え合わせ、「植物の生体防御蛋白質群がラテックスアレルゲンであり、交差反応性抗原である」という仮説を立てた。農園で栽培されているゴムの木は、様々なストレスを受けており、生体防御に関与する蛋白質を多量に誘導していると予想される。また、このような蛋白質がアレルゲンであると仮定すると、植物種によらない一定の構造類似性があることから¹⁷⁻²²⁾、ラテックスアレルギーに伴う幅広い交差反応性を合理的に説明することができる (Fig. 1)。本稿では、植物の生体防御蛋白質について簡単に解説した後、ラテックスアレルギーと生体防御蛋白質との関連性について、著者らの研究成果²³⁻³³⁾を中心に記述する。

1. 植物の生体防御

1. 1. 生体防御蛋白質¹⁷⁾

高等植物は、動物の免疫機構とは全く異なる生体防御システムを有している。病原菌の感染や傷害、重金属や植物ホルモンの適用、干ばつや塩水害、紫外線やオゾンといった生物的・無生物的ストレスを受けた植物は、その身を守るため、一連の生体防御反応 (defense responses) を起こす^{15,16)}。この生体防御反応の過程で誘導される蛋白質群が、生体防御蛋白質 (defense-related proteins) である。これまでに知られている様々な生体防御蛋白質は、その生理的な役割や誘導要因から大まかに分類される。一つは、細菌やウイルスが侵入した局所細胞の外壁を強化し、植物全体への感染を阻止するような働きがある蛋白質群である。このような生体防御蛋白質には、hydroxyproline-rich glycoprotein (extensin) や glycine-rich protein (GRP) が含まれる。もう一つは、植物種に特有な低分子性抗菌物質 (phytoalexin) の合成に必要とされる酵素群である。抗菌活性を有する植物性レクチン類も、生体防御に関わる蛋白質であると考えられている^{34,35)}。そして重要なのは、pathogenesis-related proteins (PR 蛋白質) と従来より呼ばれている一群の生体防御蛋白質である。

1. 2. pathogenesis-related proteins (PR 蛋白質)¹⁸⁻²²⁾

タバコの葉にウイルスが感染した際に誘導される蛋白質群については、古くから研究が進められてきた。その後、多くの植物種で同様な誘導現象が確認され、このような蛋白質群は感染特異的蛋白質 (pathogenesis-related proteins; PR 蛋白質) と呼ばれるようになった。1992年8月にスイスで開かれた国際会議において、PR 蛋白質とは「病原体が植物に感染し、植物が病的状態あるいはそのような状態に陥ると、宿主である植物から誘導される蛋白質群」と定義された。また、ウイルスや細菌・カビによる感染の他、エチレンなどの植物ホルモンや、キチン・キトサンなど生物に由来する因子で誘導される蛋白質は PR 蛋白質とするが、無生物的ストレスにより誘導される蛋白質は PR 蛋白質とは呼ばないように提唱された。

しかし、無生物的ストレスも、エチレンなど植物ホルモンの発生を促し、PR 蛋白質の誘導要因となることがその後の研究で明らかにされた²⁰⁻²²⁾。また、植物体の特定部位 (根や花粉) に、あるいは成長過程の一時期に、同種の蛋白質が定常的に誘導される場合があることも報告された^{18-22,36)}。現在では、生物的・無生物的ストレスを受けた植物に誘導される蛋白質群を指して、包括的に PR 蛋白質と呼んでいることが多いのではないかと思われる。

PR 蛋白質の誘導量は、比較的大きい。強いストレスが加わった植物では、全蛋白質の十数%を PR 蛋白質が占めるとも言われている²¹⁾。PR 蛋白質の多くは、5~50 kD の水溶性蛋白質であり、多重遺伝子族によってコードされ、細胞間隙 (apoplast) や液胞に蓄積される傾向がある。さらに PR 蛋白質は、他の植物性蛋白質に比べて酸性溶液中で安定であり、また内因性・外因性の protease 活性に対して抵抗性を示すことが知られている²¹⁾。このような PR 蛋白質の一般的な特徴は、現在までに知られている植物性アレルゲンの諸性質に一致する点が多く³⁷⁾、注目に値する。

多くの植物種からこれまでに見いだされた PR 蛋白質は、その血清学的・免疫学的な相関性やアミノ酸配列の類似性、酵素活性の特徴に基づいて、幾つかのファミリーに分類されている。最近推奨されている分類法を³⁸⁾、代表的な蛋白質と共に Table 2 に示す。

PR-1 ファミリーは、15~17 kD の分子量を有する蛋白質群から成る。その生理的な機能は、抗カビ活性を示すとの報告もあるが、依然として不明な点が多い。PR-2 ファミリーは、endo-β-1,3-glucanase 活性を示す蛋白質群であり、30~35 kD の分子量を有するものが多い。PR-3 ファミリーは、endochitinase 活性を示す約30 kD の蛋白質群 (クラス I, II, IV chitinases) から成る^{39,40)}。クラス I endochitinase は、ゴムラテックスに含まれる hevein という蛋白質に相当するキチン結合領域を^{41,42)}、共通して N-末端部に含んでいる。植物に β-1,3-glucanase と endochitinase を同時に発現させると、相乗的に作用し合い、病原菌に対する抵抗性が高まるとしている⁴⁰⁾。endochitinase 活性と lysozyme 活性を合わせ持つ蛋白質 (クラス III chitinases) は、PR-8 ファミリーに分類されている⁴³⁾。PR-8 ファミリーに属する蛋白質と PR-3 ファミリーに属する蛋白質の間に、アミノ酸配列の相同性は見られない。PR-4 ファミリーに属する蛋白質は、傷を受けたジャガイモに誘導される *win* 遺伝子の翻訳物に類似したアミノ酸配列を有し、*win-like proteins* とも呼ばれる¹⁷⁻²²⁾。ゴムラテックスに含まれる hevein 前駆体 (prohevein) の C-末端部領域は、PR-4 ファミリーの蛋白質に高い相同性を示す⁴²⁾。PR-5 ファミリーの蛋白質は thaumatin-like proteins とも呼ばれ、thaumatin という甘味蛋白質に類似したアミノ酸配列を特徴とする。このファミリーに属する蛋白質の

配列は、 α -amylase/protease インヒビター類のアミノ酸配列にも類似している。しかし、酵素阻害活性が実際に検出された例は報告されていない。一方、穀類に含まれるアレルゲンの多くが、PR-5 ファミリーの蛋白質や α -amylase/protease インヒビター類に相同的なアミノ酸配列を有することは⁴⁴⁾、注目に値する。植物に塩ストレスを加えた際に誘導される osmotin 類や、トウモロコシの zeatin という抗カビ蛋白質も、PR-5 ファミリーに属すると考えられている。PR-5 ファミリーに分類される幾つかの蛋白質 (permeatins) は、細胞膜にポアを形成することで抗カビ活性を発現する²²⁾。protease 類に対するインヒビター活性を実際に有する植物性蛋白質は、PR-6 ファミリーに分類されている。また、endoprotease 類は PR-7 ファミリーに、peroxidase 類は PR-9 ファミリーに分類されている。PR-10 ファミリーは、ribonuclease 活性を有するような蛋白質で構成される。白樺 (*Betula verrucosa*) 花粉のメジヤーアレルゲンとして有名な Bet v 1 も^{45,46)}、PR-10 ファミリーに属する蛋白質である。

PR 蛋白質の分類に関して重要な点は、各蛋白質の血清学的・免疫学的な相関性やアミノ酸配列の類似性、酵素活性の特徴が判断材料であり、由来する植物種は顧慮されないという点である³⁸⁾。これは他方で、ストレスが加わった植物に誘導される蛋白質群は、進化の過程で劇的に変化することなく、保存されてきたことを意味している。この植物種を超えた PR 蛋白質の類似性を念頭に置けば、例えば PR-10 ファミリーに属するある蛋白質に対してアレルギー反応を示す患者は、PR-10 ファミリーに属する蛋白質を含む全ての植物に対してもアレルギー反応を示す可能性があると予想される。事実、白樺花粉のアレルゲン (Bet

v 1) に対して感作が成立した患者は、相同な蛋白質 (Bet v 1-related proteins; PR-10 ファミリー) を含む、木や雑草の花粉、植物性食品に対しても、アレルギー反応を示すことが知られている。

1. 3. 生体防御反応^{15,16)}

高等植物における、生体防御蛋白質の全体的な誘導過程は、以下のようにまとめられる。まず、生物的・無生物的なストレスのシグナルが核に伝わり、生体防御遺伝子 (defense-related genes) の転写が促進される。この遺伝子の翻訳物が、生体防御蛋白質である。extensin や GRP はストレスを受けた局所細胞に誘導され、細胞壁の強化に関与する。peroxidase の一部も、外壁の強化に加わる。細胞内では、phytoalexin の生合成に必要な酵素が誘導される。一方、 β -1,3-glucanase や endochitinase, lysozyme, protease inhibitor, ribonuclease といった PR 蛋白質は、侵入してきた病原菌に直接作用すると推測され、その多くは apoplast や液胞内に分泌される。また、糖質加水分解酵素群は、植物や病原菌の細胞壁からオリゴ糖類を遊離させ、生体防御反応に正のフィードバックをもたらす。

植物の生体防御反応は、ストレスを受けた局所における早く強い反応 (hypersensitive response; HR) に限らない。ストレスのシグナルは遠く離れた細胞にも伝達され、抗菌活性を有するような PR 蛋白質が植物体の各所に誘導される。つまり、一度ストレスを受けた植物は、PR 蛋白質を隈無く誘導し、次のストレスに対して抵抗性を示すようになるとを考えられる。HR に続くこのような生体防御反応は、systemic acquired resistance (SAR) と呼ばれている⁴⁷⁾。

PR 蛋白質を誘導することで植物が病原菌に対する抵抗

Table 2. Recommended classification of pathogenesis-related proteins

Family	Type member	Properties
PR-1	tobacco PR-1a	antifungal, 14-17 kD
PR-2	tobacco PR-2	endo- β -1,3-glucanases, 31-35 kD
PR-3	tobacco P, Q	type I, II, and IV endochitinases, ~30 kD
PR-4	tobacco R	antifungal, <i>win</i> -like proteins, 13-15 kD
PR-5	tobacco S	antifungal, thaumatin-like, osmotins, zeatin
PR-6	tomato inhibitor I	protease inhibitors, 6-13 kD
PR-7	tomato P	endoproteases
PR-8	cucumber chitinase	type III chitinases, chitinase/lysozyme
PR-9	lignin-forming peroxidase	peroxidases, peroxidase-like proteins
PR-10	parsley PR-1	ribonucleases, Bet v 1-related proteins
PR-11	tobacco class V chitinase	type V chitinases

性を獲得するならば、このような蛋白質を多く発現する品種は農耕的な価値が高いということになる。従来より行われてきた品種改良の一部は、病原菌に強い変種を生み出すことを目的としてきた。また最近では、PR蛋白質をコードする遺伝子の5'上流域を操作して常時多量に発現させたり、PR蛋白質の遺伝子を新たに導入することで、耐病性を示す植物を作り出そうとする試みが盛んに行われている^{48,49)}。さらに、農薬の代わりとしてSARを誘導するような低毒性の物質を散布し、病原菌による被害を未然に防ごうとする発想もある。

前述のように著者は、ストレスの加わった植物に誘導される生体防御蛋白質群、特に植物全体に誘導される水溶性のPR蛋白質が、ラテックスアレルギーやそれに伴う交差反応の原因物質になっているのではないかと推測した。次に、植物の生体防御蛋白質とラテックスアレルギーとの関連性について記述する。

2. ラテックスアレルギーと植物の生体防御蛋白質

2. 1. 生体防御蛋白質の誘導

プランテーションで栽培されているゴムの木は、短期間でより多くのゴムラテックスを収穫することができるよう、遺伝的に選択されてきた品種である。そしてこの過程において、生体防御蛋白質を過剰に誘導するような性癖が、追隨して選択されてきた感がある。Kushらは、遺伝的に選択されたゴムの木の、ラテックス生産細胞(laticifers)を調べた。その結果、ゴムの生合成に関与する酵素の遺伝子及び生体防御遺伝子が、葉部より20~100倍及び10~50倍それぞれ多く発現していたことがわかった⁵⁰⁾。あるいは、生体防御蛋白質を多く誘導するような品種は、農耕上有利であるため、必然的に選択されてきたのかも知れない。

天然ゴムラテックスは、ゴムの木の幹に螺旋状の傷を付け(tapping)，流れ出る樹液を貯留することにより採取される。しばらくするとラテックスが凝集して傷口を塞ぎ、樹液の流出が停止する。よって、tappingは繰り返し行われることになる。ゴムの木にとっては強いストレスに他ならない。また、ラテックスの流出時間を引き延ばしたり、流出した分の樹液を短期間で生合成させることを目的とし、ethephonという化学物質が度々ゴムの木に投与されている。ethephonは、植物ホルモンの一種であるエチレンを発生させる物質である。したがって、この操作もまた、生体防御蛋白質を多量に誘導させる要因となり得る⁵¹⁾。事実、抗菌活性を有するheveinや、chitinase活性を有するラテックス蛋白質の発現量が、ethephonで処理することにより著しく増加したという結果が報告されている⁵²⁾。またethephon処理に限らず、ゴムの木を傷付けたりabscisic acidで処理した場合にも、hevein類をコードする遺伝子の転写量が5倍程度に増加したと報告されている⁵³⁾。

以上のような状況から、農園で栽培されているゴムの木から得られたラテックスには、植物の生体防御蛋白質、特に水溶性のPR蛋白質が多量に含まれているのではないかと推測される。そこで著者は、市販されている天然ゴム製品や、その直接の製造原料であるアンモニアラテックスから、植物の生体防御に関与するような蛋白質が実際に抽出されるかどうかを調べることにした。

2. 2. ラテックス抗原の分離とその性質

a) 生体防御蛋白質の検出²⁴⁾

市販されている代表的な天然ゴム製品として、家庭用及び手術用の手袋を選び、約1cm²の薄片に切断した。次に、ゴムの薄片1gあたり5mlのリン酸緩衝生理食塩水(pH 7.4)を加え、室温で2時間振とうすることにより各手袋の抽出液を調製した。天然ゴム製品の直接の製造原料であるアンモニアラテックスの抽出液や、天然ゴムラテックス(ノンアンモニアラテックス)の抽出液も、同様に調製した。各抽出液中に植物の生体防御蛋白質が存在するかどうかは、PR蛋白質に特徴的な酵素の活性を測定することにより判断した。

その結果、植物の生体防御に直接関与すると考えられるlysozyme(EC 3.2.1.17)やendochitinase(EC 3.2.1.14), β -1,3-glucanase(EC 3.2.1.6あるいはEC 3.2.1.39)の活性が、全ての抽出液中に検出された。また、生体防御との関連性が明確ではないものの、carboxylesterase(EC 3.1.1.1)の活性も、全ての抽出液中に検出された。さらに天然ゴムラテックスの抽出液には、上記四種の酵素活性に加えて、ribonucleaseの活性や、アルカリ性proteaseに対するインヒビターの活性が検出された²⁸⁾。

続いて、検出された各酵素が、文献⁵⁴⁾に記載されているラテックスアレルゲン群に類似した特徴を有するかどうかを、熱安定性及び非変性条件下における分子量という面から調べた。各酵素の熱安定性は、アンモニアラテックスの抽出液を100°Cで20分間処理した後、残存する酵素活性を測定することにより判断した。非変性条件下における分子量は、アンモニアラテックスの抽出液をゲルろ過カラムに添加し、各酵素の溶出液量を標準蛋白質の溶出液量と比較することにより求めた。

その結果、アンモニアラテックスに含まれるlysozyme, endochitinase, β -1,3-glucanaseは、いずれも25~45kDの蛋白質であることがわかった。一方、非変性条件下におけるcarboxylesteraseの分子量は、60kD以上であった。また、アンモニアラテックスの抽出液を加熱処理した後でも、lysozyme, endochitinase及び β -1,3-glucanaseの活性が明確に検出された。こうした各酵素の熱安定性や分子量は、ラテックスアレルゲンの特徴に良く一致した^{24,54)}。

以上のように、ゴムラテックスから調製した全ての抽出液中に、植物の生体防御に関与すると考えられる複数の酵

素活性が検出された。また、これらの酵素が、ラテックスアレルゲンに類似した特徴を有することも明らかになった。そこで、各酵素を分離精製し、ラテックスアレルギー患者の IgE 抗体によって特異的に認識される、ラテックス抗原であるかどうかを調べることにした。

b) 家庭用手袋に含まれる lysozyme^{23,25)}

家庭用手袋の抽出液から lysozyme 活性を有する塩基性蛋白質を分離し、果物や野菜に含まれる lysozyme に類似した特徴を有するかどうかを確認した。また、ラテックスアレルギー患者の 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かどうかを調べた。

まず、家庭用手袋の抽出液に70%飽和度になるまで硫酸アンモニウムを加え、溶解していた蛋白質を塩析した。次に、*Micrococcus lysodeikticus* の乾燥菌体に対する溶菌活性を指標にしながら、カルボキシメチルセルロースカラムを用いる陽イオン交換クロマトグラフィー、続いて、ゲルろ過クロマトグラフィーにより、lysozyme を分離した。約 800 g の家庭用手袋から、5.2 mg の塩基性 lysozyme を得ることができた。

二段階のクロマトグラフィーで精製した lysozyme は、逆相 HPLC においてほぼ单一のピークとして検出された。また、sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) では分子量約 27 kD の単一バンドとして、等電点電気泳動 (IEF) では pI (isoelectric point) 約 9.5 のマルチプルバンドとして検出された。なお、手術用手袋やアンモニアラテックスの抽出液を SDS-PAGE や IEF で分析した場合も、分離した lysozyme と同じ位置に蛋白質のバンドが検出された。各抽出液に含まれる蛋白質のほとんどは、ランダムに分解されているようであり、SDS-PAGE や HPLC での分析が困難であった。著者が分離した lysozyme は、SDS-PAGE に続く色素染色で検出することができる、数少ないバンドの一つであった。

この塩基性 lysozyme は、イオン強度 0.03 の酢酸緩衝液中で *Micrococcus lysodeikticus* の乾燥菌体を基質とした場合、pH 4.4 及び 70°C において最大活性を示した。また、反応溶液のイオン強度が小さくなるにつれて、その溶菌活性が強くなる傾向が認められた。さらに、lysozyme 活性に対する各種阻害剤の影響を調べた結果、histamine が 0.02 M で約 60% という強い阻害効果を示すのに比べ、N-acetyl-D-glucosamine の阻害効果は 0.4 M で約 20% と非常に弱いことがわかった。またこの蛋白質は、コロイド状キチンやグリコールキチンに対して endochitinase 活性を示した。塩基性 lysozyme のこういった諸性質は、パパイヤやイチジクといった植物に含まれる chitinase/lysozyme の特徴に、良く一致した^{25,40)}。しかし、卵白に含まれる lysozyme の特徴とは、かなり異なっていた。

次に、分離した lysozyme の抗原性を、ラテックスアレ

ルギー患者の血清を用いるイムノプロッティングで調べた。まず、各種の抽出液と分離した酵素を SDS-PAGE に適用した後、ニトロセルロース膜に転写し、非結合域をブロッキングした。続いて、5 分の 1 の濃度に希釈した各血清に膜を浸し、室温で一夜保った。最後に、即時型アレルギーの原因となり得る IgE 結合性蛋白質を、抗ヒト IgE 抗体を用いて検出し、膜上の蛋白質を色素染色した結果と比較した。ラテックスアレルギー患者の血清としては、国内の病院から提供された 2 サンプルを用いた。また対照実験には、アレルギー病歴のない健常人から採取した血清（1 サンプル）を使用した。

その結果、いずれのラテックスアレルギー患者の血清を使用した場合にも、分離した塩基性 lysozyme が、IgE 抗体が認識する蛋白質の一つとして検出された。一方、健常人の血清を用いて行った対照実験では、IgE 抗体が結合した蛋白質のバンドは全く検出されなかった。よってこの塩基性 lysozyme が、ラテックスアレルギー患者の 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明らかになった。

c) アンモニアラテックスに含まれる carboxylesterase²⁶⁾

アンモニアラテックスの抽出液から carboxylesterase を分離し、この酵素がゴムの木の生体防御に関与するような蛋白質であるかどうかを調べた。また、ラテックスアレルギー患者の 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かどうかを確認した。

まず、アンモニアラテックスの抽出液に70%飽和度になるまで硫酸アンモニウムを加え、蛋白質を塩析した。次に、p-nitrophenyl acetate に対する carboxylesterase 活性を指標にしながら、DEAE セルロースカラムを用いる陰イオン交換クロマトグラフィー、続いて、ゲルろ過クロマトグラフィーにより、carboxylesterase を分離した。500 ml のアンモニアラテックスから、700 μg の carboxylesterase を得ることができた。アンモニアラテックスから抽出される蛋白質は、ほとんどがランダムに分解されているようであり、通常の手法による分析が困難であった。著者が分離した carboxylesterase は、平板ゲル電気泳動法で検出することができる、数少ないバンドの一つであった。

分離した酵素は、非変性条件下において約 80 kD の分子量を有していた。この酵素を Davis 法による PAGE に適用後、銀染色した結果、単一のバンドとして検出された。またそのバンドの位置は、esterase の活性染色により検出されたバンドの位置に一致した。以上の結果は、carboxylesterase が非変性条件下での電気泳動法的に単一になるまで精製されたことを示すものであると考えられた。一方、この酵素を変性条件下での電気泳動法である SDS-PAGE に適用したところ、45 kD のバンドをメインとして、複数のバンド (14, 16, 24, 25, 28, 39 kD) が検出された。

また、IEF では pI 4.2~5.2 のマルチプルバンドとして検出された。一連の分析結果は、この carboxylesterase が複数のユニットからなる高次構造体として存在することを示すものであると推測された。

次に、*p*-nitrophenyl acetate を基質に用い、分離した蛋白質の安定性や esterase 活性の特徴について調べた。この酵素は酸性からアルカリ性の広い pH 域にわたって安定であり、各 pH の溶液中に20℃で30分間保った後でも、esterase 活性が明確に検出された。また、pH 7.1 の Tris-塩酸緩衝液中では、60℃で30分間までの熱処理に対して安定であった。この蛋白質が esterase 活性を示す最適温度は、pH 7.1 の溶液中における10分間の反応という条件では60℃であった。また、30℃における10分間の反応という条件での最適 pH は、7.1 であった。

一方、この加水分解酵素の基質選択性を検討した結果、様々な脂肪酸の *p*-nitrophenyl ester に対して carboxylesterase 活性を示す他、牛血清アルブミンに対して非常に弱い protease 活性を示すことがわかった。また、この蛋白質の carboxylesterase 活性は、セリン残基やヒスチジン残基、カルボキシル基の修飾剤により阻害されたが、チオール基の修飾剤では阻害されなかった。

統いて、アンモニアラテックスから分離した carboxylesterase の生化学的な特徴とアミノ酸組成比を、ゴムの木に由来する esterase として文献⁵⁵⁾に記載されている hevain *a*, *b*, *l* のデータと比較し、その生理的な役割について推量した。その結果この酵素は、ゴムの木の lutooids という器官から分離された hevain *l* に、最も類似していることがわかった。lutooids は液胞に相当する器官であり、PR 蛋白質が蓄積する場所でもある⁵⁶⁾。しかし、分離した carboxylesterase と hevain *l* が、全ての点で一致しているというわけではなかった。したがって、この酵素がゴムの木の生体防御に関与するような蛋白質であるかどうかを、明らかにすることはできなかつた。

分離した carboxylesterase の抗原性は、ラテックスアレルギー患者の血清を使用するイムノプロッティングで調べ

た。まず、精製した酵素を非変性条件下での Davis 法による PAGE あるいは SDS-PAGE に適用した後、polyvinylidene difluoride (PVDF) 膜に転写した。次に、膜を適当な大きさに切り分け、一部をコロイダルゴールド法による蛋白質検出に、別の一部を esterase の活性染色に、残りをイムノプロッティングに用いた。ラテックスアレルギー患者の血清としては、国内の病院から提供された 2 サンプルを用いた。また対照実験には、アレルギー病歴のない健常人から採取した血清（1 サンプル）を使用した。

その結果, Davis 法による PAGE に続くイムノプロッティングでは, ラテックスアレルギー患者の血清に浸した PVDF 膜にのみ, IgE 結合性蛋白質の単一バンドが検出された. しかもそのバンドの位置は, コロイダルゴールド法で検出された蛋白質のバンドや, esterase の活性染色で得られたバンドの位置に一致した. この結果は, アンモニアラテックスから分離した carboxylesterase が, 患者血清中の IgE 抗体により特異的に認識される, ラテックス抗原の一つであることを示すものである. また, SDS-PAGE に続くイムノプロッティングでも, carboxylesterase の構成ユニット, 特に 45 kD と 39 kD の蛋白質が, IgE 結合性蛋白質のバンドとして強く検出された. 一方, 健常人の血清を用いて行った対照実験では, IgE 抗体が結合した蛋白質のバンドは全く検出されなかった. 一連の実験結果から, esterase 活性を保持する非変性状態の蛋白質のみならず, 変性条件下で解離したその構成ユニットも, ラテックス抗原の一つであることが明らかになった.

d) 天然ゴムラテックスに含まれる β -1,3-glucanase, chitinase/lysozyme 及び carboxylesterase³²⁾

ラテックス製手袋やその製造原料であるアンモニアラテックスに含まれる蛋白質は、生産工程で添加された様々な化学物質により修飾されている可能性がある。また、製造原料がアンモニアアルカリ性の溶液として長期間保存されることから、含まれている蛋白質が部分的に変化している可能性も高い。そこで、ゴムの木の樹液（ノンアンモニアラテックス）から三種の加水分解酵素を分離し、その性質

Determined sequence	F	D	E	N	X	K	Q	X	E	V	-	E	K	H	F	G	L	F	F	P	D
β -1,3-Glucanase from																					
{ Rubber tree	K	.	.	P	.	.	-
Tobacco	E	.	.	G	.	I	T	Y	.	N	
Green pea	Q	.	S	P	.	L	-	V	.	Y	.	N	
Potato					N	N	P		L	-							S		N		

Fig. 2 Amino acid sequences of plant β -1,3-glucanase. The N-terminal sequence of a peptide obtained from the BrCN cleavage of latex β -1,3-glucanase is shown at the top. Several residues expressed by X were not strictly determined. This sequence is compared with that of β -1,3-glucanase from various plants. Dots indicate the same amino acid residue as the determined sequence, and dashes are introduced for the maximum similarity.

や部分アミノ酸配列を調べることにした。さらに、ラテックスアレルギー患者やアトピー患者の血清を用い、各酵素の抗原性について検討した。

ゴムの木(*Hevea brasiliensis*, clone RRIM 600)の樹液は、The Rubber Research Institute of Malaysia より購入した。まず、樹液の固まりを圧搾して得た溶液に硫酸アンモニウムを飽和させ、溶解していた蛋白質を塩析した。次いで、生成した沈殿を吸引ろ過で集め、ゲルろ過カラムを用いて脱塩した。このようにして得た粗ラテックス蛋白質から、 β -1,3-glucanase, chitinase/lysozyme 及び carboxylesterase を精製した。

β -1,3-glucanase 活性を有する蛋白質は、laminarin に対する酵素活性を指標にしながら分離した。まず、粗ラテックス蛋白質を炭酸塩緩衝液(20 mM, pH 10.5)に溶解し、同緩衝液で平衡化させた陰イオン交換樹脂のカラムに添加した。その結果、 β -1,3-glucanase 活性を有する蛋白質は、素通り画分に回収された。この β -1,3-glucanase 画分を SDS-PAGE で分析したところ、三本のバンド(35, 36.5, 38 kD)が検出された。非変性条件下における PAGE でも、複数のバンドが検出された。しかし、そのほとんど全てが、 β -1,3-glucanase の活性染色で検出されたバンドの位置に一致した。この結果から、SDS-PAGE で検出された三本のバンドは、不純物に由来するものではなく、ゴムの木の塩基性 β -1,3-glucanase がイソ酵素群として存在することを示すものであると判断した。

次に、塩基性 β -1,3-glucanase のイソ酵素群をそのまま Edman 分解法によるシーケンス解析に適用し、N-末端アミノ酸配列の決定を試みた。その結果、アミノ酸誘導体は全く検出されず、イソ酵素群の N-末端は一様にプロックされていることがわかった。そこで、イソ酵素群を 70% ギ酸に溶解し、約 1 % の濃度になるようにプロモシアンを加え、暗所にて室温で 18 時間反応させた。逆相 HPLC で精製した断片化ペプチドの一つについて N-末端シーケンス

解析を行ったところ、Fig. 2 に示すような配列が決定された。この配列は、既に登録されていたラテックスアレルゲン Hev b 2 の配列に^{57,58)}、構成アミノ酸を正確に決定できなかった X の位置を除いて完全に一致した。また、データベースを用いて相同なアミノ酸配列を有する蛋白質を検索した結果、タバコやエンドウ、ポテトといった植物に由来する β -1,3-glucanase が、類似した配列を有することが明らかになった (Fig. 2)。

chitinase/lysozyme 活性を有する蛋白質は、家庭用手袋に含まれる塩基性 lysozyme の場合と同様な操作により分離し、逆相 HPLC を用いてさらに精製した。得られた chitinase/lysozyme (29.6 kD) の N-末端アミノ酸配列は、ゴムの木から既に単離されていた hevamine の配列に⁵⁹⁾、X の位置を除いて完全に一致した (Fig. 3)。さらに、相同なアミノ酸配列を有する蛋白質を検索した結果、ツタやブドウ、クレソン、キュウリ、アズキ、タバコ、ひよこ豆といった植物に由来する chitinase/lysozyme が、非常に類似した配列を有することが明らかになった (Fig. 3)。

carboxylesterase 活性を有する蛋白質は、アンモニアラテックスに含まれる carboxylesterase の場合と同様な操作により分離し、陰イオン交換 HPLC を用いてさらに精製した。得られた酵素は、アンモニアラテックスから分離した carboxylesterase に類似した性質を有し²⁶⁾、SDS-PAGE では 44 kD をメインとした複数のバンドとして、IEF では pI 約 4.6 のマルチプルバンドとして検出された。統いて、メインバンド(44 kD)の N-末端シーケンス解析を試みたが、有意な情報を得ることができなかった。そこで、 β -1,3-glucanase の場合と同様な手順により、プロモシアン分解を行った。しかし、純度の高い断片化ペプチドを得ることはできなかった。

各酵素の抗原性は、ラテックスアレルギー患者の血清とアトピー患者の血清を用い、enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) とイムノブロッティングで調べた。ELISA

Determined sequence	G G I A I Y W G Q N G N E G T L T Q T X S T R K Y
Chitinase/lysozyme from	
Rubber tree C
Ivy C N . G . .
Vine C N . G . .
Cress N . S A . C A . G R .
Cucumber	- S . A S . C A . G N .
Azuki bean	. . . S V S . A D A C N . N N .
Tobacco	. D . V S . A D . C A . N N .
Chickpea	- . . . V S . Q D A C N . N N .

Fig. 3 Amino acid sequences of plant chitinase/lysozyme. The N-terminal sequence of latex chitinase/lysozyme is presented at the top. Refer to legend of Fig. 2 for description.

法では、各酵素をプレートに固定した後、非結合域をブロッキングし、10分の1の濃度に希釈した各血清を加えて室温で一夜保った。プレート上の酵素に結合したIgE抗体は、抗ヒト IgE抗体を用いて検出した。イムノプロッティングでは、まず各酵素を SDS-PAGE に適用した後、PVDF膜に転写し、非結合域をブロッキングした。続いて、PVDF膜を短冊状に切断した後、10分の1の濃度に希釈した各血清に浸し、室温で一夜保った。最後に、IgE抗体が結合した蛋白質のバンドを、抗ヒト IgE抗体を用いて検出した。ラテックスアレルギー患者の血清としては、日本国内の病院から提供された血清と PlasmaLab International (Everett, Wash.) から購入した血清の、計15サンプルを用いた。さらに、ラテックスアレルギーとは診断されなかったものの、ラテックス蛋白質に対する IgE抗体の陽性反応が認められた食物アレルギー患者の血清（7サンプル）は、アトピー患者の血清として区別し、ELISAとイムノプロッティングに用いた。また対照実験には、アレルギー病歴のない健常人の血清（6サンプル）と、IgE myeloma serum（1サンプル）を使用した。

その結果、 β -1,3-glucanase イソ酵素群に対する IgE 抗

体の陽性反応が認められたサンプルの数は、ラテックスアレルギー患者の血清で6/15（イムノプロッティング及び ELISA）であり、アトピー患者の血清では5/7（イムノプロッティング）あるいは4/7（ELISA）であった（Fig. 4A）。 β -1,3-glucanase イソ酵素群のイムノプロッティングでは、分子量の大きい二本のバンド（36.5 kD と 38 kD）が IgE 結合性蛋白質として検出され、分子量が最も小さい35 kD のバンドは検出されなかった。塩基性 chitinase/lysozyme に対する IgE抗体の陽性反応が認められたサンプルの数は、ラテックスアレルギー患者の血清で4/15（イムノプロッティング）あるいは2/15（ELISA）であり、アトピー患者の血清では1/7（イムノプロッティング及び ELISA）であった（Fig. 4B）。さらに、carboxylesterase に対する IgE抗体の陽性反応が認められたサンプルの数は、ラテックスアレルギー患者の血清で6/15（イムノプロッティング）あるいは10/15（ELISA）であり、アトピー患者の血清では5/7（イムノプロッティング及び ELISA）であった（Fig. 4C）。一方、対照実験では、どの酵素に対する IgE抗体の結合も全く認められなかった。以上の結果から、天然ゴムラテックスより分離した三種の加水分解酵素が、ラ

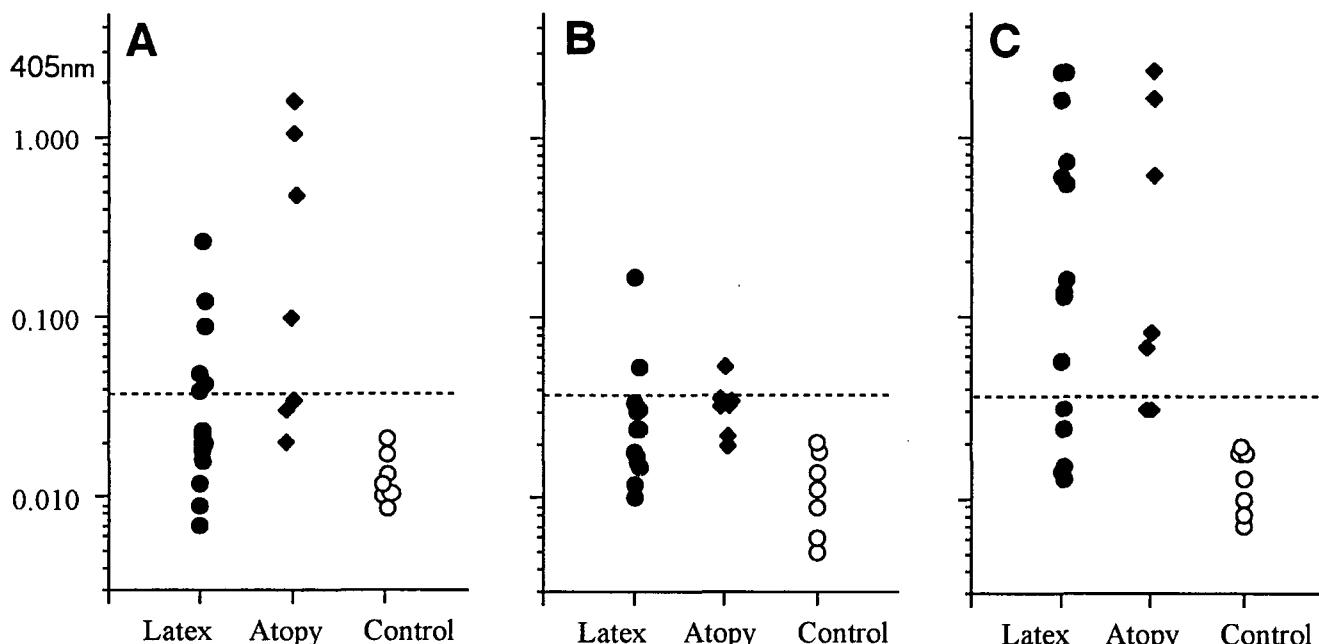


Fig. 4 ELISA of specific antibody (IgE) to β -1,3-glucanase (A), chitinase/lysozyme (B), and carboxylesterase (C). Antigens were adsorbed onto microtiter plates by incubating overnight at room temperature. Following blocking of the unoccupied sites, diluted serum (1:10) was poured into the respective wells and incubated overnight. Each serum was donated by latex-allergic people (Latex) or by atopic subjects (Atopy) who had IgE antibodies to crude latex proteins but had subjective symptoms to vegetable foods rather than to latex. In the control experiments (Control), each serum from healthy individuals or IgE myeloma serum was used. The IgE antibodies binding to the antigens were then reacted with phosphatase-labeled goat anti-human IgE for 1 hour. After complete washing, *p*-nitrophenyl phosphate solution was added to every well. The color development was continued for 2 hours, and the absorbance at 405 nm was measured. Every assay on a serum was done in triplicate and averaged. Border line (broken line) was arbitrarily set at 0.036 for definition of IgE-positive sera. This blank-subtracted absorbance corresponds to the mean + 5 × SD of all the control sera.

テックスアレルギー患者やアトピー患者の IgE 抗体により認識される、ラテックス抗原であることがわかった。また、一部の患者に対するプリックテストや、ヒスタミン遊離テストの結果から、三種の酵素が実際にアレルギーを引き起こす蛋白質であることも示された³⁰⁾。

e) β -1,3-glucanase の糖鎖部分が抗原性に果たす役割²⁹⁾

天然ゴムラテックスから分離した β -1,3-glucanase イソ酵素群の部分アミノ酸配列は、ラテックスアレルゲン Hev b 2 の配列に一致した (Fig. 2)。Hev b 2 の全配列中には、糖鎖結合のコンセンサス部位が一箇所だけ存在する⁵⁸⁾。著者は、このコンセンサス部位に結合する糖鎖構造の違いにより、 β -1,3-glucanase が SDS-PAGE で三つのバンド (35, 36.5, 38 kD) として検出されるのではないかと考えた。そこで、 β -1,3-glucanase イソ酵素群を concanavalin A のアフィニティークロマトグラフィーに適用し、糖鎖を有する蛋白質であるかどうかを調べると共に、糖鎖構造の違いに基づく各イソ酵素の分離を試みた。

まず、天然ゴムラテックスから分離した β -1,3-glucanase イソ酵素群 (G) を、塩化ナトリウム (1M) を含む酢酸緩衝液 (50 mM, pH 6.0) に溶解し、同緩衝液で平衡化させた concanavalin A-agarose カラムに添加した。親和性を示さなかった蛋白質 (G III) に続き、弱く結合した糖蛋白質 (G I) を同緩衝液で溶出させ、さらに methyl- α -D-mannopyranoside (0.3 M) を含む同緩衝液で強く結合した糖蛋白質 (G II) を溶出させた。次いで、このようにして得た三種のイソ酵素 (G I, G II, G III) を、分離前の β -1,3-glucanase イソ酵素群 (G) と共に SDS-PAGE に適用し、PVDF 膜に転写した。各イソ酵素が糖鎖を有する蛋白質であるかどうかは、膜上の全蛋白質をコロイダルゴールド法で検出した結果と、糖鎖を特異的に検出した結果とを比較することにより確認した。また、各イソ酵素の抗原性を、ラテックスアレルギー患者の血清を用いるイムノプロッティングで調べた。

SDS-PAGE による分析の結果、G III は 35 kD のバンドに、G I は 36.5 kD のバンドに、G II は 38 kD のバンドに相当することがわかった (Fig. 5)。concanavalin A に親和性を示したことから、G I と G II は糖蛋白質であることが予想されたが、この予想は糖鎖を特異的に検出した結果からも支持された (Fig. 5)。さらに、糖鎖を有する G I と G II はラテックスアレルギー患者の IgE 抗体により認識されるが、糖鎖を持たない G III はほとんど認識されないことがわかった (Fig. 5)。一方、健常人のプール血清や IgE myeloma serum を用いて行った対照実験では、いずれのイソ酵素も IgE 結合性蛋白質としては検出されなかつた (Fig. 5)。以上の実験結果から、ラテックスアレルギー患者の IgE 抗体による β -1,3-glucanase の特異的な認識に、この酵素の糖鎖部分が重要な役割を果たす可能性が示唆された。

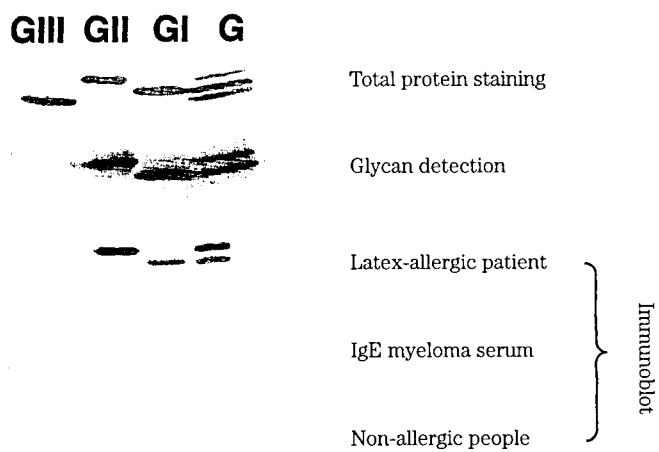


Fig. 5 SDS-PAGE and immunoblotting of β -1,3-glucanase isoenzymes. The basic β -1,3-glucanases (GI, GII, and GIII) were applied to SDS-PAGE, transferred onto a PVDF membrane, and subjected to the respective analyses. The first column represents the total protein staining with colloidal gold. In the second column, glycoproteins were specifically detected. The lower three columns indicate the results of immunoblotting where the proteins recognized by the IgE antibodies were immunochemically detected. Lane G corresponds to the partially purified latex β -1,3-glucanase from which the isoenzymes were separated by affinity chromatography on concanavalin A-agarose.

抗原認識に果たす糖鎖部分の役割を確認するため、各イソ酵素を過ヨウ素酸ナトリウムで処理して糖鎖構造を酸化分解し⁶⁰⁾、IgE 抗体の結合性に変化が現れるかどうかを調べた。まず、GI, G II 及び G III を ELISA 用のプレートに固定した後、20 mM の過ヨウ素酸ナトリウムを含む酢酸緩衝液 (0.1 M, pH 6.0) を加え、室温で 6 時間保った。過ヨウ素酸ナトリウムを含まない酢酸緩衝液 (0.1 M, pH 6.0) を加える対照実験も、並行して行った。続いて、非結合域をブロッキングした後、10 分の 1 の濃度に希釈したラテックスアレルギー患者の各血清 (PlasmaLab International から購入、13サンプル) を加え、室温で一夜保った。最後に、プレート上の抗原に結合した IgE 抗体を、抗ヒト IgE 抗体を用いて検出した。

その結果、GI や G II の糖鎖構造を酸化分解すると、ラテックスアレルギー患者の IgE 抗体によりほとんど認識されなくなることがわかった。また、糖鎖構造を持たない G III は、酸化処理の有無に関わらず、IgE 抗体によりほとんど認識されなかった。以上の実験結果から、ラテックスアレルギー患者の IgE 抗体による塩基性 β -1,3-glucanase の特異的な認識に、この酵素の糖鎖部分が重要な役割を果たすことが明らかになった。

2. 3. ラテックスアレルゲンとしての生体防御蛋白質

著者は、ラテックスアレルギーの患者が様々な植物性食

品や花粉に対してもアレルギー反応を示すことに着目し、「植物の生体防御蛋白質群がラテックスアレルゲンであり、交差反応性抗原である」という仮説を立てた。そしてこの仮説の検証を通じ、ラテックスアレルゲンの特定化を試みた^{27,28,33}。ラテックス製手袋や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酵素が一様に検出された²⁴。この結果は、天然ゴム製品に植物の生体防御蛋白質群が広く含まれていることを示すものであると考えられる。さらに、家庭用手袋から分離した chitinase/lysozyme やアンモニアラテックスから分離した carboxylesterase、天然ゴムラテックスから精製した上記二種の酵素と β -1,3-glucanase の全てが、ラテックスアレルギー患者の IgE 抗体により特異的に認識された。一連の実験結果は、ゴムの木に誘導された植物の生体防御蛋白質群が、ラテックスアレルゲンの構成要素となっている可能性を、強く示すものであると考えられる。

天然ゴムラテックスから分離した塩基性 β -1,3-glucanase の部分アミノ酸配列は、既に登録されていたラテックスアレルゲン Hev b 2 (34, 36 kD; pI 9.5) の配列⁵⁸に一致した (Fig. 2)。また、この酵素の N-末端はブロックされていたが、Hev b 2 の N-末端もブロックされていたと報告されている⁵⁷。したがって、アミノ酸配列から判断する限り、著者が分離した塩基性 β -1,3-glucanase とラテックスアレルゲン Hev b 2 は、同一物であると考えられる。このアレルゲンを最初に報告した The Rubber Research Institute of Malaysia のグループも、Hev b 2 が β -1,3-glucanase 活性を有していたことを確認している⁵⁷。しかし彼らの報告では、Hev b 2 が β -1,3-glucanase 活性を有することが予想された経緯について、全く言及されていない。著者は、 β -1,3-glucanase が植物の生体防御に深く関わる酵素 (PR-2 ファミリー) であることに基づいて分離を進めた。そしてこの酵素が、ラテックスアレルギー患者の IgE 抗体により認識される、ラテックス抗原の一つであることを実証した。仮説を検証する目的で分離した蛋白質が、全く独立に特定化されたアレルゲンと同一物であったという結果は、当初に立てた仮説の正当性を強く支持するものであると考えられる。

多くの植物病原菌の細胞壁には、 β -1,3-glucan が含まれている。したがって、植物に誘導される β -1,3-glucanase のある部分は、このような病原菌に対して生体防御の役割を果たす蛋白質ではないかと古くから考えられてきた¹⁸⁻²¹。また、ストレスが加わった多種の植物に、血清学的に類似した β -1,3-glucanase が誘導されることも知られている。実際、断片化ペプチドのアミノ酸配列に類似した配列を有する蛋白質を検索したところ、幾つかの植物に由来する β -1,3-glucanase がリストアップされた (Fig. 2)。この結果は、天然ゴムラテックスに含まれていた β -1,3-glucanase が、

ゴムの木の生体防御に関与する蛋白質であったことを示唆している。また、様々な植物に誘導される構造の似た β -1,3-glucanase が、交差反応をも引き起こすアレルゲンになる可能性を示すものであると考えられる。

一方、ラテックスアレルギー患者の IgE 抗体により β -1,3-glucanase が強く認識されるためには、糖鎖構造を有することが必要であった (Fig. 5)。IgE 抗体による抗原認識に糖蛋白質の糖鎖部分が重要な役割を果たす例は、これまでにも報告されている⁶¹。今後、患者の IgE 抗体が β -1,3-glucanase の糖鎖だけを認識しているのか、あるいは糖鎖を含めた立体構造を認識しているのかを、解明する必要があると思われる^{60,61}。また、この糖鎖の詳細な構造を解析することにより、植物性糖蛋白質に特有な complex glycan が、ラテックスアレルギーに伴う幅広い交差反応性に寄与しているのかどうかという点についても⁶²、明らかにすることができると期待される。さらに Churngchow らは、 β -1,3-glucanase の中でも糖鎖を多く有するイソ酵素がゴムの木の生体防御に深く関わっているという見方を報告しており⁶³、植物の生体防御蛋白質とラテックスアレルギーの関連という観点からも興味が持たれる。

ところで、糖蛋白質の糖鎖部分 (cross-reactive carbohydrate determinants; CCD) が B-cell エピトープである場合、細胞膜上で IgE 抗体の架橋構造が形成されることはなく、アレルギー症状の発現には至らないという理解が一般的である^{64,65}。他方、糖鎖エピトープだけでアレルギー症状が誘発される例も知られている⁶⁶。したがって、Hev b 2 の真のアレルゲン性については、単離した酵素を用いてヒスタミン遊離テストやプリックテストを繰り返し、慎重に検討する必要があると思われる。

天然ゴムラテックスから分離した chitinase/lysozyme の N-末端アミノ酸配列は、ゴムの木から既に単離されていた hevamine (29.6 kD; pI 9.5) の配列に一致した (Fig. 3)。hevamine は、ゴムの木の生体防御に関わることが以前から指摘されている chitinase/lysozyme である^{59,67}。植物に対する病原菌の中には、lysozyme の基質となるような外壁構造を持つ細菌や、細胞壁にキチン構造を有するカビが含まれる。したがって、植物に誘導される chitinase/lysozyme は、このような病原菌に対して生体防御の役割を果たす蛋白質ではないかと古くから考えられてきた⁴³。植物体内にこの酵素の基質となる分子が存在しないことも、生体防御蛋白質であることを裏付ける一因となっている。また、ストレスを受けた多種の植物に、血清学的に類似した chitinase/lysozyme が誘導されることも知られている。実際、決定された N-末端アミノ酸配列に類似した配列を有する蛋白質を検索したところ、多くの植物に由来する chitinase/lysozyme がリストアップされた (Fig. 3)。こうしたアミノ酸配列の類似性から、多種の植物に誘導される chitinase/

lysozyme が交差反応をも引き起こすアレルゲンとなる可能性が、 β -1,3-glucanase の場合と同様に疑われる。Lavaud らも、天然ゴムラテックスに含まれる 30 kD の lysozyme が交差反応性アレルゲンである可能性を指摘している^{68,69}。

一方、carboxylesterase を構成するサブユニット(44 kD)の N-末端は、ブロックされている可能性が高かった。Beezhold らも同程度の分子量を有するラテックスアレルゲン Hev b 7 (46 kD; SDS-PAGE) を報告しているが、その N-末端はブロックされていなかった^{11,70}。Hev b 7 の部分アミノ酸配列は、ポテトに含まれる patatin という蛋白質に類似していたと報告されている^{11,70}。patatin はセリン残基が重要な役割を果たす加水分解酵素であり、esterase 活性や lipid acyl hydrolase 活性を示す。さらに、害虫の成長を阻害するような生体防御蛋白質としての働きがあることも知られている⁷¹。このような状況から、Hev b 7 もゴムの木の生体防御に関わる蛋白質であると推測されるに至っている^{72,73}。Hev b 7 が esterase 活性を示したことでも発表された^{73,74}。著者が分離した carboxylesterase も、セリン残基が重要な役割を果たす加水分解酵素であり、patatin に類似している点が幾つかあった。また Subroto らは、patatin に類似した内部アミノ酸配列を有するラテックス蛋白質 (43 kD; SDS-PAGE) の N-末端は、ブロックされていたと報告している⁷⁵。したがって、分離した carboxylesterase と Hev b 7 は全く関係がないのか、あるいは同種の加水分解酵素であるのかを判断するためには、内部アミノ酸配列の決定を含め、さらに詳細な検討が必要である。もし著者が得た carboxylesterase が patatin 様蛋白質の一つであるならば、ゴムの木に誘導される生体防御

蛋白質とラテックスアレルギーとの関連性が、この酵素についても明確化されることになる。

その他にも、ゴムの木の生体防御に関与すると考えられる幾つかの蛋白質が、ラテックスアレルゲンとして知られていている。Alenius ら^{76,77} Chen ら⁷⁸は、hevein (Hev 6.02) やその前駆体 (prohevein または hevein preprotein; Hev b 6.01) が主要なラテックスアレルゲン群 (hevein-related allergens) であると主張している。hevein は、数種の植物病原菌に対して抗菌活性を示すことが知られている⁴¹。また、prohevein の C-末端側蛋白質 (Hev b 6.03) のアミノ酸配列は⁵³ PR-4 ファミリー (*win*-like proteins) に属する蛋白質の配列に酷似している⁴²。一方 Sunderasan らは、microhelix というゴムの木の器官に含まれる蛋白質が、重要なラテックスアレルゲン (Hev b 4) であると報告している⁵⁷。この蛋白質の詳細については、現在でもあまり知られていない。しかし、microhelix がゴムの木に ethephon を適用した際などに強く誘導される器官であることから⁵⁷、Hev b 4 も生体防御反応に何らかの関連性を持つ蛋白質ではないかと推測される。さらに Posch らは、クラス II endochitinase や superoxide dismutase に類似した N-末端配列を有するラテックス蛋白質群が、患者の IgE 抗体により特異的に認識されたと報告している⁷⁹。これまでに登録されているラテックスアレルゲン (Hev b 1~Hev b 7) を、予想される生理的な役割と共にまとめると、Table 3 のようになる。この表からも、生体防御蛋白質群がラテックスアレルゲンの主要な部分を占めていることは明らかである。

2. 4. 交差反応性アレルゲンとしての生体防御蛋白質

天然ゴムラテックスに含まれる植物の生体防御蛋白質、

Table 3. Registered natural rubber-latex allergens

Name	Trivial name	Predicted physiological role	References
Hev b 1	rubber elongation factor	rubber biosynthesis	79,80
Hev b 2	β -1,3-glucanases	defense-related	57,58
Hev b 3	small rubber particle protein	latex coagulation ?	52,81
Hev b 4	microhelix component	defense-related ?	57
Hev b 5	acidic protein	?	82,83
Hev b 6.01	prohevein, hevein preprotein		
6.02	hevein	defense-related, latex coagulation	76,77,78
6.03	prohevein C-terminal domain		
Hev b 7	patatin-like protein	defense-related	11,70

特に水溶性の PR 蛋白質がラテックスアレルゲンであるとすると、多くのラテックスアレルギー患者が経験する幅広い交差反応性を合理的に説明することができる。前述の通り、植物の PR 蛋白質は進化の過程で良く保存されており、近縁種ではない植物であっても血清学的に類似した PR 蛋白質を誘導する^{15-22,38}。したがって、ゴムの木の PR 蛋白質に対してアレルギー反応を示す患者は、類似した PR 蛋白質を含むあらゆる植物に対しても、アレルギー反応を示す可能性があると予想される (Fig. 1)。

特に、hevein (4.7 kD) がラテックスアレルゲンの一つであることは^{77,78}、注目に値する。この蛋白質は、クラス I endochitinase に共通な N-末端構造単位であると共に、wheat germ agglutinin などキチンに結合する性質を有する植物性レクチン類の、基本的な構造単位でもある^{42,84}。したがって、hevein に対してアレルギー反応を示す患者は、クラス I endochitinase やキチン結合性レクチンを含む全ての植物に対しても、アレルギー反応を示す可能性がある。実際 Akasawa らは、アボカド(*Persea americana*)の抽出液からラテックスアレルギー患者の IgE 抗体が認識する蛋白質を分離精製し、その交差反応性抗原が endochitinase に相当するアミノ酸配列を有していたことを発表している⁸⁵。Vanek-Krebitz らも、アボカドの cDNA ライブライマーからメジャーアレルゲン(*Pers a 1*)の遺伝子を取り出し、その塩基配列がクラス I endochitinase の配列に相当したことを見出している⁸⁶。また Mikkola らは、ラテックスアレルギー患者の IgE 抗体が認識するバナナの蛋白質を分析し、その N-末端及び内部アミノ酸配列が endochitinase の配列に高い相同性を示したことを発表している⁸⁷。さらに Alenius ら^{88,89} Beezhold ら⁹⁰は、ラテックスアレルギー患者の IgE 抗体により、wheat germ agglutinin を含めた数種の植物性レクチンが特異的に認識されたという実験結果を報告している。一連の研究成果は、進化の過程で保存してきた hevein という構造単位が B-cell エピトープとなり、近縁種ではない植物の間にも交差反応が引き起こされるということを明示している。

上記のように、植物の生体防御蛋白質群が交差反応の原因となり得ることが、各国での研究により明らかにされつつある。しかし、PR 蛋白質やレクチン類は、量の多少はあるものの、果物や野菜、穀類に含まれるごく一般的な蛋白質である。経口摂取によりこれらの蛋白質に対して新たにアレルギー反応を示すようになる人は、それほど多くはないと思われる。つまり、多くの PR 蛋白質やレクチン類は、既に感作が成立している患者に oral allergy syndrome (OAS)などのアレルギー症状を引き起こす経口 elicitor ではあるが、新たに感作を成立させる経口 sensitizer ではないと考えることができる。

経口摂取により新たに感作を成立させるような蛋白質は、

胃や腸で消化されにくいという特徴を持つとされている^{91,92}。このような蛋白質抗原は complete food allergens と呼ばれ、感作を成立させる sensitizer であると同時にアレルギー症状を引き起こす elicitor でもある⁹³。一方、胃や腸で容易に消化されてしまうような蛋白質は、経口摂取しても sensitizer にはなり得ない^{91,92}。しかし、吸入や粘膜接觸により感作が成立する可能性は充分にあると考えられる。そして、どのような経路であるにせよ、ある蛋白質に対する感作が一旦成立すれば、同一あるいは交差反応性を有する蛋白質(non-sensitizing elicitor)を吸入したり経口摂取した場合、アレルギー症状が現れると推測される^{93,94}。食物を摂取した際に出現する即時型アレルギーを食物アレルギーと呼んでいるが、経口摂取により感作が成立したとは限らないし⁹⁵、消化されにくい蛋白質が elicitor であるとも限らないのである⁹⁴。

例えば、白樺の花粉に対してアレルギー反応を示す患者の大多数は、雑草の花粉や植物性食品に対してもアレルギー反応を示すことが知られており、birch-pollen syndrome と呼ばれている^{96,97}。幅広い交差反応性が見られる理由を詳細に解析した結果、まず白樺花粉中のメジャーアレルゲン(Bet v 1)を吸入することで感作が成立し、その後、交差反応性を有する蛋白質 (Bet v 1-related allergens; PR-10 ファミリー)を吸入あるいは経口摂取した際にアレルギー症状が出現することがわかった⁹⁸⁻¹⁰⁰。リンゴ (*Malus domestica*) に含まれる Bet v 1-related allergen である Mal d 1 のみにアレルギー反応を示し¹⁰⁰⁻¹⁰²、白樺花粉に対してアレルギー反応を示さない患者は、ほとんど見いだされていない⁹⁴。幅広い交差反応性の原因となるもう一つのアレルゲン群 (pan-allergens) として、真核生物が共通に持つアクチン結合性蛋白質である profilin 類が知られている¹⁰³。このアレルゲン群の場合も、まず花粉などに含まれる profilin を吸入することで感作が成立し、その後、交差反応性を有する profilin 類を吸入したり経口摂取した際にアレルギー症状が出現すると理解されている^{93,94,99}。注意すべきことは、多くの Bet v 1-related allergens も profilin 類も、経口摂取した場合は容易に消化されてしまうような蛋白質であり^{94,104}、経口 sensitizer にはなり得ないということである。しかし、経口 elicitor にはなり得る。このような "non-sensitizing elicitor" は、交差反応性に基づくアレルゲンであると考えられ¹⁰⁵、進化の過程で保存してきた酵素や結合性蛋白質 (binding proteins) がそれに該当すると推測される^{106,107}。

花粉症の場合と同様に、ラテックスアレルギーの感作経路の一つとして、アレルゲンが吸着したパウダーを吸入するルートがある⁴。また、ラテックス製品が粘膜に直接接觸することによる感作も、当然想定される¹。いずれの経路であるせよ、天然ゴム製品には PR 蛋白質が含まれてい

るので、これらに対する感作が成立する可能性がある。そして一旦感作が成立すれば、胃や腸で容易に消化されてしまうようなPR蛋白質を含む植物性食品に対しても、OASなどのアレルギー反応を示すようになると予想される。一方、一部の生体防御蛋白質は、酸性条件や酵素分解に対して非常に安定であるため、complete food allergenとして作用する可能性もある。この場合、まずそのようなPR蛋白質を含む食物に対するアレルギーが出現し、その後、ラテックス製品にも反応するようになるケースがあると考えられる。

おわりに

著者は、植物の生体防御蛋白質群が天然ゴム製品による即時型アレルギーの原因物質ではないかと推測し、研究を進めてきた。植物に生体防御蛋白質を誘導させる要因は、病原菌や傷害、植物ホルモンを含めた化学物質⁴⁷⁾やオゾン¹⁰⁸⁾などの大気中物質、紫外線や厳しい生育環境などである。このような要因は、農園のゴムの木に限らず、他の多くの植物に対しても加わっているのではないだろうか？そうだとすると、様々な植物に誘導される生体防御蛋白質群が、植物成分による即時型アレルギーの増加傾向に、何らかの形で関与しているのではないかと考えることができる。

例えば、周辺環境のオゾン濃度が高い木の花粉ほど、グループVと呼ばれるアレルゲンの量が多かったという結果が報告されている¹⁰⁹⁾。同様に、白樺の花粉を二酸化窒素やオゾンにさらすと、メジャーなアレルゲンであるBet v 1の量が増加したという実験結果が発表された¹¹⁰⁾。また、ピーナッツに含まれるアレルゲンの一つが、乾燥ストレスにより誘導される蛋白質であることが最近明らかにされた¹¹¹⁾。さらにHänninenらは、カブ(*Brassica rapa*)をethephonやsalicylic acidで処理するとIgE抗体が認識する蛋白質の量が10倍以上にも増加することを示し、植物の生体防御機構を刺激することがアレルゲン量を著しく増加させることにつながると結論している¹¹²⁾。生体防御反応との関連性が明白ではないものの、ヒマラヤスギ(*Juniperus ashei*)花粉のアレルゲンの一つ(Jun a 3)は、PR-5ファミリーの蛋白質に相同なアミノ酸配列を有していた¹¹³⁾。一方、キク科雑草(*Parthenium hysterophorus*)の花粉アレルゲン(Par h 1)のアミノ酸配列は、extensinの配列に類似していた⁶⁰⁾。また、コショウに含まれるアレルゲンの一つは塩ストレスにより誘導される蛋白質に、パプリカやbell pepperに含まれるアレルゲンはPR-5ファミリーの蛋白質に相同意を示した^{114,115)}。さらに、大豆(*Glycine max*)に含まれるアレルゲンの一つ(Gly m 2)も、エンドウの生体防御蛋白質に類似したアミノ酸配列を有していた¹¹⁶⁾。植物に加わる様々なストレスが、植物成分に

よる即時型アレルギーの増加傾向に寄与しているのかどうか、今後のさらなる研究の発展が期待される。

一方、病原菌に抵抗性を示す植物を作り出す一手法として、生体防御蛋白質を利用するケースが増えている¹⁰⁾。通常の品種改良法により耐病性を有するような種を作り出す試みは、古くから行われてきた。加えて最近では、遺伝子工学的な手法を用いて病原菌に強い植物を作り出そうとする試みが盛んである^{48,49)}。植物が誘導する生体防御蛋白質群のアレルゲン性という観点からは、このようにして作り出された農作物に関心を持たざるを得ない。農園で栽培されているゴムの木も、農耕的な価値を追求し、遺伝的に選択されてきた品種なのである^{50,52)}。

現に、prohevein(Hev b 6.01)をコードする遺伝子を導入することにより開発された、病原菌に強いという性質を持つトマトが報告されている¹¹⁷⁾。このトマトをラテックスアレルギー患者やアトピー患者が食べた場合、アレルギー反応を起こす可能性は否定できない。また、endochitinaseをコードする遺伝子を導入することで耐病性を高めようとする試みが、多くの作物について行われている^{40,118,119)}。しかし、hevein(Hev b 6.02)やアボカドのendochitinase(Pers a 1)がメジャーなアレルゲンとして登録されている現実を、見逃すことはできない。このような蛋白質を人為的に発現させた農産物が食品として市場に出る際には、各国におけるガイドラインに基づき、その安全性や取り扱いが慎重に検討されることになる^{91,120)}。Inschlagらも、サクランボ(*Prunus avium*)に含まれるメジャーなアレルゲン(Pru a 2)がthaumatin-like proteins(PR-5ファミリー)に相同的なアミノ酸配列を有することを示し、こうした蛋白質を発現させる遺伝子改変作物の安全性について注意を喚起している¹²¹⁾。近未来に予想される食糧不足の解決に、遺伝子改変植物は切り札的な役割を果たすと期待されている。その信頼性を損なわないためにも、新たに開発された農作物がアレルギーの原因となるないかどうか、最新の知見をもって評価されることが望まれる。

謝 辞

患者の血清をご提供いただきました、横浜市立大学医学部附属浦舟病院皮膚科部長 池澤善郎 博士、しょうの皮膚科院長 生野麻美子 博士、及び国立小児病院アレルギー科医長 赤澤 晃 博士に、深く感謝いたします。また、アミノ酸配列分析にご協力をいただきました、新潟薬科大学薬品製造学研究室教授 北川幸己 博士、及び新潟薬科大学生化学研究室助教授 小宮山忠純 博士に、深く感謝いたします。「天然ゴム製品によるI型アレルギーと植物由来の防御蛋白質との関連性究明に関する研究」は、平成6~8年度厚生科学的研究費補助金(厚生科学特別研究事業若手研究分)を元に行われた。

文 献

- 1) Slater, J. E.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **94**, 139-149 (1994)
- 2) Turjanmaa, K., Alenius, H., Mäkinen-Kiljunen, S., Reunala, T. and Palosuo, T.: *Allergy*, **51**, 593-602 (1996)
- 3) Sussman, G. L. and Beezhold, D. H.: *J. Long-Term Eff. Med. Implants*, **7**, 219-223 (1997)
- 4) Tomazic, V. J., Shampaine, E. L., Lamanna, A., Withrow, T. J., Adkinson, N. F. and Hamilton, R. G.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **93**, 751-758 (1994)
- 5) Williams, P. B. and Halsey, J. F.: *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, **79**, 303-310 (1997)
- 6) Holmdahl, L. and Chegini, N.: *J. Long-Term Eff. Med. Implants*, **7**, 225-234 (1997)
- 7) Baur, X., Chen, Z. and Allmers, H.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **101**, 24-27 (1998)
- 8) Williams, P. B., Buhr, M. P., Weber, R. W., Volz, M. A., Koepke, J. W. and Selner, J. C.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **95**, 88-95 (1995)
- 9) Miguel, A. G., Cass, G. R., Weiss, J. and Glovsky, M. M.: *Environ. Health Perspect.*, **104**, 1180-1186 (1996)
- 10) Posch, A., Chen, Z., Raufel-Heimsoth, M. and Baur, X.: *Clin. Exp. Allergy*, **28**, 134-140 (1998)
- 11) Beezhold, D. H., Sussman, G. L., Liss, G. M. and Chang, N.-S.: *Clin. Exp. Allergy*, **26**, 416-422 (1996)
- 12) Blanco, C., Carrillo, T., Castillo, R., Quiralte, J. and Cuevas, M.: *Ann. Allergy*, **73**, 309-314 (1994)
- 13) Brehler, R., Theissen, U., Mohr, C. and Luger, T.: *Allergy*, **52**, 404-410 (1997)
- 14) Pfützner, W., Thomas, P., Rueff, F. and Przybilla, B.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **101**, 281-282 (1998)
- 15) Kombrink, E. and Somssich, I. E.: *Adv. Bot. Res.*, **21**, 1-34 (1995)
- 16) Fritig, B., Heitz, T. and Legrand, M.: *Curr. Opin. Immunol.*, **10**, 16-22 (1998)
- 17) Bowles, D. J.: *Annu. Rev. Biochem.*, **59**, 873-907 (1990)
- 18) Bol, J. F., Linthorst, H. J. M. and Cornelissen, B. J. C.: *Annu. Rev. Phytopathol.*, **28**, 113-138 (1990)
- 19) Linthorst, H. J. M.: *Crit. Rev. Plant Sci.*, **10**, 123-150 (1991)
- 20) Ohashi, Y. and Ohshima, M.: *Plant Cell Physiol.*, **33**, 819-826 (1992)
- 21) Stintzi, A., Heitz, T., Prasad, V., Wiedemann-Merdinoglu, S., Kauffmann, S., Geoffroy, P., Legrand, M. and Fritig, B.: *Biochimie*, **75**, 687-706 (1993)
- 22) Shewry, P. R. and Lucas, J. A.: *Adv. Bot. Res.*, **26**, 135-192 (1997)
- 23) Yagami, T., Sato, M., Nakamura, A. and Shono, M.: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **104**, 307 (1994)
- 24) Yagami, T., Sato, M. and Nakamura, A.: *J. Nat. Rubb. Res.*, **10**, 100-107 (1995)
- 25) Yagami, T., Sato, M., Nakamura, A. and Shono, M.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **96**, 677-686 (1995)
- 26) Yagami, T., Sato, M., Nakamura, A. and Shono, M.: *Food Agric. Immunol.*, **8**, 121-136 (1996)
- 27) 矢上 健, 中村晃忠: "The 3rd Symposium of Asthma in Tokyo", 監修 飯倉洋治, 伊藤孝治, ライフサイエンス出版, 東京, pp. 17-28 (1996)
- 28) 矢上 健: 日本ラテックスアレルギー研究会会誌, **1-1**, 38-41 (1997)
- 29) 矢上 健, 配島由二, 中村晃忠, 小宮山忠純, 北川幸己: 日本ラテックスアレルギー研究会会誌, **1-2**, 67-71 (1997)
- 30) 大砂博之, 山本美穂, 高橋さなみ, 武川るみ, 宮沢めぐみ, 大沼すみ, 大沢純子, 北村和子, 池澤善郎, 椿和文, 矢上 健: 日本ラテックスアレルギー研究会会誌, **1-2**, 72-77 (1997)
- 31) Akasawa, A., Tanaka, K., Hsieh, L.-S., Yagami, T., Slawek, S., Saito, H. and Iikura, Y.: "Progress in Allergy and Clinical Immunology", Vol. 4, eds. by Oehling, A. K. and López, J. G. H., Hogrefe & Huber Publishers, Seattle, pp. 124-126 (1997)
- 32) Yagami, T., Sato, M., Nakamura, A., Komiyama, T., Kitagawa, K., Akasawa, A. and Ikezawa, Z.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **101**, 379-385 (1998)
- 33) Yagami, T.: *Environ. Dermatol.*, **5**, in press (1998)
- 34) Peumans, W. J. and Van Damme, E. J. M.: *Plant Physiol.*, **109**, 347-352 (1995)
- 35) Shibasaki, M., Sumazaki, R., Isoyama, S. and Takita, H.: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **98**, 18-25 (1992)
- 36) Dickinson, H.: *Nature*, **367**, 517-518 (1994)
- 37) Taylor, S. L.: *Food Technol.*, 146-152 (1992)
- 38) Van Loon, L. C., Pierpoint, W. S., Boller, Th. and Conejero, V.: *Plant Mol. Biol. Report.*, **12**, 245-264 (1994)
- 39) Sahai, A. S. and Manocha, M. S.: *FEMS Microbiol. Rev.*, **11**, 317-338 (1993)
- 40) Graham, L. S. and Sticklen, M. B.: *Can. J. Bot.*, **72**, 1057-1083 (1994)
- 41) Van Parijs, J., Broekaert, W. F., Goldstein, I. J. and Peumans, W. J.: *Planta*, **183**, 258-264 (1991)
- 42) Raikhel, N. V., Lee, H.-I. and Broekaert, W. F.: *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **44**, 591-615 (1993)
- 43) Düring, K.: *Plant Mol. Biol.*, **23**, 209-214 (1993)
- 44) James, J. M., Sixbey, J. P., Helm, R. M., Bannon, G. A. and Burks, A. W.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **99**, 239-244 (1997)
- 45) Bufe, A., Spangfort, M. D., Kahlert, H., Schlaak, M. and Becker, W.-M.: *Planta*, **199**, 413-415 (1996)
- 46) Swoboda, I., Hoffmann-Sommergruber, K., O'Riordan, G., Scheiner, O., Heberle-Bors, E. and Vicente, O.: *Physiol. Plant.*, **96**, 433-438 (1996)
- 47) Kessmann, H., Staub, T., Hofmann, C., Maetzke, T., Herzog, J., Ward, E., Uknes, S. and Ryals, J.: *Annu. Rev. Phytopathol.*, **32**, 439-459 (1994)
- 48) Lamb, C. J., Ryals, J. A., Ward, E. R. and Dixon, R. A.: *BioTechnology*, **10**, 1436-1445 (1992)
- 49) Strittmatter, G. and Wegener, D.: *Z. Naturforsch.*, **48c**, 673-688 (1993)
- 50) Kush, A., Goyvaerts, E., Chye, M.-L. and Chua, N.-H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 1787-1790 (1990)
- 51) d'Auzac, J., Bouteau, F., Chrestin, H., Clément, A., Jacob, J. L., Lacrotte, R., Prévôt, J. C., Pujade-Renaud, V. and Rona, J. P.: *Curr. Plant Sci. Biotechnol. Agric.*, **16**, 205-210 (1993)
- 52) Chrestin, H., Gidrol, X. and Kush, A.: *Euphytica*, **96**, 77-82 (1997)
- 53) Broekaert, W., Lee, H.-I., Kush, A., Chua, N.-H. and Raikhel, N.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 7633-7637

- (1990)
- 54) Tomazic, V. J., Withrow, T. J. and Hamilton, R. G.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **96**, 635-642 (1995)
- 55) Lynn, K. R. and Clevette-Radford, N.A.: *Phytochemistry*, **25**, 2279-2282 (1986)
- 56) d'Auzac, J., Prévôt, J.-C. and Jacob, J.-L: *Plant Physiol. Biochem.*, **33**, 765-777 (1995)
- 57) Sunderasan, E., Hamzah, S., Hamid, S., Ward, M. A., Yeang, H. Y. and Cardosa, M. J.: *J. Nat. Rubb. Res.*, **10**, 82-99 (1995)
- 58) Chye, M.-L. and Cheung, K.-Y.: *Plant Mol. Biol.*, **29**, 397-402 (1995)
- 59) Jekel, P. A., Hartmann, J. B. H. and Beintema, J. J.: *Eur. J. Biochem.*, **200**, 123-130 (1991)
- 60) Gupta, N., Martin, B. M., Metcalfe, D. D. and Rao, P. V. S.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **98**, 903-912 (1996)
- 61) Garcia-Casado, G., Sanchez-Monge, R., Chrispeels, M. J., Armentia, A., Salcedo, G. and Gomez, L.: *Glycobiology*, **6**, 471-477 (1996)
- 62) Fuchs, T., Spitzauer, S., Vente, C., Hevler, J., Kapiotis, S., Rumpold, H., Kraft, D. and Valenta, R.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **100**, 356-364 (1997)
- 63) Churngchow, N., Suntaro, A. and Wititsuannakul, R.: *Phytochemistry*, **39**, 505-509 (1995)
- 64) Aalberse, R. C. and Van Ree, R.: *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, **15**, 375-387 (1997)
- 65) Van der Veen, M. J., Van Ree, R., Aalberse, R. C., Akkerdaas, J., Koppelman, S. J., Jansen, H. M. and Van der Zee, J. S.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **100**, 327-334 (1997)
- 66) Shigeta, S., Okamura, M., Tsutsumi, M., Ono, K., Ohta, M., Matsuura, F., Takao, T. and Oka, S.: *J. Biochem.*, **108**, 47-52 (1990)
- 67) Martin, M. N.: *Plant Physiol.*, **95**, 469-476 (1991)
- 68) Lavaud, F., Prevost, A., Cossart, C., Guerin, L., Bernard, J. and Kochman, S.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **95**, 557-564 (1995)
- 69) Lavaud, F., Sabouraud, D., Deschamps, F. and Perdu, D.: *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, **15**, 429-447 (1997)
- 70) Beezhold, D. H., Sussman, G. L., Kostyal, D. A. and Chang, N.-S.: *Clin. Exp. Immunol.*, **98**, 408-413 (1994)
- 71) Strickland, J. A., Orr, G. L. and Walsh, T. A.: *Plant Physiol.*, **109**, 667-674 (1995)
- 72) Beezhold, D. H., Kostyal, D. A., Hickey, V. L., Noti, J. D. and Sussman, G. L.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **99**, S 266 (1997)
- 73) Sowka, S., Krebitz, M., Yusof, F., Yeang, H. Y., Scheiner, O. and Breiteneder, H.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **101**, S206 (1998)
- 74) Breiteneder, H. and Scheiner, O.: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **116**, 83-92 (1998)
- 75) Subroto, T., Van Koningsveld, G. A., Schreuder, H. A., Soedjanaatmadja, U. M. S. and Beintema, J. J.: *Phytochemistry*, **43**, 29-37 (1996)
- 76) Alenius, H., Kalkkinen, N., Lukka, M., Reunala, T., Turjanmaa, K., Mäkinen-Kiljunen, S., Yip, E. and Palosuo, T.: *Clin. Exp. Allergy*, **24**, 659-665 (1995)
- 77) Alenius, H., Kalkkinen, N., Reunala, T., Turjanmaa, K. and Palosuo, T.: *J. Immunol.*, **156**, 1681-1625 (1996)
- 78) Chen, Z., Posch, A., Lohaus, C., Rauf-Heimsoth, M., Meyer, H. E. and Baur, X.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **99**, 402-409 (1997)
- 79) Posch, A., Chen, Z., Wheeler, C., Dunn, M. J., Rauf-Heimsoth, M. and Baur, X.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **99**, 385-395 (1997)
- 80) Czuppon, A. B., Chen, Z., Rennert, S., Engelke, T., Meyer, H. E., Heber, M. and Baur, X.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **92**, 690-697 (1993)
- 81) Yeang, H. Y., Cheong, K. F., Sunderasan, E., Hamzah, S., Chew, N. P., Hamid, S., Hamilton, R. G. and Cardosa, M. J.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **98**, 628-639 (1996)
- 82) Akasawa, A., Hsieh, L.-S., Martin, B.M., Liu, T. and Lin, Y.: *J. Biol. Chem.*, **271**, 25389-25393 (1996)
- 83) Slater, J. E., Vedvick, T., Arthur-Smith, A., Trybul, D. E. and Kekwick, R. G. O.: *J. Biol. Chem.*, **271**, 25394-25399 (1996)
- 84) Beintema, J. J.: *FEBS Lett.*, **350**, 159-163 (1994)
- 85) Akasawa, A., Hsieh, L., Tanaka, K., Lin, Y. and Iikura, Y.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **97**, 321 (1996)
- 86) Vanek-Krebitz, M., Sowka, S., Hsieh, L. S., Scheiner, O. and Breiteneder, H.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **99**, S 479 (1997)
- 87) Mikkola, J., Alenius, H., Hänninen, A.-R., Kalkkinen, N., Reunala, T., Turjanmaa, K. and Palosuo, T.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **101**, S153 (1998)
- 88) Alenius, H., Mikkola, J., Turjanmaa, K., Reunala, T. and Palosuo, T.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **99**, S503 (1997)
- 89) Alenius, H., Mikkola, J., Turjanmaa, K., Reunala, T. and Palosuo, T.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **101**, S200 (1998)
- 90) Beezhold, D. H., Kostyal D. A. and Sussman, G. L.: *Clin. Exp. Immunol.*, **108**, 114-121 (1997)
- 91) Fuchs, R. L. and Astwood, J. D.: *Food Technol.*, 83-88 (1996)
- 92) Astwood, J. D., Leach, J. N. and Fuchs, R. L.: *Nature Biotechnol.*, **14**, 1269-1273 (1996)
- 93) Aalberse, R. C.: *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **4**, 55-60 (1997)
- 94) Vieths, S.: *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **4**, 61-70 (1997)
- 95) Aalberse, R. C.: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **99**, 261-264 (1992)
- 96) Fritsch, R., Ebner, C. and Kraft, D.: *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, **15**, 397-404 (1997)
- 97) Deviller, P. and Pauli, G.: *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, **15**, 405-413 (1997)
- 98) Valenta, R. and Kraft, D.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **97**, 893-895 (1996)
- 99) Pastorello, E. A., Incorvaia, C., Pravettoni, V. and Ortolani, C.: *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, **15**, 415-427 (1997)
- 100) Vanek-Krebitz, M., Hoffmann-Sommergruber, K., Laimer da Camara Machado, M., Susani, M., Ebner, C., Kraft, D., Scheiner, O. and Breiteneder, H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **214**, 538-551 (1995)
- 101) Hsieh, L.-S., Moos, M. and Lin, Y.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **96**, 960-970 (1995)
- 102) Schöning, B., Vieths, S., Petersen, A. and Baltes, W.: *J. Sci. Food Agric.*, **67**, 431-440 (1995)

- 103) Valenta, R., Duchene, M., Ebner, C., Valent, P., Sillaber, C., Deviller, P., Ferreira, F., Tejkl, M., Edelmann, H., Kraft, D. and Scheiner, O.: *J. Exp. Med.*, **175**, 377-385 (1992)
- 104) Kortekangas-Savolainen, O., Savolainen, J. and Einarsson, R.: *Clin. Exp. Allergy*, **23**, 587-590 (1993)
- 105) Scheiner, O., Aberer, W., Ebner, C., Ferreira, F., Hoffmann-Sommergruber, K., Hsieh, L. S., Kraft, D., Sowka, S., Vanek-Krebitz, M. and Breiteneder, H.: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **113**, 105-108 (1997)
- 106) Vuitton, D. A.: *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, **15**, 367-374 (1997)
- 107) Musu, T., Grégorie, C., David, B and Dandeu, J.-P.: *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, **15**, 485-498 (1997)
- 108) Sandermann, H., Ernst, D., Heller, W. and Langebartels, C.: *Trends Plant Sci.*, **3**, 47-50 (1998)
- 109) Masuch, G., Franz, J.-Th., Schoene, K., Müskens, H. and Bergmann, K.-Ch.: *Allergy*, **52**, 874-875 (1997)
- 110) Thomas, P., Strube, D., Valenta, R. and Przybilla, B.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **101**, S203 (1998)
- 111) Chung, S. Y., Champagne, E. T., Bannon, G. A. and Burks, A. W.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **101**, S240 (1998)
- 112) Hänninen, A.-R., Mikkola, J., Alenius, H., Turjanmaa, K., Reunala, T. and Palosuo, T.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **101**, S170 (1998)
- 113) Midoro-Horiuti, T., Goldblum, R. M., Brooks, E. G. and Kurosaki, A.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **101**, S203 (1998)
- 114) Leitner, A., Jensen-Jarolim, E., Grimm, R., Wüthrich, B., Ebner, H., Scheiner, O., Kraft, D. and Ebner, C.: *Allergy*, **53**, 36-41 (1998)
- 115) Jensen-Jarolim, E., Santner, B., Leitner, A., Grimm, R., Scheiner, O., Ebner, C. and Breiteneder, H.: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **116**, 103-109 (1998)
- 116) Codina, R., Lockey, R. F., Fernández-Caldas, E. and Rama, R.: *Clin. Exp. Allergy*, **27**, 424-430 (1997)
- 117) Lee, H.-I. and Raikhel, N. V.: *Braz. J. Med. Biol. Res.*, **28**, 743-750 (1995)
- 118) Zhu, Q., Maher, E. A., Masoud, S., Dixon, R. A. and Lamb, C. J.: *Bio/Technology*, **12**, 807-812 (1994)
- 119) Grison, R., Grezes-Besset, B., Schneider, M., Lucante, N., Olsen, L., Leguay, J.-J. and Toppan, A.: *Nature Biotechnol.*, **14**, 643-646 (1996)
- 120) Kessler, D. A., Taylor, M. R., Maryanski, J. H., Flamm, E. L. and Kahl, L. S.: *Science*, **256**, 1747-1832 (1992)
- 121) Inschlag, C., Hoffmann-Sommergruber, K., O'Riordain, G., Ahorn, H., Ebner, C., Scheiner, O. and Breiteneder, H.: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **116**, 22-28 (1998)

ジオキシランを用いた立体選択的エポキシ化反応の開発

栗原正明[#]・宮田直樹

Stereoselective epoxidation with bulky dioxiranes generated from substituted cyclohexanones

Masaaki Kurihara[#] and Naoki Miyata

Dioxiranes have recently been shown to be important and versatile oxidants, which are generated from potassium monoperoxyxulfate (KHSO_5) and ketones. Dimethyldioxirane, a dioxirane generated from acetone as a ketone, is particularly useful as an oxidation reagent with a broad scope of synthetic applications. Several papers have been reported about stereoselective epoxidation using dimethyldioxirane. However, there have been only a few examples using dioxiranes generated from other ketones. Dioxiranes derived from sterically hindered ketones are expected to be "bulky oxidant", and to be useful for stereoselective epoxidation. In a CH_2Cl_2 -buffered water (two-phase system) in the presence of phase-transfer agent under neutral condition (pH 7.8) according to the reported procedure, the epoxidations with hindered α -substituted cyclohexanones proceeded in very low yields. After a survey of possible conditions we found that basic (pH 11) CH_2Cl_2 -MeOH-buffer system was effective for the epoxidations of olefins with Oxone (active constituent KHSO_5) and substituted cyclohexanones. We carried out epoxidation of cyclohexen derivatives with dioxiranes derived from α -substituted cyclohexanones in a CH_2Cl_2 -MeOH-buffer solvent system at pH 11. High *trans* selectivities were obtained. Furthermore, according to this method acyclic silyl ethers were stereoselectively oxidized to afford *erythro* epoxides.

Keywords: dioxirane, stereoselective epoxidation, Oxone

1. はじめに

エポキシドは、不斉炭素の構築、酸素官能基の導入、求核剤との高い反応性などの点から合成前駆体として多く用いられている重要な官能基である。それゆえ、エポキシドを高選択的に合成する方法は非常に有用であり、効率的で実用性の高い方法論の開発が強く望まれている。

エポキシ化反応を立体選択的反応の観点から考えると、アキラルな基質を用いる不斉エポキシ化反応(asymmetric epoxidation)とキラルな基質に対する立体選択的エポキシ化反応 (stereoselective epoxidation, diastereoselective epoxidation)に大別できる。前者の代表的な例はSharplessによるアリルアルコールの不斉エポキシ化反応である。¹⁾ このSharpless反応は、有機合成化学上最も重要な反応の一つであり、多くの合成に利用されている。後者の例としてはキラルなアリルアルコールのメタクロロ過安息香酸

(*m*-CPBA)や V^{5+} -tBuOOH (TBHP) 系を用いたアリルアルコールの立体選択的エポキシ化反応がある。²⁾

酸化剤 potassium peroxomonosulfate (KHSO_5) はケトンと反応してジオキシランを生成する。(Fig. 1) アセトンから生成するジメチルジオキシラン 1 はエポキシ化反応をはじめ様々な酸化反応を行うことが知られている。³⁾

ケトンとしてアセトン以外の嵩高いケトンを用いれば生成するジオキシランはバルキーな酸化剤として作用し、キラルなオレフィンに対して立体選択的エポキシ化反応を行うことが期待できる。(Fig. 2) これは、過酸を用いた場合のキレーションによる立体制御とは異なり非キレーション的立体制御であり、特に官能基を持たない基質に対しても

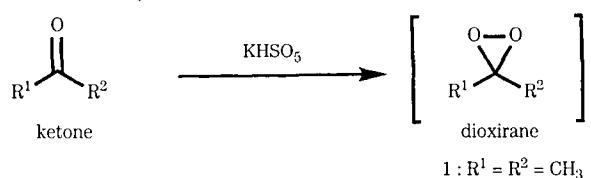


Fig.1. Formation of dioxiranes

[#] To whom correspondence should be addressed: Masaaki Kurihara; Kamiyoga, 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext.224; Fax: 03-3707-6950; E-mail: masaaki@nihs.go.jp

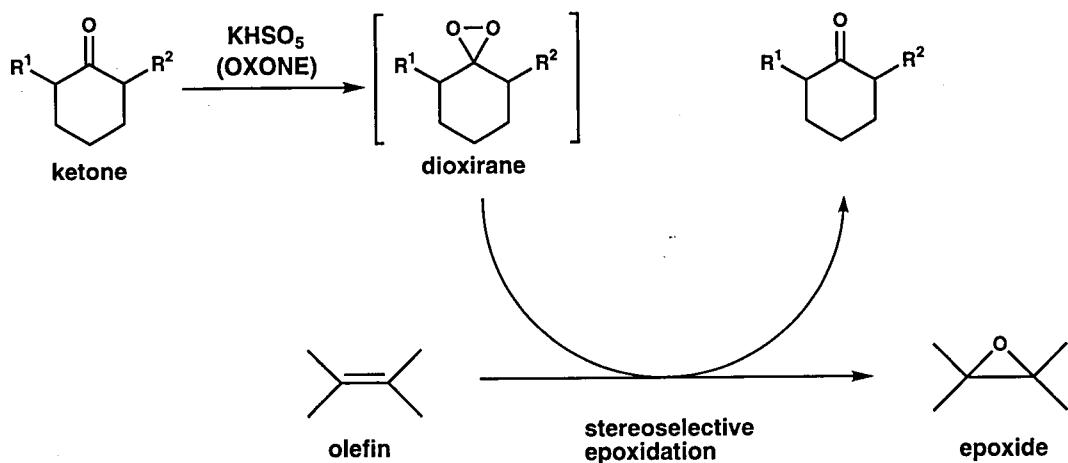


Fig.2. Stereoselective epoxidation using bulky dioxiranes

立体選択性的にエポキシドを導入することができる。しかし、アセトン以外のケトンを用いたジオキシランのエポキシ化反応の報告は少なく、ケトンの構造とエポキシ化の関係について不明な点が多い。本文では、その点を明かにし、立体選択性的エポキシ化反応の開発について述べる。⁴⁾

2. 種々のケトンを用いたエポキシ化反応の条件検討

Curciらが報告している方法⁵⁾、すなわち塩化メチレンと緩衝液に相間移動触媒を加えた2相系(pH 7.8)でケトン-オキソソル(oxone: 2KHSO₅·KHSO₄·K₂SO₄)によるスチレンのエポキシ化を行った。ケトンとして α 位に置換基のないシクロヘキサンを用いた場合はエポキシ化が進行したが(68%, 48%)、 α 位に置換基を持つ2-メチル、2-フ

ニル、2,6-ジメチルのシクロヘキサンを用いるとエポキシ化はほとんど進行しなかった。(Table 1: method A)そこで、溶媒系、pH等の反応条件を種々検討した結果、

Table 1. Epoxidation of styrene with dioxiranes

entry	ketone	yield(%) ^{a)}	
		method A	method B
1		68	91
2		48	92
3		13	94
4		2	65
5		2	78
6	no ketone	2	3

method A: pH 7.8, CH₂Cl₂-MeOH-buffer, Bu₄NHSO₄, r.t., 5h

method B: pH 11, CH₂Cl₂-MeOH-buffer, r.t., 5h

^{a)} Determined by HPLC.

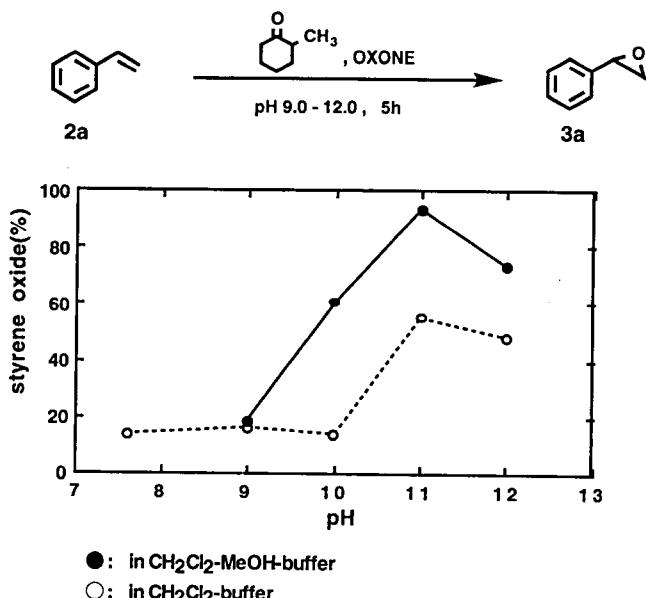


Fig.3. Effect of pH in epoxidation with dioxiranes

塩化メチレン-メタノール-緩衝液の溶媒系を用い pH 11 (ペーハースタットを用い反応中はpHを一定に保った)でエポキシ化を行うとシクロヘキサン類で好収率でエポキシドが得られることを見いだした。(Table 1 : method B) Fig. 3 に pH のエポキシ化に及ぼす影響を示した。両溶媒系とも pH 11で最も良い結果を与えた。著者らが均一溶媒系による方法論を報告してから、最近、均一溶媒系によるジオキシランのエナンチオ選択的エポキシ化反応が報告

されている。⁶⁾

3. シクロヘキセン類の立体選択的エポキシ化反応

ケトンとしてシクロヘキサン類を用いたエポキシ化の至適条件塩化 (メチレン-メタノール-緩衝液の均一溶媒系, pH 11) を見いだしたので、その条件による環状オレフィンであるシクロヘキセン類のエポキシ化を検討した。その結果を Table 2 に示した。シクロヘキセン類としては

Table 2. Stereoselective epoxidation of cyclohexene derivatives

olefin	entry	oxidant	method	reaction time(h)	yield(%)	selectivity (cis : trans)	
	1	10, Oxone	A	3.0	56	14 : 86	
	2	11, Oxone	A	3.5	80	9 : 91	
	3	13, Oxone	A	3.5	83	12 : 88	
	4	14, Oxone	A	4.0	68	7 : 93	
	5	15, Oxone	A	3.0	100	4 : 96	
	6	16, Oxone	A	18.5	70	23 : 77	
	7	Oxone	A	2.5	28	25 : 75	
	8	m-CPBA	B	1.0	76	46 : 54	
	9	10, Oxone	A	1.5	69	36 : 64	
	10	12, Oxone	A	3.5	63	29 : 71	
	11	13, Oxone	A	3.0	66	23 : 77	
	12	Oxone	A	3.0	46	73 : 27	
	13	m-CPBA	B	3.0	83	95 : 5	
	14	10, Oxone	A	3.5	40	13 : 87	
	15	12, Oxone	A	1.5	77	10 : 90	
	16	13, Oxone	A	3.0	65	7 : 93	
	17	Oxone	A	3.0	0	-	
	18	m-CPBA	B	3.5	85	18 : 82	
	10						
	11						
	12						
	13						
	14						
	15						

method A: A solution of Oxone (4 mmol) in water was added dropwise to a well-stirred mixture of CH₂Cl₂ (5 ml), MeOH (20 ml) and buffered water (10 ml, pH 11.0, 0.5 M phosphate buffer) containing olefin (1mmol) and ketone (10 mmol) at r.t.. During the addition, the pH of the reaction mixture was kept constant using a pH-stat.

method B: A mixture of olefin (1 mmol) and m-CPBA (3 mmol) in CH₂Cl₂ was stirred at r.t..

1,3-ジメチルシクロヘキセン4a, シクロヘキセノール4b, 及びそのt-ブチルジメチルシリル(TBDMS)体4cを用いた。その結果、すべての基質でトランス体のエポキサイドが得られた。特にシクロヘキセノールの場合では、メタクロロ過安息香酸(*m*-CBPA)によるエポキシ化がシス選択性であることと対照的な結果を示した。(entry 11) また、1,3-ジメチルシクロヘキセン、シクロヘキセノールのTBDMS体では高いトランス選択性が得られた。(entry 4, 5, 16) ケトンの α 位の置換基が嵩高い程選択性も高い結果が得られた。(entries 1-5, 9-11, 14-16) ジオキシランに

よるシクロヘキセン類のエポキシ化反応でトランス体が得られたのは、環に対して置換基と反対側からジオキシランが近づきトランスのエポキシドが得られたと考えられる。

4. アリルエーテルの立体選択的エポキシ化反応

さらに、シリル基で保護した鎖状アリルアルコール17a~eのケトノーオキソ系によるエポキシ化反応を検討した。結果をTable 3に示した。比較のため*m*-CPBAによるエポキシ化も行った。*m*-CPBAでは選択性が見られないか、スレオ選択性であったが、ケトノーオキソ系による

Table 3. Stereoselective epoxidation of acyclic allylic ethers

 17		oxidant		threo	erythro
olefin	entry	oxidant	method	yield(%)	selectivity (threo : erythro)
 17a	1	13, Oxone	A	21	26 : 74
	2	14, Oxone	A	28	25 : 75
	3	<i>m</i> -CPBA	B	74	51 : 49
 17b	4	10, Oxone	A	54	43 : 57
	5	11, Oxone	A	84	42 : 58
	6	13, Oxone	A	50	29 : 71
	7	14, Oxone	A	84	22 : 78
 17c	8	<i>m</i> -CPBA	B	90	66 : 34
	9	13, Oxone	A	24	58 : 42
	10	14, Oxone	A	13	61 : 39
 17d	11	<i>m</i> -CPBA	B	91	57 : 43
	12	11, Oxone	A	81	32 : 68
	13	13, Oxone	A	54	30 : 70
	14	14, Oxone	A	99	11 : 89
 17e	15	<i>m</i> -CPBA	B	78	53 : 47
	16	13, Oxone	A	28	12 : 88
	17	14, Oxone	A	94	2 : 98
	18	<i>m</i> -CPBA	B	71	25 : 75

method A: A solution of Oxone (4 mmol) in water was added dropwise to a well-stirred mixture of CH_2Cl_2 (5 ml), MeOH (20 ml) and buffered water (10 ml, pH 11.0, 0.5 M phosphate buffer) containing olefin (1 mmol) and ketone (10 mmol) at r.t. for 6 hrs. During the addition, the pH of the reaction mixture was kept constant using a pH-stat.

1) Determined by GLC analysis. 2) Ratios were determined by GLC, HPLC or NMR. In each case, stereochemistry is assigned by correlation with known structures.

method B: A mixture of olefin (1 mmol) and *m*-CPBA (3 mmol) in CH_2Cl_2 was stirred at r.t. for 3 hrs.

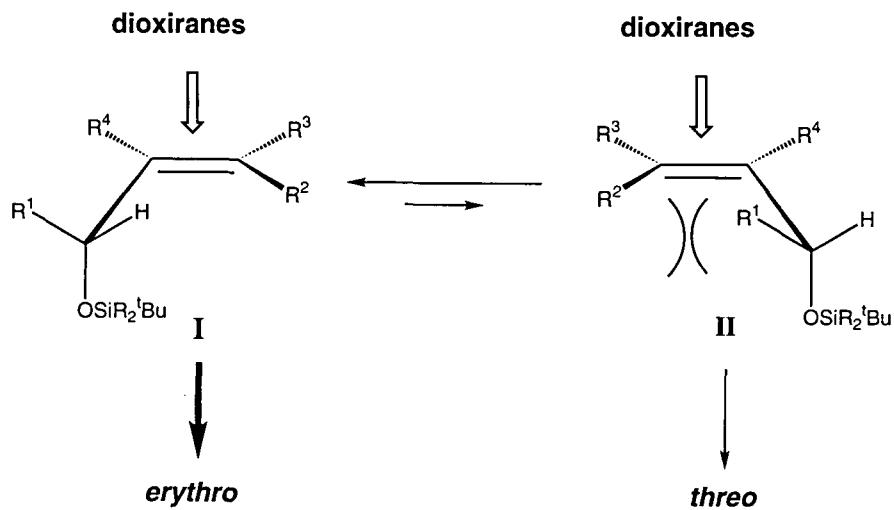


Fig.4. Mechanism of stereoselective epoxidation of acyclic allylic ethers

エポキシ化では、17cを除いてエリスロ選択性を示した。(entries 1, 2, 4-7, 12-14, 16, 17)特に、Z型のオレフィン17d, 17eでは選択性、収率とも良い結果を与えた。(entries 14, 17)ケトンとしては2,6-ジメチルシクロヘキサノン 13より2-フェニルシクロヘキサノン 14の方が高い選択性を与えた。オレフィンとしてt-ブチルジフェニルシリル(TBDPS)誘導体 17eを、ケトンとして14を用いた場合に最もよい選択性(98:2)が得られた。(entry 17)

5. アリルエーテルのエポキシ化反応のメカニズム

アリルエーテルをジオキシランでエポキシ化したときエリスロ体が優先することについて反応の遷移状態について考察してみる。嵩高い反応剤であるジオキシランが二重結合に近づくとき、ビニル位の置換基で最も嵩高いシリルオキシ基は、近づくジオキシランとアンチのコンフォメーションをとっていると考えられる。その時、考えられる遷移状態は二つある。Fig. 4に示したIとIIである。遷移状態Iからはエリスロ体が、IIからはスレオ体が生成する。この二つの遷移状態においてIIではR¹とR²のアリル1,3-ストレイン⁷の反発により不安定化すると考えられる。よって遷移状態Iを経由しエリスロ体が優先したと推定できる。Z型のアリルエーテルではR²が崇高くなりアリル1,3-ストレインの効果がより大きいため、特に高い選択性が得られたと考えられる。また、オレフィン17cでエリスロ選択性が見られなかつたのは、17cではR⁴が嵩高いため、R¹とR⁴の反発がおき遷移状態Iが不安定したと考えられる。

6. まとめ

従来、立体選択的エポキシ化反応は過酸によるアリル化

合物のエポキシ化が行われていた。これは、アリル化合物の水酸基と過酸とのキレーションによる立体制御と考えることができる。またここで述べたバルキーなジオキシランのエポキシ化反応では非キレーション的な立体制御である⁸。そして、得られるエポキシドの立体化学は、過酸のエポキシ化反応とちょうど対照的で、環状化合物では過酸ではシス体が、ジオキシランではトランス体を選択的に与えるし、さらに、鎖状の系では過酸がスレオ体を与えるのに比べて、ジオキシランはエリスロ体をあたえる。(Fig. 5) これは、合成化学上有用な方法論になる。すなわち、環状または鎖状のアリルアルコールを過酸でエポキシ化するとシスまたはスレオのエポキシドが得られ、トランスまたはエリスロ体が欲しいときはアルコールをシリル基で保護し、ジオキシランを用いてエポキシ化すればよいことになる。

従来から、エポキシ化反応として一般的によく使われているメタクロロ過安息香酸は非常に高価であり、取り扱いも容易でない。このことから工業的には使用できないと考えられている。ジオキシランによるエポキシ化反応は非常に経済的である。この反応で用いるケトンは回収が可能である。また、オキソン(Oxone)は非常に安価である。また、ここで開発したケトン-オキソン系では水系の溶媒を使うこと、金属試薬を使用しないことを考えると環境にやさしい反応と言うこともできる。本文で述べたケトン-オキソン系によるエポキシ化反応は、経済のことや環境のことを考えると、今後、ますます発展しうる方法論である。

本研究の一部は科学技術庁総合科学技術振興調整費によって行ったものである。

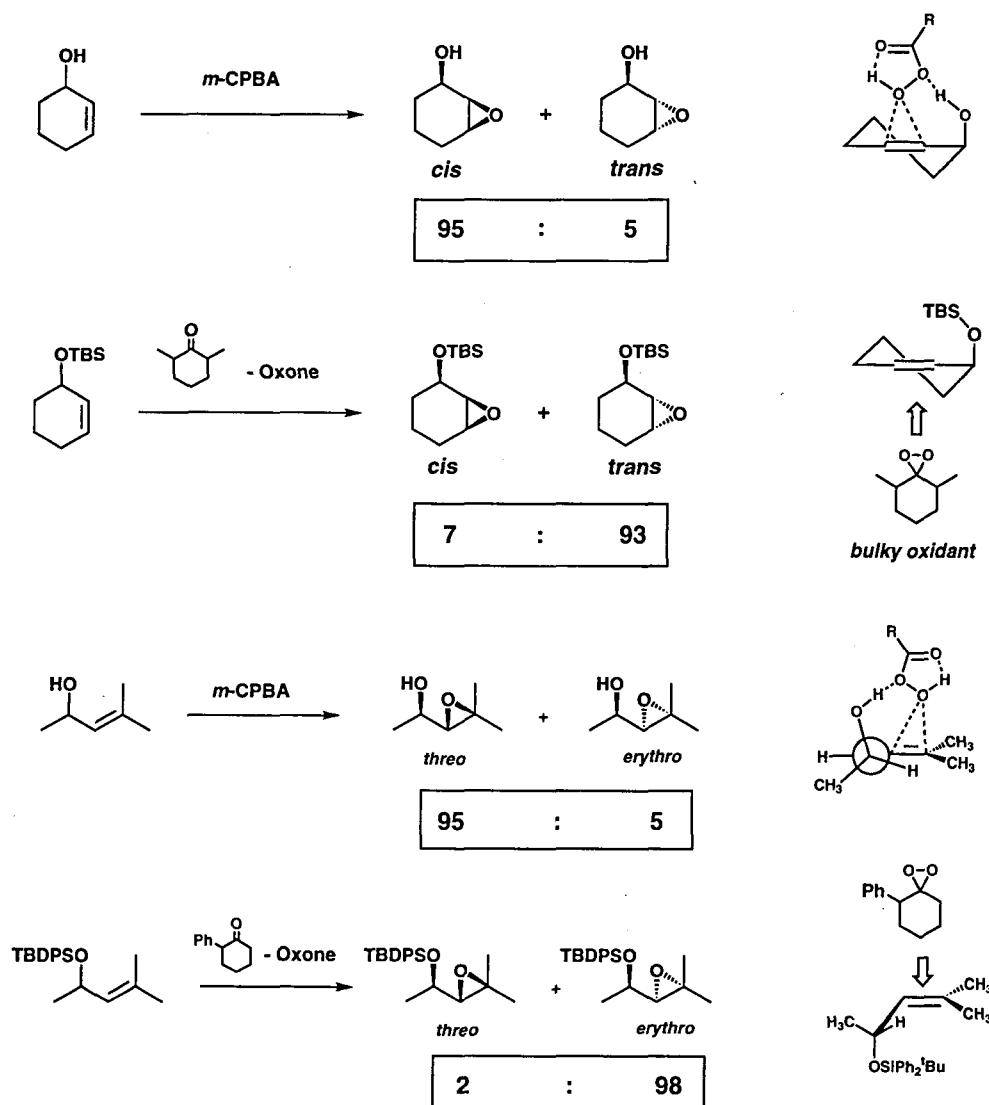


Fig.5. Stereoselective epoxidation of allylic alcohol derivatives

文 献

- 1) Katsuki, T., Sharpless, K. B.: *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 5974 (1980)
- 2) a) Chautemps, P. and Pierre, J.-L.: *Tetrahedron*, **32**, 549 (1976); b) Mihelich, E. D.: *Tetrahedron Lett.*: **20**, 4729 (1976); c) Rossiter, B. E., Verhoeven, T. R. and Sharpless, K. B.: *Tetrahedron Lett.*, **20**, 4733 (1979)
- 3) a) Adam, W., Curci, R., Edwards, J. O.: *Acc. Chem. Res.*, **22**, 205 (1989); b) Murray, R. M.: *Chem. Rev.*, **89**, 11871 (1989)
- 4) a) Kurihara, M., Ito, S., Tsutsumi, N., Miyata, N., *Tetrahedron Lett.*: **35**, 1577 (1994); b) Kurihara, M., Ishii, K., Kasahara, Y., Kameda, M., Pathak, A. K. and Miyata, N.: *Chem. Lett.*, **1997**, 1015; c) 栗原正明, 石井圭, 笠原容子, 亀田まり, 宮田直樹: 第21回反応と合成の進歩シンポジウム要旨集, 406 (1995); d) 栗原正明, 衣田航, 宇賀神正代, 伊東幸子, 堤のぞみ, 宮田直樹第: 22回反応と合成の進歩シンポジウム要旨集, 350 (1996)

- 5) Curci, R., Fiorentino, M., Serio, M. R.: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 155 (1984)
- 6) a) Yang, D., Yip, Y.-C., Tang, M.-W., Wong, M.-K., Zheng, J.-H. and Cheung, K.-K.: *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 491 (1996); b) Tu, Y., Wong, Z.-X. and Shi, Y.: *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 9806 (1996); c) Wong, Z.-X., Tu, Y., Frohn, M. and Shi, Y.: *J. Org. Chem.*, **62**, 2328 (1997)
- 7) Krysan, D. J., Rockway, T. W., Haight, A. R.: *Tetrahedron: Asymmetry*, **5**, 625 (1994)
- 8) a) Houk, K. N., Moses, S. R., Wu, Y.-D., Rondan, N. G., Jager, V., Schohe, R. and Fronczek, F. R.: *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 3880 (1984); b) Houk, K. N., Duh, H.-Y., Wu, Y.-D. and Moses, S. R.: *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 2754 (1986); c) Kahn, S. D. and Hehre, W. J.: *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 666 (1987); d) Chamberlin, A. R., Mulholland, R. L., Kahn, S. D. and Hehre, W. J.: *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 672 (1987); e) Panek, J. S. and Cirillo, P. F.: *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 4873 (1990)

薬物代謝酵素の遺伝的多型性と薬効および毒性の個体差

小澤正吾[#]

Interindividual differences in efficacy and toxicity induced by therapeutic drugs and xenobiotics in relation to genetic polymorphisms in xenobiotic metabolizing enzymes

Shogo Ozawa[#]

Humans incessantly ingest wide-variety of chemicals through the administration of therapeutic drugs, diets and beverages. Humans are also exposed to environmental mutagens and carcinogens and substances causing endocrine disruption. Metabolism and disposition have been regarded as one of the most important determinants of efficacy and toxicity induced by ingested chemicals, since remarkable individual difference was observed in the plasma concentration and/or urinary excretion after the administration of wide variety of therapeutic drugs such as isoniazid, sulfamethazine, debrisoquin, sparteine, mephénytoin and so on. This variability is resulted from pharmacogenetically regulated difference in the activities of xenobiotic metabolizing enzymes (so called genetic polymorphisms). Polymorphic appearance of xenobiotic metabolism has also been observed with various toxic substances such as ethanol, acetaldehyde, benzene, organic phosphates and environmental mutagens and carcinogens. Enzymes which show genetic polymorphisms include cytochrome P450s (CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6, CYP2C19, CYP2D6 and CYP2E1) and phase II drug metabolizing enzymes (arylamine N-acetyltransferases, glutathione S-transferases and UDP-glucuronosyl transferases). A number of mutations on the genes encoding polymorphic xenobiotic metabolizing enzymes have been associated with the remarkable individual difference in the metabolism and disposition *in vivo*. Individuals with distinct alleles of genes which encode defective enzymes have been shown to be at higher risk to toxic side effects by therapeutic drugs and more susceptible to certain malignant diseases. Research has to be conducted for each human race concerning risk assessment of chemicals, since ethnic differences in frequency of distinct alleles of genes encoding xenobiotic metabolizing enzymes are reported. In case of type 1 Crigler-Najjar syndrome causing unconjugated hyperbilirubinemia, complete loss of bilirubin-detoxifying UDP-glucuronosyl transferase has been attributed to nonsense, missense, and/or frameshift mutations that occurred at various sites on *UGT1* gene. Thus, genetic polymorphisms of xenobiotic metabolizing enzymes are one of the most important factors influencing efficacy of therapeutic drugs and toxicity by wide-variety of chemicals.

Keywords: drug metabolizing enzyme, bioactivation and detoxification, pharmacogenetics, drug efficacy, toxicity

1. はじめに

薬物、食事、飲料、嗜好品、呼気など人間はさまざまな経路で、極めて多様な化学物質を摂取している。摂取された化学物質がそのままの構造でヒトに何らかの作用を現す場合もあるが、代謝活性化を受けて作用を発現することも多い。また、構造変換を受けずに作用する場合でも、解毒・排泄のため、より水溶性が高まるような代謝を受けること

が多い。このように、医薬品、その他の一般化学物質の安全性や有効性の発現に代謝能が大きく影響すると考えられる。薬物や生体外異物の代謝研究のために動物実験が大いに貢献したが、代謝酵素の種差の問題が現れ、ヒト型の実験系が用いられることが多くなってきている。これは、「実験動物から得られたデータのヒトへの外挿の困難さ」を示すものであるが、ヒト型の実験系を用いていても生じるもうひとつの問題がある。それは、ヒトは実験動物のように遺伝的に均一ではなく、雑種であるために、「遺伝的要因による個体差が大きい」ことである。遺伝的要因による薬物代謝能の個体差は、薬物代謝酵素をコードする遺伝子上の多型、すなわち遺伝的多型性が原因となっている。

* To whom correspondence should be addressed: Shogo Ozawa; 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-1141 ext.327; Fax: +81-3-3707-6950; E-mail: sozawa@nihs.go.jp

この現象は、薬物治療において、血中濃度の顕著な個体差により、薬効や副作用の程度に大きな差異がみられ、時に薬物による毒性発現のリスクが高いヒトの存在が明らかにされたことから注目された。ヒトを含めた薬物代謝酵素研究の進歩と共に、研究対象は薬物のみならず一般化学物質へと広がりを見せ、「ヒト薬物代謝の遺伝的多型性」は、種々の毒性物質に対する個体リスクに影響する因子の一つとしても研究されている。このように、薬物代謝酵素の多型は人間を取りまくあらゆる化学物質に対する安全性、有効性を評価するために必要な基礎的情報の一つであると考えられる。薬物代謝酵素の遺伝子多型（遺伝的多型性）が、薬効、毒性の個人差にどのように関連しているかを研究する学問分野は薬理遺伝学（pharmacogenetics）と呼ばれる。本稿では、国立医薬品食品衛生研究所の使命の一つ、「化学物質によるヒトの健康影響の評価」を遂行するための重要な基礎研究の一端である薬理遺伝学の最近までの知見につき、少數であるが代表的な薬物や毒性物質を例として挙げながら総説したい。

2. 薬物の副作用および薬効の個体差と遺伝多型

2-1. アリルアミンアセチル転移酵素の多型による薬理作用の個人差

化学療法薬イソニアジド（INH）やスルファメサジン（SMZ）は分子内の一級アミンがN-アセチル化を受けて不活性化され、尿中に排泄される。しかし、INHやSMZ服用後、尿中排泄された総薬物量のうちのN-アセチル抱合体の割合や、最高血中薬物濃度には著しい個体差があり、欧米人について、N-アセチル化体の割合や、血中濃度の値の分布には、Fig. 1に示すような2ないし3峰性が認められる^{1,2)}。尿中のN-アセチルINHの排泄率の差異は薬効や副作用の発現と関連があり、INHの副作用として知られる末梢神経障害は代謝が遅い群の個体に起こりやすいことが明らかにされている³⁾。一方、N-アセチル化体

の分解により生じるアセチルヒドラジンによって惹起される肝炎もINHの副作用の一つである。この副作用はむしろアセチル化能の高い個体群（迅速群、または rapid acetylatorと称される）で起こりやすいと想定される。日本人を含め、東洋人には、INHのN-アセチル化能が低い遅延群（または slow acetylator）の頻度が低い。したがって、日本人には多発性神経炎は比較的まれであるが、東洋人の肝炎の発生頻度は高いとされる。これらの副作用の頻度と、N-アセチル化形質の出現頻度とが一致しているかどうか十分な検証が必要と思われる。INHによる末梢神経障害のような注意すべき副作用の発生頻度と、N-アセチル化形質との密接な関連が明らかとなって以来、N-アセチル化能の多型の機構が解析された。ヒト、ウサギ、マウス、ラット、ハムスターなどの実験動物の肝上清画分にINHのN-アセチル化酵素活性が検出され、また、ウサギ、マウス、ラット、ハムスターでは、N-アセチル化能が低い系統と高い系統が見い出され、交配実験により、形質はメンデルの法則にしたがって遺伝することが示された⁴⁾。筆者は、1990年、慶應義塾大学医学部薬理学教室の加藤隆一教授（現・名誉教授）、山添康助教授（現・東北大学薬学部教授）らとともにシリアンハムスター肝のN-アセチル化酵素の遺伝的多型性の機構を解析した。その結果、ハムスター肝アリルアミンN-アセチル転移酵素の2つの近縁分子種（NAT1およびNAT2）のうち、slow acetylatorではNAT2タンパクが欠損していることにより、本分子種によりアセチル化される基質の代謝活性に著しい個体差が生じ、アセチル化の形質はメンデルの法則により遺伝することが示された⁵⁾（Fig. 2）。本酵素活性は皮膚にも発現していたことから皮膚の小断片からアセチル化形質を知り、迅速群、遅延群の系統を確立し、両群の個体の遺伝子を解析した。遅延群の個体では、NAT2をコードする遺伝子の塩基配列に変異があり、野生型NAT2遺伝子のコドン243番目のArgがストップコドンを生じるため、結果とし

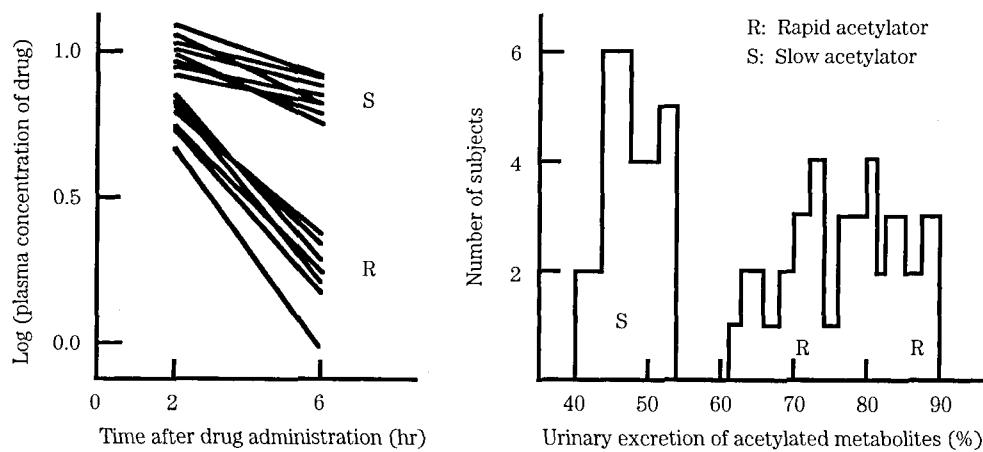


Fig. 1 Schematic representation of polymorphic appearance in arylamine acetylation^{1,2)}

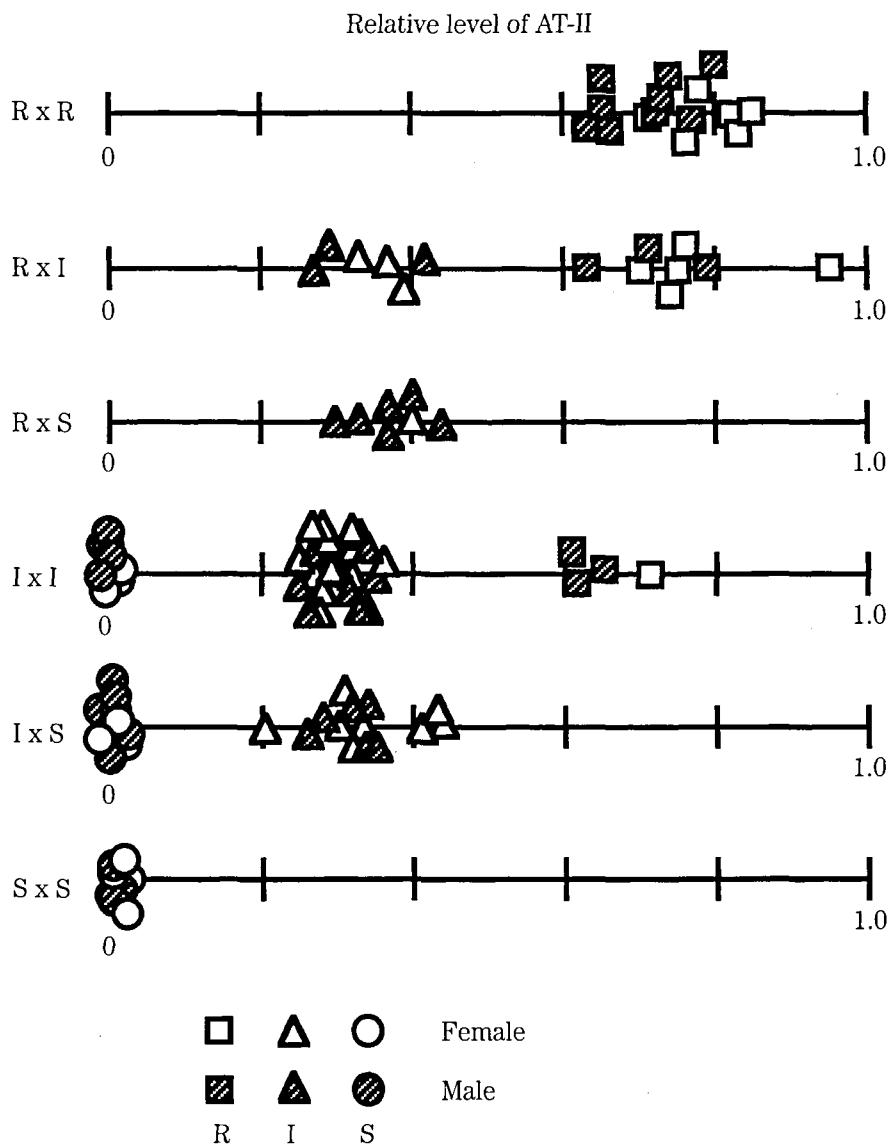


Fig. 2 Results of cross-matings of various hamster acetylators
R, Rapid acetylator; I, Intermediate acetylator; S, Slow acetylator

て正常なNAT2タンパクが発現しないことが示された⁶⁾。興味深いことに、ハムスター以外にアセチル化多型のみられる動物種であるヒト、ウサギ、マウスにおいて、多型の分子機構はかなり異なる。ヒトでは、アミノ酸の置換を伴うものを含め、翻訳領域内の塩基配列の差異⁷⁻¹²⁾、ウサギではNAT2遺伝子の欠損が認められている^{13,14)}。ラットでは、アセチル転移酵素の系統差がみられ、SD, F344, Peth, Wister系は迅速型、WKY, NSD系は遅延型で遅延型はコドン121および266のValがIleに変異していることが知られ^{15,16)}、マウスではコドン99番目のAsnのIleへの置換が報告されている¹⁷⁾。

ヒトNAT2遺伝子については最近、多くの異型遺伝子の情報が整理され¹⁸⁾、1997年のHeinらの報告によれば、1996年2月の時点での23の異なる遺伝子型があるとされてい

る¹⁶⁾。アセチル化能の多型につき、迅速群と遅延群の出現頻度には白人と東洋人間で大きな差異があることが知られており、白人における遅延群の割合は、52-68%であるのに対し、日本人の遅延群の頻度は10-15%と報告されている¹⁹⁾。NAT2遺伝子上の変異の頻度も白人が東洋人より高く、アセチル化形質と遺伝子型の出現頻度の傾向は大体一致している。

2-2. チトクロムP450の一分子種CYP2D6の多型による薬理作用の個体差

本酵素は交感神経遮断作用をもつ抗高血圧薬デブリソキンの4-水酸化や子宮収縮・抗不整脈薬スバルテインのN-酸化反応を触媒する酵素として知られている。デブリソキンの4-水酸化能の著しい個体差は、当初個体間でその排泄量に著しい差異があることが見い出されたことから認識され

るようになった²⁰⁾。デブリソキンの代謝能の個体差の指標として、尿中排泄物のデブリソキン/4-水酸化体比が適當であることが提唱され、さらにスバルteinについてもスバルtein/N-酸化体比がそのN-酸化能の形質の良い指標になることが示された^{21,22)}。その後、デブリソキンやス

バルtein代謝の遅延群（この場合は poor metabolizer, 略してPMと呼ばれる）が別の薬物の代謝についてもPMであるかどうかについて、種々の薬物につき検討され、Table 1に示すような例について、デブリソキン代謝の表現型と関連があるとされた。たとえば、β-アドレナリン

Table. 1 Relationship between metabolism of various therapeutic drugs and debrisoquin/spartein oxidation phenotype (CYP2D6)

薬効	薬物、代謝反応	デブリソキン(Deb) やスバルtein(Spa)代謝形質との関連性	文献
β-遮断薬	プロプラノロール 4-水酸化	Deb 代謝の EM, PM 間で 4-水酸化体生成クリアランスを比較: EM > PM	23-26
	メトプロロール α-水酸化	Deb 代謝の EM, PM 間で 血中メトプロロール濃度に差異: EM < PM	27, 28
	ブフロロール 1'-水酸化	Deb 代謝の EM, PM 間で 1'-水酸化体濃度: E M > PM 経口投与の場合の差異が顕著; 1'-水酸化反応の Vmax/Km 比, EM が PM の 16倍	29-31
	ブプラノロール チモロール	CYP2D6 欠損群ミクロソームで本薬の代謝能欠損 Deb 代謝の EM, PM 間でチモロールの AUC, 血漿中濃度に差異, β-受容体抑制に差異(PM > EM)	32 33, 34
抗不整脈薬	エンカイニド O-脱メチル化	Deb 代謝の EM, PM 間でエンカイニドの血漿半減期に差異: EM, 1.2 h, PM, 13.2 h	35
	フレカイニド (MODF ^{a)} , MODLF ^{a)} の生成)	Deb/Spa 代謝の EM, PM 間で, 尿中代謝物量に差異	36
	メキシレチン (主代謝物 PHM ^{c)} , HMM ^{c)} 生成)	Deb 代謝 MR ^{b)} とメキシレチン MR による両形質が一致	37, 38
	プロパフェノン 5-水酸化	Deb 代謝の EM : CYP2D6 阻害薬キニジンの併用効果	39
抗うつ薬	ノルトリプチリン 10-水酸化	Deb 代謝とノルトリプチリン代謝の表現形(EM, PM)が一致	40, 41
	アミトリプチリン 10-水酸化	(-) -E-10-ヒドロキシアミトリプチリンの尿中排泄量とデキストロメトルファンの MR が相關	42
	デシプラミン 2-水酸化	Deb 代謝 MR とデシプラミンや 2-ヒドロキシデシプロラミンの血中濃度が相關	43, 44
	イミプラミン 2-水酸化	Spa 代謝形質と 2-ヒドロキシイミプラミン/イミプロラミンによるイミプラミンの 2-水酸化代謝形質とが一致	45
向精神薬	チオリダジン(スルホキシドの生成)	Deb 代謝の PM は血中チオリダジン濃度が高い	46, 47
	ハロペリドール	CYP2D6 阻害薬キニジンによる代謝阻害/肝ミクロソームによるハロペリドールの代謝形質と Deb 代謝形質が一致	48
鎮咳薬	コデイン	Deb の MR とコデインの MR(コデイン/[モルフィン(M) + M3-および M6-グルクロニド+ノルモルフィン])による両代謝形質が一致	49-51
	デキストロメトルファン	Deb の MR とデキストロメトルファンの MR(デキストロメトルファン/デキストロルファン)による両代謝形質が一致	52-54
MAO 阻害薬	プロファロミン	Deb の MR とプロファロミンの MR による両代謝形質が一致	55
交感神経興奮性アミン	メトキシフェナミン	Deb の MR とメトキシフェナミン/O-デメチル体比による両代謝形質が一致	56

a) MODF, meta-O-dealkylated flecainide; MODLF, meta-O-dealkylated lactam of flecainide

b) MR, metabolic ratio

c) PHM, p-hydroxymexiletine; HMM, hydroxymethylmexiletine

遮断作用を示し、高血圧の治療に用いられるチモロールの血漿中濃度は、デブリソキン代謝の迅速群（この場合はextensive metabolizer, 略してEMと呼ばれる）の個体の方がPMの個体より有意に低く³⁴⁾、また、area under concentration-time curve (AUC, 血中濃度-時間曲線下面積)もEMではPMの約1/4であった。また、薬効の指標として、運動後の心拍数低下を指標にしたβ-遮断作用をみると、PM28.3%, EM13.1%であり、ほぼ同投与量においてPMのヒトはEMのヒトより有意に高い薬効を示した³³⁾。

鎮咳薬ヒドロコドンはCYP2D6によりO-脱メチル化を受けて活性代謝物ヒドロモルフォンを生じる。デキストロメトルファンのO-脱メチル化に関するPM（デキストロメトルファン/デキストロルファン比を指標として）は、ヒドロコドンのO-脱メチル化に関してもPMであった。薬物を同投与量えた後の血中ヒドロコドンのレベルは、EM, PM間でほとんど差異はなかったが、活性代謝物ヒドロモルフォンの最高血中濃度はEMが約5倍高かった。8時間までのヒドロコドンのAUCとヒドロモルフォンのAUCの比は、EMが4.2, PMが24.2と有意な差が認められた。また、デキストロメトルファンのPMの個体群に比べると、EMの個体からは、多幸感などの好ましい作用が多く報告され、不快感の報告が少なかったとされた⁵⁷⁾。これらの例のように、薬物代謝酵素活性の差異は、生物活性を有する薬物（代謝物）の血中濃度に差異を生じ、結果的に異なる薬効をもたらす。ある薬物の代謝形質とデブリソキン4-水酸化形質との関連を血中や尿中のmetabolic ratio (MR, デブリソキンの場合は、デブリソキン/4-ヒドロキシデブリソキン比)を指標にして調べる場合、薬物のどのような反応が主代謝経路であり、どの薬物代謝酵素分子種がその経路に関与するかが重要である。アミトリプチリンはFig. 3の様な代謝経路で代謝される。ノルトリプチリンおよびアミトリプチリンの10-水酸化反応の主代謝酵素はCYP2D6であることが明らかにされている⁴⁰⁻⁴²⁾。アミトリプチリンの水酸化は、CYP2D6で触媒されることから、アミトリプチリンはCYP2D6と親和性を有することは明らかであるが、経口投与後のアミトリプチリンはN-脱メチル化を受け、ノルトリプチリンを生成する経路で主に代謝され、その脱メチル化クリアランスはデブリソキンの4-水酸化能とは相関しない。すなわち、N-脱メチル化反応にはCYP2D6とは異なる酵素の関与が重要であった^{58,59)}。異種細胞内CYP分子種発現系を用いて、CYP3A4がアミトリプチリンN-脱メチル化酵素であるとされたが^{60,61)}、ごく最近CYP1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4の発現系を用いた詳細な解析により、アミトリプチリン濃度が5 μM程度ではCYP2C19の、100 μM程度ではCYP3A4の寄与が大きいことが示された⁶²⁾。アミトリプチリン50 mg経口投与後の最高血中濃度は約300-400 nMであったこと

から、アミトリプチリンのN-脱メチル化に関与する酵素はCYP2D6である可能性はきわめて低く、デブリソキン4-水酸化のMRと相関しなかったことは妥当であると考えられる。

Mahgoubらによるデブリソキン4-水酸化の欠損者の報告後²⁰⁾, Kalowらによりデブリソキン4-水酸化のPMの出現率が白人と東洋人の間で顕著に異なる、すなわち人種差が認められるとの報告がなされた⁶³⁾。多くの施設による研究により、デブリソキン4-水酸化のPMの出現率は、白人で約7%，日本人、中国人、韓国人では約1%と、明瞭な差異があることが示された^{21,64-69)}。以上述べてきたデブリソキン4-水酸化のPMの形質の遺伝的機構については、当初、ゲノムDNAのザザンプロット分析により、制限酵素XbaIによるrestriction fragment length polymorphism (RFLP) の11.5 kbpのバンドがPMのうちの一部を説明できることが明らかにされた⁷⁰⁾。その後、白人において、PMの主な原因となる遺伝子の欠損として、A, B, D型変異が報告され、1996年までにPMの形質と関連づけられた15以上の異なる遺伝子型が整理され、総説された⁷¹⁾。日本人、中国人、韓国人には、A, B型変異はきわめて少ないため、東洋人特有の変異が検索され、Yokoiらにより、エクソン9に9塩基対の挿入、エクソン5に1塩基の挿入、CYP2D6/Ch2が複数直列に配置され、CYP2D6の機能が損なわれた新しい変異CYP2D6/Ch2-Ch2が見い出された^{72,73)}。以上のように、CYP2D6依存的な薬物代謝の多型は活性代謝物の血中濃度、薬効、さらに分子機構に至るまで解析され、互いによく関連づけられている。

2-3. チトクロムP450のうち、CYP2C19の多型による薬理作用の個体差

抗痙攣薬メフェニトインのラセミ体を投与すると、尿中の4(')-ヒドロキシメフェニトインの排泄量に著しい個体差が認められ、メフェニトインの4(')-水酸化形質の指標としてmephenytoin hydroxylation index (HI, μmol S-メフェニトイン投与量/8-12時間の尿中4(')-ヒドロキシメフェニトイン回収量比)を用いることが提唱された⁷⁴⁾。また、ラセミ体投与後のR-メフェニトインの尿中回収量には大きな個体差が認められないが、S-体の尿中回収量には著しい個体差が認められ、尿中のR/S比を用いて代謝能の形質を表現することが提唱された⁷⁵⁾。Meierらは、13名のEM（代謝が速い群）、2名のPM（代謝が遅い群）の患者につき、ラセミ体のメフェニトイン投与後の尿中のメフェニトインのHIを求め、さらにこれら患者より肝生検を通じて調製した肝ミクロソームを用いてin vitroでのS-, R-メフェニトインの代謝酵素活性を調べた⁷⁶⁾。その結果、2例のPMのメフェニトイン4-水酸化反応のKm値は、150.6 μM, 180.6 μMであったのに対し、8例のEMの同反応のKMの平均値（± SD）は37.8±9.6 μMであった。

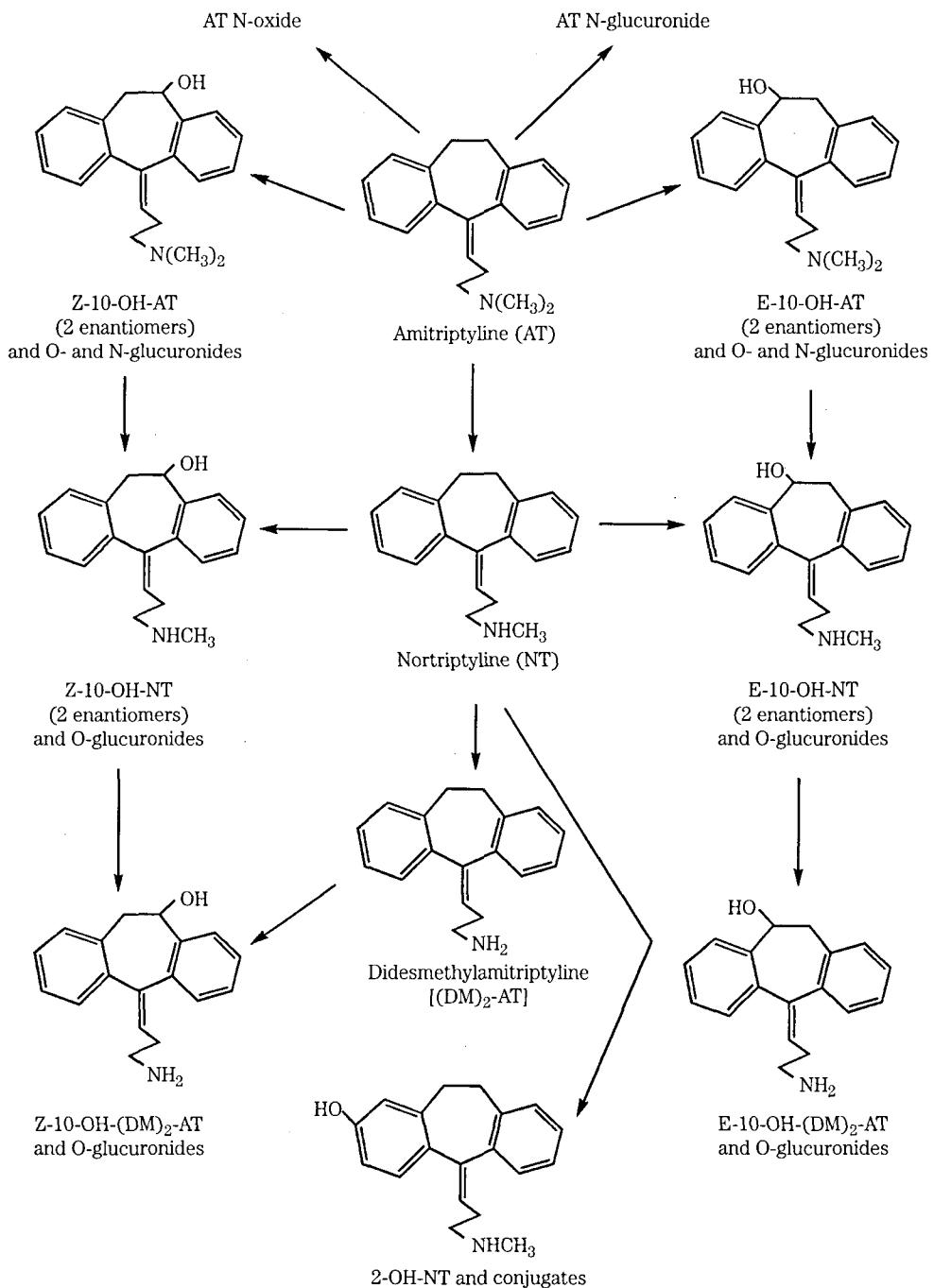


Fig. 3 Metabolic pathway of amitriptyline and nortriptyline

PM の肝ミクロソームが示した V_{max} も低く、0.76, 0.69 nmol/mg protein/min に対し、8名の EM の平均は 4.85 ± 1.65 nmol/mg protein/min であった。立体選択的メフェニトイン4-水酸化反応については、R-およびS-エナンチオマーの4-水酸化速度の比 (R/S 比) が求められ、2名の PM の R/S 比は 1.1 および 0.76 であったのに対し、13名の EM の R/S 比の平均は 0.11 ± 0.04 であった。一方、R-メフェニトインの4-水酸化及び脱メチル化の速度は PM, EM の間で顕著な差はなかった。これらの結果から、メフェニトインの代謝能の個体差は、S-メフェニトイン

に高親和性を示し、4-水酸化反応を効率良く触媒する酵素の欠損の有無によるものと考えられた⁷⁰。

S-メフェニトインの4-水酸化に関与する酵素タンパク分子種の精製と同定が本酵素活性を指標として行われ、現在の P-450 の命名法で CYP2C9, CYP2C8 に相当するとと思われる分子種が精製された^{77,78}。一方、分子生物学的手法で CYP2C ファミリーに属する分子種をコードする cDNA (CYP2C8, CYP2C9, CYP2C17, CYP2C18, CYP2C19) が単離された⁷⁹⁻⁸²。さらに、1993年になって、抗ラット CYP2B1/2 を認識する抗体に対する交差性を利用して、

CYP2C19 cDNA から予想された N-末端アミノ酸配列を有するタンパクが単離された⁸³。また、異種細胞内発現系を用いて、CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP2C19は、SDS-PAGE 上での移動度が少しずつ異なることが示された⁸⁴。SDS-PAGE 上の挙動が調べられたこれら 4 分子種のどれが S-メフェニトイイン4-水酸化活性に重要な役割を果たしているのかを明確にするため、ウエスタンプロットで求められた各種 CYP2C 分子種含量と S-メフェニトイイン4-水酸化活性との相関が調べられた。その結果、CYP2C19 の含量が最も本酵素活性と良好な相関を示した⁸⁴。さらに、異種細胞内発現系を用いた実験結果および、CYP2C9 の異型と肝 S-メフェニトイイン4'-水酸化活性との間に明瞭な相関が認められなかったことをあわせ、ヒト肝において、S-メフェニトイイン4-水酸化活性には CYP2C19 が最も重要な役割を果たしていることが明らかとなった⁸⁴。

代謝経路に CYP2C19 が重要な関与をするためにメフェニトイイン4'-水酸化反応と同様の代謝多型を示す主な薬物は、催眠薬、抗うつ薬、抗潰瘍薬等、様々であり、CYP2C19 が触媒作用を示す代謝反応とともに、Table 2 にまとめた。イミプラミンは主に CYP2C19 で N-脱メチル化され、デシプラミンを生じる経路と、主に CYP2D6 で 2 位の水酸化を受け 2-ヒドロキシイミプラミンを生じる経路がある。Koyama らは、東洋人について、メフェニトイインの4'-水酸化体の尿中排泄率から CYP2C19、メトプロロールの水酸化体排泄量による MR から CYP2D6 の代謝能の形質を調べた⁸⁷。このようなヒトにイミプラミンを投与後、各代謝物の尿中排泄率を調べた。CYP2D6 を欠損していないければ 2-ヒドロキシイミプラミンの尿中排泄は 30% にのぼるもののが、CYP2D6 欠損者では 5% 程度と低かった。また、CYP2D6 欠損だった被験者は全員が CYP2C19 の機能を有しており、そのようなヒトではイミプラミンは N-脱メチ

ル化の経路で代謝され、N-脱メチル化体の尿中排泄率が 4 % であった。CYP2D6 の EM ではイミプラミンの2-水酸化の経路が主であることと、N-脱メチル化体の2-水酸化も速いため、デシプラミンの尿中排泄率は 1 % 未満と低かった⁸⁷。以上は、薬物の代謝経路により、関与する代謝酵素が異なり、それぞれの酵素に遺伝的多型性が認められる場合の興味深い例といえる。

de Morais らは、本酵素の遺伝的多型の機構を調べるために、S-メフェニトイイン 4'-水酸化活性が低く、4'-位の R/S 比が高く、かつ CYP2C19 タンパクが欠損していると思われる肝より、CYP2C 分子種中、2C19 に特異的なプライマーを用いて cDNA 断片を得、エクソン 5 において異常なスプライシングが起こり、酵素機能の欠損という結果に至る変異を見い出した⁹⁴。日本人を含め、東洋における S-メフェニトイイン4'-水酸化の PM の頻度は 18-23% で、欧米人の 2-5% より際立って高かった^{64,67,69,95}。しかし、エクソン 5 の G → A 変異 (m1) のみでは、日本人及び白人における PM のヒトの 75-85% しか説明できなかつたため、あらかじめメフェニトイイン服用後の HI で PM と判明していたが、m1 変異を有していないヒトの遺伝子をさらに解析し、エクソン 4 上の新しい G → A 変異 (m2) を見い出した⁹⁶。この変異により、本来の翻訳領域の途中で終止コドンが生じ、211 のアミノ酸しかコードされない不完全なタンパクが生じる。日本人についてはこれらの変異でほとんどの PM の機構を説明できることから、東洋人を中心にしてこれら m1, m2 変異の頻度が調べられた⁹⁷⁻¹⁰⁰。日本人では m1, m2 変異の頻度はそれぞれ 22-29%, 12-13% と報告された⁹⁸⁻¹⁰⁰。白人の PM においては、ほとんどが m1 であり、m2 は見つかなかったため、未発見の多型があると想定され、最近、翻訳開始コドン ATG の A が G に置換した新しい変異 (m3) が PM の白人 2 名に見

Table 2. Relationship between metabolism of various therapeutic drugs and mephénytoin 4'-hydroxylation phenotype (CYP2C19)

薬効	薬物、代謝反応	メフェニトイイン (MP) 4'-水酸化形質との関連性	文献
催眠薬	メホバルビタール 4-水酸化	MP 代謝の EM, PM 間で尿中 4-ヒドロキシメホバルビタール の回収量に差異 : EM > PM	85
抗うつ薬	アミトリプチリン N-脱メチル化	MP の MR ^{a)} と、アミトリプチリン尿中回収率とが相関	42
	イミプラミン-脱メチル化	MP の EM, PM 間で AUC _{DMI} /AUC _{IMI} 比に差異 (EM > PM)	86, 87
	クロミプラミン脱-Methyl 化	MP の EM, PM 間でクロミプラミンの血清中のデメチル化 指標に差異 (EM _{MP} のデメチル化能 > PM _{MP} のデメチル化能)	88
向精神薬	ジアゼパムの脱メチル化	MP の EM, PM 間でジアゼパムのデメチル化 指標に差異 (EM _{MP} のデメチル化能 > PM _{MP} のデメチル化能)	89
抗マラリア薬	クロログアニド(プログアニル) 代謝活性化体シクログアニル生成	MP の 4'-水酸化の HI による MP の代謝形質とプログアニル 代謝形質(プログアニル/シクログアニル比)が一致	90
抗潰瘍薬	オメプラゾール 5-水酸化	MP の EM, PM 間でオメプラゾールの AUC に差異 (EM < PM) 5-ヒドロキシ体の AUC に差異 (EM > PM)	91-93

a) MR, metabolic ratio

い出された¹⁰¹⁾。これら2名は*m1/m3*のヘテロの遺伝子型をもつていてPMになっていることが明らかとなった¹⁰¹⁾。

3. 毒性物質の代謝酵素の遺伝的多型性と毒性発現の個体差

3-1. アルコール代謝とアルコール関連疾病

日本人には、アルコールに対する感受性が高いヒトが少なからぬ割合で存在するので、アルコール感受性の個体差については実体験を通じて身近なものといえるかもしれない。一般に、日本人集団のなかで、酒に弱く、顔面紅潮等の症状を呈しやすいヒトは、アセトアルデヒド脱水素反応のKM値の低い酵素(ALDH2)の欠損であると考えられている¹⁰²⁾。アルコールには、顔面紅潮や悪酔いをしやすいといった問題のみならず、アルコール中毒という深刻な問題がある。このような背景から、アルコールの解毒代謝経路に関与する酵素の多型と、アルコールに関連した好ましくない症状との関係はよく研究されてきた。ALDH2の欠損者を簡便に見い出すためのエタノールパッチテストが開発され¹⁰³⁾、日本人に多くみられるALDH2の欠損者は酒を多量に飲むことができず、アルコール中毒になる可能性は低いと考えられた。最近、Yoshidaらは、ヒトアルデヒド脱水素酵素遺伝子ファミリーに属する12のALDH遺伝子の情報を整理して総説した¹⁰⁴⁾。これらのうち、ヒトにおいてアセトアルデヒドの酸化に重要な役割を果たしているミトコンドリアに局在するALDH2の欠損者は、エクソン12のG→Aの変異を有し、コドン487のGluがLysに変化しており¹⁰⁵⁾、この変化にともない、酵素の機能が著しく損なわれていると報告された。中国人のアルコール関連疾病患者についての研究でも、大量飲酒者、すなわちアルコール中毒者には、機能が低下したALDH2をコードするALDH2*2 alleleを有するヒトの頻度が低く¹⁰⁶⁾、エタノールパッチテストなどを通じて考えられていた結果と一致していた。

3-2. ベンゼンの代謝に関する酵素の多型とベンゼンによる毒性発現の個体差

ベンゼンは1982年血液毒性、及び急性非リンパ球性白血病を惹起すると報告された¹⁰⁷⁾。また、最近、ベンゼン暴露量が高いヒトはMDS骨髄dysplastic syndromeや非ホジキンリンパ腫の危険度が高いとされた¹⁰⁸⁾。ベンゼンは、CYP2E1によるベンゼンオキシドへの酸化を通じてフェノールとなり、さらにCYP2E1によりヒドロキノンを生じる¹⁰⁹⁾。ベンゼンオキシドの生成が起こる際、ベンゼン環が開環してtrans-trans-ムコンアルデヒドが生じることもしされ¹¹⁰⁾、この代謝物はベンゼンの血液毒性発現に重要な役割を果たすことも示唆されている^{109,111)}。また、フェノールはカテコールへ、ヒドロキノンは1,2,4-ベンゼントリオールへとさらに酸化される。ヒドロキノン、カテコール、1,2,4-ベンゼントリオールはミエロペルオキシダーゼによりそれぞれ1,4-ベンゾキノン、1,2-ベンゾキノン、2-ヒドロキシ-1,4-ベンゾキノンとなり、これらが、ベンゼンの毒性代謝物であると考えられている¹⁰⁹⁾。また、毒性代謝物1,4-ベンゾキノン、1,2-ベンゾキノン、2-ヒドロキシ-1,4-ベンゾキノンは、NADPH-キノンオキシドレダクターゼ(NQO)により、より毒性が低いそれぞれのヒドロキノン体へと変換されると考えられている¹¹²⁾。これらのことから、CYP2E1活性が高く、かつNQO活性が低いヒトは、最もベンゼンを毒性代謝物へと変換しやすく、ベンゼンの血液毒性に対して高感受性を示すのではないかと想定しうる。このような考え方で、上海在住でベンゼン毒性によって白血球のカウントが3,500/ μ l以下となっている患者50名とベンゼン暴露歴がない健常者50名とが選ばれ、CYP2E1遺伝子型、酵素活性形質、およびNQO1遺伝子型についての症例対照研究が行われた¹¹³⁾。CYP2E1活性のin vivoの指標として、CYP2E1依存的代謝反応と考えられているクロルゾキサゾン-6-水酸化能が測定された。すなわち、250mgのクロルゾキサゾン服用後、8時間までの尿を集め、尿中の6-水酸化体排泄量を測定し、その排泄率を求めた。さらに、CYP2E1遺伝子の5'-上流領域のPstI, RsaI多型、およびNQOをコードするNQO1遺伝子上の⁶⁰⁹C→T変異がPCR-RFLP法で測定された。ここで、触れておかなくてはならないことは、CYP2E1遺伝子の5'-上流領域のPstI, RsaI多型とクロルゾキサゾン-6-水酸化能の形質との関連は認められなかったことと¹¹⁴⁾、NQO1変異型遺伝子(⁶⁰⁹T)でコードされるNQOはジクロロフェノールインドフェノールを基質としたときの酵素活性を失っていたこと¹¹⁵⁾である。したがって、CYP2E1遺伝子のPCR-RFLP解析の結果、CYP2E1遺伝子のPstI, RsaI多型の頻度につき、健常人と、ベンゼン暴露による血液毒性発現患者との間に差異が認められなかったのは当然のことかもしれない。それに対して、クロルゾキサゾンを服用させ、尿中の6-水酸化体排泄量をみる方法でCYP2E1活性を測定した場合、活性が高いヒトのベンゼン毒性に対する危険度は2.6倍、NQO1遺伝子に変異があって酵素活性が低下しているヒトは危険度が2.4倍高いことが明らかとなった¹¹³⁾。また、CYP2E1高活性と異型NQO1遺伝子(⁶⁰⁹T)の両方をあわせもつヒトのベンゼン毒性に対する危険度は7.8倍高かった¹¹³⁾。このようにして、ベンゼンの毒性代謝物の生成能、及び解毒能とベンゼン毒性発現のリスクの関係が報告された。

3-3. 有機リン系毒物サリンの解毒能の人種差
1995年3月に起こった狂信的カルト「オウム真理教」による「地下鉄サリン事件」で使われたサリンは有機リン系の神經毒であるが、ヒトはパラオキソナーゼ(paraoxonase)と呼ばれる有機リン剤を解毒する酵素を持っている。パラ

オキソナーゼにはコドン192番目が Arg であるものと, Gln であるものの 2 分子種（すなわち遺伝的多型）が存在し, サリンの加水分解活性は¹⁹²Arg のホモ接合体のヒトは 38 U/l でしかないのに対し, ¹⁹²Gln のホモ接合体のヒトは 355 U/l の高い活性を示すことが明らかにされた¹¹⁶. Yamasaki らは最近, *Arg192Gln* の多型の出現頻度を 326 名の日本人について調べ, 欧米人と比較したところ, サリンの解毒活性の低い¹⁹²Arg 接合体の出現頻度は日本人では 66 % もあったのに対し, 米国人では 31%, フランス人では 24%, フィンランド人では 26% でしかなかった¹¹⁷. これらの結果から, 日本人に低活性 paraoxonase allele (¹⁹²Arg) を有するヒトが多かったことで地下鉄サリン事件が 5,000 人以上の死傷者を出すほど悲惨なものになった可能性があると考察された¹¹⁷.

4. 薬物代謝酵素の欠損による疾病 (UDP- グルクロノシルトランスフェラーゼ欠損による Crigler-Najjar syndrome)

Crigler-Najjar syndrome (CN)¹¹⁸ とは, 劣性の遺伝性疾患で, ビリルビンの解毒代謝経路であるグルクロン酸抱合が著しく欠損しているために, 血中ビリルビンレベルが高く, kernicterus 等の重篤な症状をひきおこす疾病である. CN は, その臨床症状により, CN1 型, CN2 型, Gilbert's syndrome に分類されるが, ここでは最も重症な CN1 型の発症機構につき遺伝子レベルの解析結果を中心に述べる. ビリルビンのグルクロン酸抱合を触媒する酵素をコードする *UGT1* 遺伝子は特徴的な構造をもつ¹¹⁹. Fig. 4 に示すように, 基質との親和力の差異により基質異性の重要な要因となっていると考えられる領域をコードする数個のエクソン 1 が配置され, constant region であるエクソン 2-5 が続き, 各エクソン 1 は独立にスプライシングを受け, エクソン 2-5 に接続され mRNA が作られる. CN1 の患者とその家族に見い出される, ビリルビンのグルクロン酸抱合酵素タンパク (ビリルビンの主代謝酵素はエクソン 1A1 でコードされる) の欠損の原因となっていいる *UGT1* 遺伝子上の変異箇所は様々である¹²⁰. これまでに, エクソン 1A1 内の, 塩基欠損に伴う Phe の欠損, ¹⁷⁷Cys → Arg, ²⁷⁶Gly → Arg, エクソン 2 では, 本エクソン全体の

欠失, 13 塩基の欠失, ²⁹¹Ala → Val, ³⁰⁸Gly → Glu, ³³¹Gln → Stop, エクソン 3 内では ³³⁵Trp → Stop, ³⁴¹Arg → Stop, ³⁵⁷Gln → Stop (または Arg), ³⁶¹Gln → Stop, エクソン 4 内では ³⁶⁸Ala → Thr, 1 塩基挿入によるフレームシフト, ³⁷⁶Ser → Phe, ³⁸¹Ser → Arg, ³⁸⁷Pro → Arg, ⁴⁰¹Ala → Pro, エクソン 5 の ⁴³⁷Lys → Stop, が知られている. これらの変異を有する患者の血清中ビリルビン濃度は 340 μM を超え, CN1 との診断になる. 遺伝子構造からも予想されるように, エクソン 1A1 の変異の場合, エクソン 1A6 でコードされるフェノールのグルクロン酸抱合酵素 UGT1A6 にはほとんど障害はみられないが, エクソン 2 またはそれより下流のエクソン内にノンセンス変異等, 酵素機能を著しく損なう変異がおきている場合は, いくつかの分子種の発現が同時に欠損する. CN2 では, アミノ酸の置換を伴うが酵素活性はある程度残っているので, CN1 に比べると緩和な症状を呈すると考えられている¹²⁰.

5. 癌原物質の代謝に関する薬物代謝酵素の遺伝的多型性と発癌感受性

遺伝子毒性を示す癌原物質の多くは生体内で代謝活性化を受けて遺伝子傷害性を発揮し, 癌を生じさせると考えられている. また, 癌原物質は代謝活性化のみならず, 解毒代謝をも受けている場合が多い. 最近までに明らかにされているヒトの薬物代謝酵素の遺伝的多型性を考慮すると, 癌原物質の代謝活性化反応や, 解毒代謝反応を触媒する薬物代謝酵素活性の遺伝的多型性による個体差が, 個々のヒトについて癌原物質に対する感受性の決定因子になりうる可能性が想定される. このような観点から, 薬物代謝酵素の遺伝的多型性が, 種々の臓器癌に対するヒト個体レベルの感受性をどの程度規定しているかについて多くの研究がなされている. このような問題を考えるためににはどのような癌原物質がヒト化学発癌の原因物質で, それらはどのような代謝経路で代謝されるのか, また, どのような代謝酵素が役割を果たしているのかを考慮しなければならない. たとえば, タバコの煙や大気汚染物質に含まれるベンゾ[a]ピレンはヒト肺にも発現している CYP1A1 分子種により, 代謝活性化されることが知られている^{121,122}. 肉や魚の加熱調理の過程で生成するヘテロサイクリックアミンは肝の

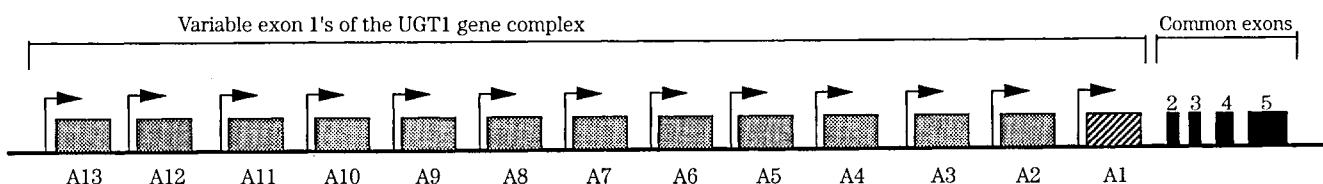


Fig. 4 Human *UGT1* gene structure¹²⁰
Schematic representation of structure of *UGT1* gene complex

CYP1A2 で N-水酸化され、ついで、アリルアミンアセチルトランスフェラーゼにより第2段階目の活性化反応である O-アセチル化を受け、標的組織に運ばれ、DNA に損傷を与える¹²³。あるいは、N-水酸化体が標的組織に運ばれ、組織のアリルアミンアセチルトランスフェラーゼにより O-アセチル化を受けると考えられている。種々の臓器癌の原因になりうると想定される物質の代謝酵素について知られている遺伝的多型性に着目して、多くの症例対照研究が行われた。その結果、CYP1A1 遺伝子の⁴⁶² Val 型、および CYP2D6 の EM と肺癌リスク、NAT2 形質と膀胱癌、結腸癌との関連、glutathione S-transferase M1(GSTM1) 欠損と肺癌リスクなどの関連を指摘した報告が出された。しかし、このような症例対照研究は、多施設で実施されたが、ある特定の形質や遺伝子型がある臓器癌に対してハイリスク（危険性が高い）であるという結果が、どこの施設でも一貫して得られているわけではなく、議論の余地が多い（具体例については最近の筆者の総説など^{124,125}を参照されたい）。

おわりに

INH や SMZ などのアリルアミン薬物による好ましくない副作用が発現しやすいヒトの存在がすでに1954年に報告され、その原因が薬物の解毒・排泄のための代謝経路である N-アセチル抱合能の欠損であることが1960年代には明らかにされた。その後、デブリソキン、スバルテイン、メフェニトイント代謝多型などの研究を通じてヒトの薬物代謝の遺伝的多型が薬効や、副作用の発現の個体差に影響する重要な因子であるとの認識が強まり、薬理遺伝学の研究が発展した。実験動物にも系統差があり、「ラット」という一動物種の中でも多型が認められることがあるが、ヒトは一つの人種のなかでも遺伝的に雑種であり、生体外異物の代謝に関与する酵素は生存に必須でないものが多いため、異型遺伝子、すなわち遺伝的多型性がヒト集団のなかに残っているのであろう。PCR 法の普及など、分子生物学的解析技術の進歩により、ヒト血液等の材料さえあれば、変異型遺伝子を見い出すことすらかなり容易になってきた。そのため、ある遺伝子の塩基配列の差異、すなわち多型の情報が先行して得られることが多いが、塩基配列の差異の情報からだけではその遺伝子によりコードされる酵素の機能の差異を予見することはできない。実際、現在知られている CYP2E1 遺伝子の5'-上流領域のPstI, RsaI 多型ではクロルゾキサゾン6-水酸化を指標にした CYP2E1 形質が説明できなかった。これは「ジェノタイプ（遺伝多型）とフェノタイプ（発現形質）」の対応がついていないということで、薬物代謝酵素の多型の研究においてよく遭遇する問題である。このような場合はクロルゾキサゾン服用後の尿中排泄率で CYP2E1 の形質を調べる

必要があり、*in vivo* 代謝の診断薬（プローブ薬）の開発の必要性はいささかも衰えていない。また、たとえば中国人に見い出された異型 CYP2D6 遺伝子 CYP2D6/Ch1 および 2 においても、酵素活性にはあまり影響していないと考えられるが、野生型遺伝子とは異なる塩基配列が見い出されている¹²⁶。このように考えると、本稿で取り上げた例は、薬物代謝酵素活性が顕著に損なわれるような遺伝子多型の「最初に注目すべき」重要な例なのだとと思われる。CYP2E1 以外にも、酵素タンパクの発現量の個体差や代謝多型が確かに認められるのに、多型の遺伝的機構がよくわかっていない CYP1A2 やグルタチオン S-トランスフェラーゼの一分子種 (GSTP1) のような例がある。分子生物学的解析法の粋を用いて、代謝酵素遺伝子上及び近傍の塩基配列をくまなく調べればそのような例についても遺伝的多型性の機構の解明ができるのか、これは薬理遺伝学研究の今後の課題である。

用語の説明

1. allele

対立遺伝子。常染色体は対になって存在しているが、染色体上の同じ座位にある一对の遺伝子を対立遺伝子という。ある（人種など）集団で大多数がもつ対立遺伝子を野生型（対立）遺伝子、野生型と異なる塩基配列をもつた遺伝子を変異（対立）遺伝子あるいは異型（対立）遺伝子という。野生型、変異（対立）遺伝子を問わず、まったく同質の一对の対立遺伝子をもつ個体をホモ接合体 (homozygotes) と呼ぶ。片方の遺伝子が野生型、もう片方が変異遺伝子をもつ個体をヘテロ接合体 (heterozygotes) と呼ぶ。

2. サザンプロット

特定の配列を有する DNA 断片を検出するために用いる方法。DNA 断片をアガロースゲル電気泳動により、分画し、ゲル中で変性させ、ナイロンメンブレンなどに転写して固定化する。この転写の操作をプロット、転写される分子が DNA の場合、サザンプロットと呼ばれる。(Southern という研究者により考案されたことに因む。)

3. ウエスタンプロット

試料中のタンパクを SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) により分画後、免疫染色で検出するために用いる方法。タンパクのプロットの場合ウエスタンプロット (Western blot) と呼ばれる。ちなみに、RNA のプロットの操作はノーザンプロット (Northern blot) と呼ばれる。西さん、北さんはそれぞれの考案者ではない、念のため。

4. エクソンとスプライシング

真核細胞のゲノム遺伝子のなかで、タンパクをコードする構造遺伝子の核酸塩基配列を調べると、アミノ酸に翻訳されるべき領域が、アミノ酸をコードする情報をもたない

塩基配列（イントロン）によって分断されているところがみられる。ゲノム遺伝子は、最初イントロンを含んだまま転写され、その後、イントロン部分が除去されることにより成熟mRNAとなる。構造遺伝子の塩基配列のうち、成熟mRNAに含まれる情報領域をエクソンと呼び、成熟mRNAができるための、イントロン部分の除去の過程をスプライシングと呼ぶ。

5. CYP2D6/Ch2

1994年Johansson¹²⁶⁾らにより報告された中国人に見い出された2つの変異CYP2D6遺伝子（CYP2D6/Ch1およびCYP2D6/Ch2）のうちの一つ。ChはChineseのChであり、Ch1, Ch2の2つの変異が報告された。これらはCYP2D6遺伝子の5'-上流領域を含めて野性型と比較して数か所の塩基配列の違いが認められる。酵素活性に影響を与える塩基置換はCh1では¹⁸⁸C→T（³⁴Pro→Ser）および⁴²⁶⁶G→C（⁴⁸⁶Ser→Thr）であった。Ch2では、¹⁸⁸C→T（³⁴Pro→Ser）の他、エクソン9がCYP2D7遺伝子のエクソン9に置換されており、これにより、6カ所のアミノ酸が野性型と変わっており、⁴²⁶⁶G→C（⁴⁸⁶Ser→Thr）と合わせ、計8個のアミノ酸の変換が認められた。

文 献

- 1) Evans, D. A. P., Manley, K. A. and McKusick, V. A.: *British Med. J.*, **2**, 485-491 (1960)
- 2) Sunahara, S., Urano, M. and Ogawa, M.: *Science*, **134**, 1530-1531 (1961)
- 3) Hughes, H. B., Biehl, J. P., Jones, A. P. and Schmidt, L. H.: *Am. Rev. Tubercul.*, **70**, 266-273 (1954)
- 4) Weber, W. W. and Hein, D. W.: *Pharmacol. Rev.*, **37**, 25-79 (1985)
- 5) Ozawa, S., Abu-Zeid, M., Kawakubo, Y., Toyama, S., Yamazoe, Y. and Kato, R.: *Carcinogenesis*, **11**, 2137-2144 (1990)
- 6) Nagata, K., Ozawa, S., Miyata, M., Shimada, M., Yamazoe, Y. and Kato, R.: *Pharmacogenetics*, **4**, 91-100 (1994)
- 7) Vatsis, K. P., Martell, K. J. and Weber, W. W.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 6333-6337 (1991)
- 8) Blum, M., Demierre, A., Grant, D. M., Heim, M. and Meyer, U. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 5237-5241 (1991)
- 9) Sim, E. and Hickman, D.: *Trends Pharmacol. Sci.*, **12**, 211-213 (1991)
- 10) Deguchi, T. J.: *Biol. Chem.*, **267**, 18140-18147 (1992)
- 11) Lin, H. J., Han, C. Y., Lin, B. K. and Hardy, S.: *Am. J. Hum. Genet.*, **52**, 827-834 (1993)
- 12) Abe, M., Deguchi, T. and Suzuki, T.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **191**, 811-816 (1993)
- 13) Blum, M., Grant, D. M., Demierre, A. and Meyer, U. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 9554-9557 (1989)
- 14) Sasaki, Y., Ohsako, S. and Deguchi, T.: *J. Biol. Chem.*, **266**, 13243-13250 (1991)
- 15) Doll, M. A. and Hein, D. W.: *Pharmacogenetics*, **5**, 247-251 (1995)
- 16) Hein, D. W.: *Mut. Res.*, **376**, 101-106 (1997)
- 17) Martell, K. J., Levy, G. N. and Weber, W. W.: *Molec. Pharmacol.*, **42**, 265-272 (1992)
- 18) Vatsis, K. P., Weber, W. W., Bell, D. A., Dupret, J.-M., Evans, D. A. P., Grant, D. M., Hein, D. W., Lin, H. J., Meyer, U. A., Relling, M. V., Sim, E., Suzuki, T. and Yamazoe, Y.: *Pharmacogenetics*, **5**, 1-17 (1995)
- 19) Kalow, W.: *Trends Pharmacol. Sci.*, **12**, 102-107 (1991)
- 20) Mahgoub, A., Idle, J. R., Dring, L. G., Lancaster, R. and Smith, R. L.: *Lancet*, **2**(8038), 584-586 (1977)
- 21) Eichelbaum, M., Spannbrucker, N., Steinecke, B., Dengler, H. J.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **16**, 183-187 (1979)
- 22) Bertilsson, L., Dengler, H. J., Eichelbaum, M. and Schulz, H.-U.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **17**, 153-155 (1980)
- 23) Lennard, M. S., Jackson, P. R., Freestone, S., Tucker, G. T., Ramsay, L. E. and Woods, H. F.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **17**, 679-685 (1984)
- 24) Raghuram, T. C., Koshakji, R. P., Wilkinson, G. R. and Wood, A. J.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **36**, 51-56 (1984)
- 25) Ward, S. A., Walle, T., Walle, U. K., Wilkinson, G. R. and Branch, R. A.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **45**, 72-79 (1989)
- 26) Anthony, L., Koshakji, R. and Wood, A. J. J.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **46**, 297-300 (1989)
- 27) Lennard, M. S., Silas, J. H., Freestone, S. and Trevethick, J.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **14**, 301-303 (1982)
- 28) Dayer, P., Leemann, T., Marmy, A. and Rosenthaler, J.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **28**, 149-153 (1985)
- 29) Dayer, P., Gasser, R., Gut, J., Kronbach, T., Robertz, G.-M., Eichelbaum, M. and Meyer, U.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **125**, 374-380 (1984)
- 30) Dayer, P., Balant, L., Kupfer, A., Stiberni, R. and Leemann, T.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **28**, 317-320 (1985)
- 31) Dayer, P., Leemann, T., Küpfer, A., Kronbach, T. and Meyer, U. A.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **31**, 313-318 (1986)
- 32) Pressacco, J., Muller, R. and Kalow, W.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **45**, 261-264 (1993)
- 33) McGourty, J. C., Silas, J. H., Fleming, J. J., McBurney, A. and Ward, J. W.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **38**, 409-413 (1985)
- 34) Lennard, M. S., Lewis, R. V., Brawn, L. A., Tucker, G. T., Ramsay, L. E., Jackson, P. R. and Woods, H. F.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **27**, 429-434 (1989)
- 35) Woosley, R. L., Roden, D. M., Dai, G., Wang, T., Altenbern, D., Oates, J. and Wilkinson, G. R.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **39**, 282-287 (1986)
- 36) Gross, A. S., Mikus, G., Fischer, C., Hertrampf, R., Gundert-Remy, U. and Eichelbaum, M.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **28**, 555-566 (1989)
- 37) Broly, F., Vandamme, N., Libersa, C. and Lhermitte, M.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **32**, 459-466 (1991)
- 38) Broly, F., Libersa, C., Lhermitte, M. and Dupuis, B.: *Biochem. Pharmacol.*, **39**, 1045-1053 (1990)
- 39) Funck-Brentano, C., Kroemer, H. K., Pavlou, H., Woosley, R. L. and Roden, D. M.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **27**, 435-444 (1989)

- 40) Bertilsson, L., Mellstöm, B., Sjöqvist, F., Mårtensson, B. and Åberg, M.: *Lancet*, **1**(8219), 560-561 (1981)
- 41) Bertilsson, L., Eichelbaum, M., Mellstöm, B., Säwe, J., Schulz, H.-U. and Sjöqvist, F.: *Life Sci.*, **27**, 1673-1677 (1980)
- 42) Breyer-Pfaff, U., Pfandl, B., Nill, K., Nusser, E., Monney, C., Jonzier-perey, M., Baettig, D. and Baumann, P.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **52**, 350-358 (1992)
- 43) Bertilsson, L. and Aberg-Wistedt, A.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **15**, 388-390 (1983)
- 44) Spina, E., Birgersson, C., von Bahr, C., Ericsson, Ö., Mellström, B., Steiner, E. and Sjöqvist, F.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **36**, 677-682 (1984)
- 45) Brøsen, K., Klysner, R., Gram, L. F., Otton, S. V., Bech, P. and Bertilsson, L.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **30**, 679-684 (1986)
- 46) Meyer, J. W., Woggon, B., Baumann, P. and Meyer, U. A.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **39**, 613-614 (1990)
- 47) von Bahr, C., Movin, G., Nordin, C., Lidén, A., Hammarlund-Udenaes, M., Hedberg, A., Ring, H. and Sjöqvist, F.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **49**, 234-240 (1991)
- 48) Tyndale, R. F., Kalow, W. and Inaba, T.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **31**, 655-660 (1991)
- 49) Yue, Q. Y., Svensson, J.-O., Alm, C., Sjöqvist, F. and Säwe, J.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **28**, 639-645 (1989)
- 50) Yue, Q. Y., Hasselström, J., Svensson, J. O. and Säwe, J.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **31**, 635-642 (1991)
- 51) Yue, Q. Y., Svensson, J. O., Sjöqvist, F. and Säwe, J.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **31**, 643-647 (1991)
- 52) Küpfer, A., Schmid, B., Preisig, R. and Pfaff, G.: *Lancet*, **2**(8401), 517-518 (1984)
- 53) Roy, S. D., Hawes, E. M., Hubbard, J. W., McKay, G. and Midha, K. K.: *Lancet*, **2**(8416), 1393 (1984)
- 54) Schmid, B., Bircher, J., Preisig, R. and Küpfer, A.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **38**, 618-624 (1985)
- 55) Feifel, N., Kucher, K., Fuchs, L., Jedrychowski, M., Schmidt, E., Antonin, K.-H., Bieck, P. R. and Gleiter, C. H.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **45**, 265-269 (1993)
- 56) Roy, S. D., Hawes, E. M., McKay, G., Korchinski, E. D. and Midha, K. K.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **38**, 128-133 (1985)
- 57) Otton, S. V., Schadel, M., Cheung, S. W., Kaplan, H. L., Bustos, U. E. and Sellers, E. M.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **54**, 463-472 (1993)
- 58) Rollins, D. E., Alván, G., Bertilsson, L., Gillette, J. R., Mellström, B., Sjöqvist, F. and Träskman, L.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **28**, 121-129 (1980)
- 59) Mellström, B., Bertilsson, L., Lou, Y.-C., Säwe, J. and Sjöqvist, F.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **34**, 516-520 (1983)
- 60) Schmider, J., Greenblatt, D. J., von Moltke, L. L., Harmatz, J. S. and Shader, R. I.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **275**, 592-597 (1995)
- 61) Ghahramani, S., Ellis, S. W., Lennard, M. S., Ramsay, L. E. and Tucker, G. T.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **43**, 137-144 (1997)
- 62) Venkatakrishnan, K., Greenblatt, D. J., von Moltke, L. L., Schmider, J., Harmatz, J. S. and Shader, R. I.: *J. Clin. Pharmacol.*, **38**, 112-121 (1998)
- 63) Kalow, W., Otton, S. V., Kadar, D., Endrenyi, L. and Inaba, T.: *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **58**, 1142-1144 (1980)
- 64) Nakamura, K., Goto, F., Ray, W. A., McAllister, C. B., Jacqz, E., Wilkinson, G. R. and Branch, R. A.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **38**, 402-408 (1985)
- 65) Alván, G., Bechtel, P., Iselius, L. and Gundert-Remy, U.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **39**, 533-537 (1990)
- 66) Lou, Y. C., Ying, L., Bertilsson, L. and Sjöqvist, F.: *Lancet*, **2**(8563), 852-853 (1987)
- 67) Horai, Y., Nakano, M., Ishizaki, T., Ishikawa, K., Zhou, H.-H., Zhou, B.-J., Liao, C.-L. and Zhang, L.-M.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **46**, 198-207 (1989)
- 68) Sohn, D.-R., Shin, S.-G., Park, C.-W., Kusaka, M., Chiba, K. and Ishizaki, T.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **32**, 504-507 (1991)
- 69) Bertilsson, L., Lou, Y.-Q., Du, Y.-L., Liu, Y., Kuang, T.-Y., Liao, X.-M., Wang, K.-Y., Reviriego, J., Iselius, L. and Sjöqvist, F.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **51**, 388-397 (1992)
- 70) Gaedigk, A., Blum, M., Gaedigk, R., Eichelbaum, M. and Meyer, U. A.: *Am. J. Hum. Genet.*, **48**, 943-950 (1991)
- 71) Daly, A. K., Brockmöller, J., Broly, F., Eichelbaum, M., Evans, W. E., Gonzalez, F. J., Huarig, J.-D., Idle, J. R., Ingelman-Sundberg, M., Ishizaki, T., Jacqz-Aigrain, E., Meyer, U. A., Nebert, D. W., Steen, V. M., Wolf C. R. and Zanger, U. M.: *Pharmacogenetics*, **6**, 193-201 (1996)
- 72) Yokoi, T., Kosaka, Y., Chida, M., Chiba, K., Nakamura, H., Ishizaki, T., Kinoshita, M., Sato, K., Gonzalez, F. J. and Kamataki, T.: *Pharmacogenetics*, **6**, 395-401 (1996)
- 73) Yokoi, T. and Kamataki, T.: *Seikagaku*, **69**, 1196-1199 (1997)
- 74) Küpfer, A. and Preisig, R.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **26**, 753-759 (1984)
- 75) Wedlund, P. J., Aslanian, W. S., McAllister, C. B., Wilkinson, G. R. and Branch, R. A.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **36**, 773-780 (1984)
- 76) Meier, U. T., Dayer, P., Malè, P.-J., Kronbach, T. and Meyer, U. A.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **38**, 488-494 (1985)
- 77) Shimada, T., Misono, K. S. and Guengerich, F. P.: *J. Biol. Chem.*, **261**, 909-921 (1986)
- 78) Wrighton, S. A., Thomas, P. E., Willis, P., Maines, S. L., Watkins, P. B., Levin, W. and Guzelian, P. S.: *J. Clin. Invest.*, **80**, 1017-1022 (1987)
- 79) Yasumori, T., Kawano, S., Nagata, K., Shimada, M., Yamazoe, Y. and Kato, R.: *J. Biochem.*, **102**, 1075-1082 (1987)
- 80) Kimura, S., Pastewka, J., Gelboin, H. V. and Gonzalez, F. J.: *Nucleic Acids Res.*, **15**, 10053-10054 (1987)
- 81) Meehan, R. R., Gosden, J. R., Rout, D., Hastie, N. D., Friedberg, T., Adesnik, M., Buchland, R., van Heyningen, V., Fletcher, J., Spurr, N. K., Sweeney, J. and Wolf, C. R.: *Am. J. Hum. Genet.*, **42**, 26-37 (1988)
- 82) Romkes, M., Faletto, M. B., Blaisdell, J. A., Raucy, J. L. and Goldstein, J. A.: *Biochemistry*, **30**, 3247-3255 (1991)
- 83) Wrighton, S. A., Stevens, J. C., Becker, G. W. and VandenBranden, M.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **306**, 240-245 (1993)
- 84) Goldstein, J. A., Faletto, M. B., Romkes-Sparks, M.,

- Sullivan, T., Kitareewan, S., Raucy, J. L., Lasker, J. M. and Ghanayem, B. I.: *Biochemistry*, **33**, 1743-1752 (1994)
- 85) Küpfer, A. and Branch, R. A.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **38**, 414-418 (1985)
- 86) Skjelbo, E., Brøsen, K., Hallas, J. and Gram, L. F.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **49**, 18-23 (1991)
- 87) Koyama, E., Sohn, D-R., Shin, S-G., Chiba, K., Shin, J.-G., Kim, Y-H., Echizen, H. and Ishizaki, T.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **271**, 860-867 (1994)
- 88) Nielsen, K. K., Brøsen, K., Hansen, M. G. J. and Gram, L. F.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **55**, 518-527 (1994)
- 89) Bertilsson, L., Henthorn, T. K., Sanz, E., Tybring, G., Säwe, J. E. and Villén, T.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **45**, 348-355 (1989)
- 90) Funck-Brentano, C., Bosco, O., Jacqz-Aigrain, E., Keundjian, A. and Jaillon, P.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **51**, 507-512 (1992)
- 91) Andersson, T., Regårdh, C. G., Lou, Y. C., Zhang, Y., Dahl, M. L. and Bertilsson, L.: *Pharmacogenetics*, **2**, 25-31 (1992)
- 92) Sohn, D. R., Kobayashi, K., Chiba, K., Lee, K. H., Shin, S. G. and Ishizaki, T.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **262**, 1195-1202 (1992)
- 93) Ieiri, I., Kubota, T., Urae, A., Kimura, M., Wada, Y., Mamiya, K., Yoshioka, S., Irie, S., Amamoto, T., Nakamura, K., Nakano, S. and Higuchi, S.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **59**, 647-653 (1996)
- 94) de Morais, S. M. F., Wilkinson, G. R., Blaisdell, J., Nakamura, K., Meyer, U. A. and Goldstein, J. A.: *J. Biol. Chem.*, **269**, 15419-15422 (1994)
- 95) Sohn, D. R., Kusaka, M., Ishizaki, T., Shin, S. G., Jang, I. J., Shin, J. G. and Chiba, K.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **52**, 160-169 (1992)
- 96) de Morais, S. M. F., Wilkinson, G. R., Blaisdell, J., Meyer, U. A., Nakamura, K. and Goldstein, J. A.: *Molec. Pharmacol.*, **46**, 594-598 (1994)
- 97) de Morais, S. M. F., Goldstein, J. A., Xie, H.-G., Huang, S.-L., Lu, Y.-Q., Xia, H., Xiao, Z.-S., Ile, N. and Zhou, H.-H.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **58**, 404-411 (1995)
- 98) Takakubo, F., Kuwano, A. and Kondo, I.: *Pharmacogenetics*, **6**, 265-267 (1996)
- 99) Kubota, T., Chiba, K. and Ishizaki, T.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **60**, 661-666 (1996)
- 100) Tsuneoka, Y., Fukushima, K., Matsuo, Y., Ichikawa, Y. and Watanabe, Y.: *Life Sci.*, **59**, 1711-1715 (1996)
- 101) Ferguson, R. J., de Morais, S. M. F., Benhamou, S., Bouchardy, C., Blaisdell, J., Ibeanu, G., Wilkinson, G. R., Sarich, T. C., Wright, J. M., Dayer, P. and Goldstein, J. A.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **284**, 356-361 (1998)
- 102) Harada, S., Agarwal, D. P. and Goedde, H. W.: *Lancet*, **2**(8253), 982 (1981)
- 103) Higuchi, S., Muramatsu, T., Saito, M., Sasao, M., Maruyama, K. and Kono, H.: *Lancet*, **1**(8533), 629 (1987)
- 104) Yoshida, A., Rzhetsky, A., Hsu, L. C. and Chang, C.: *Eur. J. Biochem.*, **251**, 549-557 (1998)
- 105) Yoshida, A.: *Alcohol Alcohol.*, **29**, 693-696 (1991)
- 106) Chao, Y-C., Young, T-H., Tang, H-S. and Hsu, C-T.: *Hepatology*, **25**, 112-117 (1997)
- 107) IARC.: "IARC Scientific Publ." No. 29, IARC, Lyon, France, pp. 93-148 (1981)
- 108) Hayes, R. B., Yin, S-N., Dosemeci, M., Li, G-L., Wacholder, S., Travis, L. B., Li, C-Y., Rothman, N., Hoover, R. N., Linet, M. S. and the Benzen Study Group: *J. Natl. Cancer Inst.*, **89**, 1065-1071 (1997)
- 109) Snyder, R. and Hedli, C. C.: *Environ. Health Perspect.*, **104** (Suppl. 6), 1165-1171 (1996)
- 110) Latriano, L., Goldstein, B. D. and Witz, G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 8356-8360 (1986)
- 111) Ho, T-Y. and Witz, G.: *Carcinogenesis*, **18**, 739-744 (1997)
- 112) Ross, D.: *Eur. J. Hematol.*, **60** (Suppl.), 111-118 (1996)
- 113) Rothman, N., Smith, M. T., Hayes, R. B., Traver, R. D., Hoener, B., Campleman, S., Li, G.-L., Dosemeci, M., Linet, M., Zhang, L., Xi, L., Wacholder, S., Lu, W., Meyer, K. B., Titenko-Holland, N., Stewart, J. T., Yin, S. and Ross, D.: *Cancer Res.*, **57**, 2839-2842 (1997)
- 114) Carriere, V., Berthou, F., Baird, S., Belloc, C., Beaune, P. and de Waziers, I.: *Pharmacogenetics*, **6**, 203-211 (1996)
- 115) Traver, R. D., Horikoshi, T., Daneberg, K. D., Stadlbauer, T. H., Danenberg, P. V., Ross, D. and Gibson, N. W.: *Cancer Res.*, **52**, 797-802 (1992)
- 116) Davies, H. G., Richter, R. J., Keifer, M., Broomfield, C. A., Sowalla, J. and Furlong, C. E.: *Nat. Genet.*, **14**, 334-336 (1996)
- 117) Yamasaki, Y., Sakamoto, K., Watada, H., Kajimoto, Y. and Hori, M.: *Hum. Genet.*, **101**, 67-68 (1997)
- 118) Crigler, J. F. Jr. and Najjar, V. A.: *Pediatrics*, **10**, 169-179 (1952)
- 119) Mackenzie, P. I., Owens, I. S., Burchell, B., Bock, K. W., Bairoch, A., Bélanger, A., Fournel-Gigleux, S., Green, M., Hum, D. W., Iyanagi, T., Lancet, D., Louisot, P., Magdalou, J., Chowdhury, J. R., Ritter, J. K., Schachter, H., Tephly, T. R., Tipton, K. F. and Nebert, D. W.: *Pharmacogenetics*, **7**, 255-269 (1997)
- 120) Clarke, D. J., Moghrabi, N., Monaghan, G., Cassidy, A., Boxer, M., Hume, R., Burchell, B.: *Clin. Chimica Acta*, **266**, 63-74 (1997)
- 121) Shimada, T., Martin, M. V., Pruess-Schwartz, D., Marnett, L. J. and Guengerich, F. P.: *Cancer Res.*, **49**, 6304-6312 (1989)
- 122) McManus, M. E., Burgess, W. M., Veronese, M. E., Huggett, A., Quattrochi, L. C. and Tukey, R. H.: *Cancer Res.*, **50**, 3367-3376 (1990)
- 123) Kato, R. and Yamazoe, Y.: *Jpn. J. Cancer Res.*, **78**, 297-311 (1987)
- 124) Daly, A. K.: *Environ. Health Perspect.*, **102** (Suppl 9), 55-61 (1994)
- 125) Ozawa, S.: *Yakugaku zasshi*, **117**, 895-909 (1997)
- 126) Johansson, I., Oscarson, M., Yue, Q-Y., Bertilsson, L., Sjöqvist, F. and Ingelman-Sundberg, M.: *Molec. Pharmacol.*, **46**, 452-459 (1994)

緑茶飲用による肝障害の抑制効果について

長谷川隆一[#]・武木田 薫・佐井君江・梅村隆志

谷村顕雄*・井上 達・黒川雄二

Inhibitory Effect of Green Tea Infusion on Hepatotoxicity

Ryuichi Hasegawa[#], Kaori Takekida, Kimie Sai, Takashi Umemura,
Akio Tanimura*, Tohru Inoue and Yuji Kurokawa

We first showed a drinking of green tea infusion can inhibit chemically induced possible hepatic tissue damages in animal experiments, although it has been shown that oral administration of green tea extract can inhibit some organ toxicities. In this review, our data are summarized and a possibility of the effectiveness in humans is discussed. Male rats or mice in the series of experiments were given 2% green tea infusion as a drinking water 1 or 2 weeks before the chemical treatment and until the termination. In the study of rats, green tea effectively inhibited the hepatotoxicity induced by a single intraperitoneal injection or by repeated gavage administration of 2-nitropropane, and a single intraperitoneal injection of galactosamine. However, any possible effects were not observed when green tea was given, on the hepatotoxicity by a single or repeated gavage administration of carbon tetrachloride. In the study of mice, green tea inhibited the hepatotoxicity induced by administration of pentachlorophenol in diet. In conclusion, 2% green tea infusion can prevent the hepatotoxicity by at least some chemicals in experimental animals. It is inferred that the amount of green tea taken by animals in this experiment might be equivalent to the daily intake in Japanese general population, by calculation based on the content of epigallocatechin gallate, a major component of green tea, and the species differences between experimental animals and humans, suggesting the preventive effectiveness in humans.

Keywords: green tea infusion, chemically induced hepatotoxicity, chemoprevention

はじめに

緑茶 (*Camellia sinesis*) は日本人が日常習慣的に飲用している嗜好飲料の一つであるが、近年、緑茶あるいはその主成分であるカテキン類はヒトの健康維持に有益な作用のあることが明らかになってきた。その主なものは、*in vitro* で化学物質によるサルモネラ菌の復帰突然変異原性の抑制作用¹⁾、化学物質による酸化の抑制作用²⁾、あるいは抗菌作用³⁾が、また、*in vivo* では、各種の発がん物質、例えばアフラトキシン B1⁴⁾ やニトロサミン⁵⁾による肝臓がん、あるいはジメチルヒドログリジン⁶⁾による大腸がんなどの抑制作用が示されている。さらに、抗アレルギー作用⁷⁾、血清コレステロール低下作用⁸⁾、血圧低下作用⁹⁾など非常に広範な有益作用が認められている。一方、臓器機能障害

に対する紅茶あるいは緑茶の効果として、アスピリンおよびインドメタシンなどによる胃潰瘍¹⁰⁾、エチオニンによる急性腎炎¹¹⁾、腎部分切除による腎障害¹²⁾、ストレプトゾトシンによる糖尿病の誘発¹³⁾に対する抑制効果が報告された。

著者らは以前から酸化ストレスを介する環境発がん物質の発がん機構解明の目的で、発がん標的臓器中の酸化的 DNA 損傷を 8-ヒドロキシデオキシグアノシンを指標に解析すると共に、それに対する緑茶飲用の効果を検討してきた¹⁴⁻¹⁶⁾。これらの実験で、ヒトが日常飲用している 2% 緑茶浸出液で、肝発がん物質による酸化的 DNA 損傷が抑制されたこと¹⁷⁾から、肝毒性に対しても同様に抑制効果が期待された。そこで、本研究では、数種の化学物質による肝障害誘発に対する緑茶の前飲用による抑制効果について解析した。なお、本実験で動物が前飲用または併用飲用した緑茶の量が、ヒトの場合どの程度の量に相当するかを推定した。

1. 緑茶浸出液の調製および成分

緑茶はその製造方法から、煎茶、玉露、番茶、抹茶など

* 昭和女子大学・生活機構研究科

[#] To whom correspondence should be addressed: Ryuichi Hasegawa; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-9878; Fax: 03-3707-6950; E-mail: hasegawa@nihs.go.jp

Table 1. Concentration of components in 2% green tea infusion (Tea) and crude catechin extract solution (Ext) in this experiment, and practical green tea infusion in human use (Pract)

Components	Tea (μ g/ml)	Ext (μ g/ml)	Ext/Tea (%)	Pract ^a (μ g/ml)
EGC	469 ± 24.8	342 ± 14.2	69.0	299
Caf	397 ± 50.2	23 ± 1.8	5.7	313
+C	24 ± 2.3	20 ± 1.1	85.6	13.4
EGCG	796 ± 93.3	774 ± 12.3	97.2	412
EC	152 ± 12.8	123 ± 9.6	80.9	93
ECG	131 ± 16.2	128 ± 7.5	97.7	69
Carbohydrate	1.28 ± 0.03mg/ml	0.124 ± 0.005mg/ml	9.7	1.09mg/ml
Protein	402 ± 16.5	341 ± 35.2	84.8	289
Vitamin C	190 ± 27.0	178 ± 23.5	93.7	166

a: prepared by adding 100 ml of boiling water to 2 g of green tea leaves for 2 min.

EGC; Epigallocatechin, Caf; Caffeine, +C; (+)Catechin,
EGCG; Epigallocatechin gallate, EC; Epicatechin, ECG; Epicatechin gallate

様々な種類があるが、日本で一般に飲用されているものは煎茶である。本実験では市販の中クラスの煎茶を使用したが、一般に、カテキン含量は値段の違いとは関連していないといわれている。緑茶浸出液とは茶葉を熱湯で浸出した液で、通常ヒトが飲用している緑茶であり、緑茶抽出物とは、凍結乾燥物またはそれから抽出したポリフェノール類を主成分としたものである。この実験での緑茶浸出液は、750 ml の沸騰直後の湯に15 g の茶葉を入れて30分放置し、その遠心上清である。また、緑茶浸出液からクロロホルム可溶性画分を除き、さらに酢酸エチル可溶性画分を分離し、蒸発乾固残分を元の量の蒸留水に溶解して緑茶抽出液とした。なお、日本人が通常飲用している緑茶浸出液としては、2 %緑茶を2 分間浸出したものを調製した。

緑茶浸出液の成分は Table 1 に示すように、カテキン類の中ではエピガロカテキンガレート (EGCG) が最も多く、約800 μ g/ml であり¹⁷、既報とほぼ同様の結果であった¹⁸。また、抽出処理により、カフェインおよび糖類は約10分の1となったが、そのほかの成分については顕著な減少は見られなかった。金属類はこの処理で完全に除去された。なお、日本人が日常飲用している緑茶浸出液中のEGCG 含量は約400 μ g/ml であった。

2. 化学物質による肝毒性発現の緑茶による防御効果

ここで対象とした肝毒性物質は、すでに著者らが他の目的の実験で肝臓が標的臓器であることを明らかとしている2-ニトロプロパンおよびベンタクロロフェノール、また、一般的に肝毒性物質として汎用されているガラクトサミン

および四塩化炭素を用いた。データの解析は、F-検定により分散比を求めた後、Student のt-test または Cochran のt-test により、危険率 0.05% または0.01%での有意差を検定することにより行った。

a. 2-ニトロプロパン

2-ニトロプロパンは工業用溶剤として使用されているが、全ての変異原性試験で陽性を示し、ラットの実験では経口投与、吸入曝露の何れの投与経路でも高頻度で肝細胞癌を引き起こす^{19,20}。2-ニトロプロパンはその代謝過程でラジカルを生じることから²¹、それが肝細胞壊死などの肝障害を引き起こすと推定される。

2-ニトロプロパン (100 mg/kg) の投与後、短時間に肝毒性の生じることを確認後、緑茶前飲用の効果を検討した¹⁷。F-344 雄性ラットに2週間緑茶浸出液あるいは緑茶抽出液を飲ませた後、2-ニトロプロパンを0.1% tween 含有滅菌生理食塩水に溶解後単回腹腔内投与したときの結果の一部を Fig. 1 に示す。投与 6 時間後の肝臓の過酸化脂質レベルおよび血清トランスアミラーゼは顕著に増加し、緑茶浸出液はこれらを有意に減少させた。緑茶抽出液は、やや緑茶浸出液よりは弱いものの、同様の効果が認められたので、以後の実験は緑茶浸出液（以下緑茶）のみを用いて行った。2-ニトロプロパン投与15時間後では、これらの肝毒性指標はさらに顕著に増加したのに対して、緑茶投与群ではこれを明確に抑制した。病理組織学的には、投与15時間後に小葉中心性に肝細胞の腫脹および変性が顕著に認められたが、緑茶の前飲用群では、肝細胞腫脹は依然観察されるものの、明らかな変性像は認められなかった。

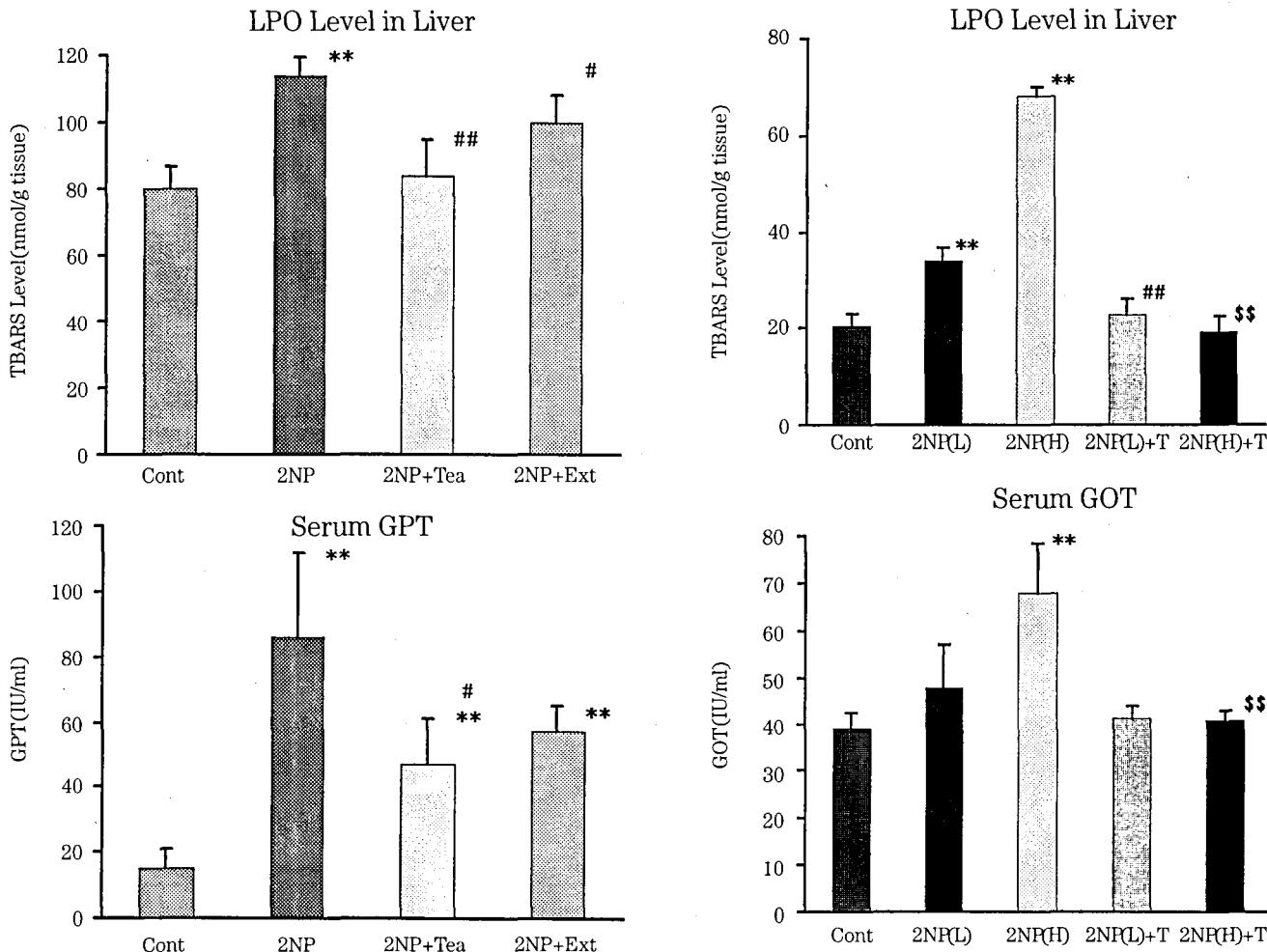


Fig. 1 Effect of green tea on lipid peroxide (LPO) level in liver and serum GPT of male rats at 6 hrs after a single peritoneal administration of 2-nitropropane¹⁷⁾

Animals were given 2% green tea infusion (Tea) or the extract solution (Ext) 2 weeks before 2-nitropropane (2NP) treatment and until the termination of experiment. Analysis was conducted 6 hrs after a single IP administration of 2-nitropropane (100 mg/kg).

**: p < 0.01 vs Cont, #: p < 0.05 vs 2NP, ##: p < 0.01 vs 2NP

単回投与の実験で、2-ニトロプロパンにより顕著な肝臓のグリコーゲンレベルの減少、ならびに緑茶によるその減少抑制効果が認められたので¹⁷⁾、肝毒性発現機構解明の一環として、肝ミトコンドリアの呼吸機能の解析を行った²²⁾。2-ニトロプロパンを投与したラットから単離した肝ミトコンドリアの呼吸調節率は、有意に低い値を示したが、その程度は肝グリコーゲンの減少および乳酸の蓄積に比べて軽度で、加えてNOの産生を示唆する肝亜硝酸性窒素および硝酸性窒素の顕著な増加が認められた。一方、NOは低濃度（生理的濃度）下で、単離ミトコンドリアの呼吸を強く抑制することが報告されている²³⁾。したがって、in

Fig. 2 Effect of green tea on lipid peroxide (LPO) level in liver and serum GOT of male rats after 2 weeks oral administration of 2-nitropropane²⁴⁾

Animals were given 2% green tea infusion (T) 1 week before onset of 2-nitropropane (2NP) treatment and until termination of experiment. Analysis was conducted 24 hrs after the last treatment of 2 weeks oral administration of 60 mg/kg (L) or 120 mg/kg (H) 2-nitropropane.

**: p < 0.01 vs Cont, ##: p < 0.01 vs 2NP(L), \$\$: p < 0.01 vs 2NP(H)

vivoでも、2-ニトロプロパンの代謝物であるNOがミトコンドリアの呼吸抑制を引き起こしている可能性が推定された。また、緑茶を前飲用させた実験では²²⁾、測定した項目全般にわたって防御効果が認められたことから、緑茶成分によるラジカルトラッピング作用が発揮されたと考えられた。

反復経口投与の実験では、緑茶を1週間飲ませたのち、さらに緑茶を飲ませながら2-ニトロプロパンを60 mgおよび最大耐量である120 mg/kg/dayで10日間強制経口投与した²⁴⁾。その結果、肝臓の過酸化脂質レベルおよび血清トランスアミラーゼは用量依存的に増加し、緑茶はどちらも対照群のレベルまで抑制した（Fig. 2）。なお、病理組織学的検査においても顕著な抑制効果が認められた。

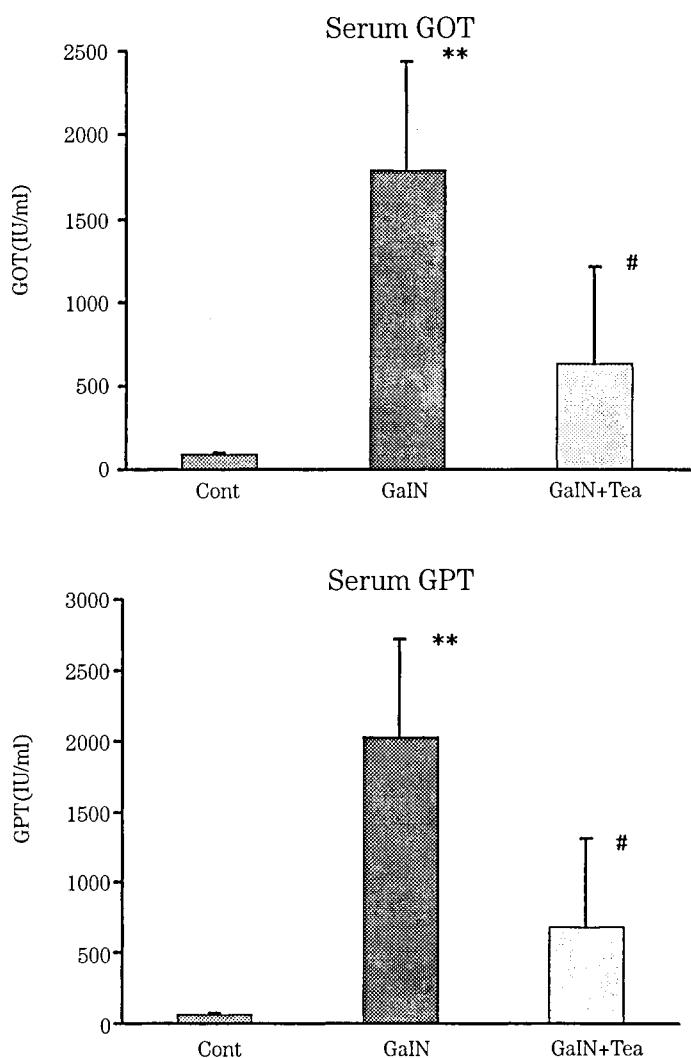


Fig. 3 Effect of green tea on serum GOT and GPT of male rats at 24 hrs after a single peritoneal administration of galactosamine²⁹

Animals were given 2% green tea infusion 2 weeks before galactosamine (GaIN) treatment and until termination of experiment. Analysis was conducted 24 hrs after a single intraperitoneal administration of 500 mg/kg galactosamine.

**: p < 0.01 vs Cont, #: p < 0.05 vs GaIN

b. ガラクトサミン

ガラクトサミンは生体成分であるが、過剰投与により、ヒトのウイルス肝炎に類似した病理組織学的变化を示し、劇症肝炎様の病態を示すことから、ラットなどの実験動物で肝炎の病態モデルとして用いられている²⁵。肝毒性の発現機構として、肝細胞内でガラクトサミンが UDP-グルコースと反応して UDP-ガラクトサミンを生成するため、UTP の減少、RNA の合成低下、タンパク質合成の阻害が起き、肝細胞膜障害から細胞壊死を引き起こすと考えられている²⁶。また、そのほかに、毒性発現に活性酸素が関与することも推察されている²⁷。すでに、緑茶抽出物の強制

経口投与では、ガラクトサミンによるラットの血清肝毒性指標の増加が抑制されることが報告されている²⁸。

本実験では、日常的な緑茶飲用によっても、同様の抑制効果が期待できるかどうかを検討する目的で、F-344 雄性ラットに 2 週間緑茶を飲ませた後、ガラクトサミンを滅菌生理食塩水に溶解後 500 mg/kg で単回腹腔内投与し、24 時間に解析した²⁹。Fig. 3 に示したように、血清 GOT および GPT はそれぞれおよそ 20 倍に増加し、緑茶はその増加を約 70% 抑制した。肝過酸化脂質レベルも約 60% 増加したが、それに対しては緑茶の影響は見られなかった。病理組織学的には、ガラクトサミンの投与により著しい肝細胞腫脹が観察され、さらに、炎症性細胞浸潤を伴った肝細胞の巣状壊死が認められた。この変性、壊死像は肝全体にび漫性に観察された。一方、緑茶の前投与により依然、肝細胞の腫脅が高度に認められるものの、変性、壊死した肝細胞は僅かに認められるのみで、緑茶による抑制効果は顕著であった。

c. 四塩化炭素

四塩化炭素はその毒性発現に際して過酸化脂質レベルの増加を伴うことが報告されている³⁰。そこで、緑茶がこの過酸化脂質の増加を抑えることにより、肝毒性を抑制する可能性があると推定して実験を行った。

F-344 雄性ラットに 1 週間緑茶を飲ませたのち、コーン油に溶解した四塩化炭素を 200 および 800 mg/kg で強制経口投与し、その 24 時間に採血・解剖を行った²⁹。その結果、Table 2 に示したように、投与量に依存した血清 GOT, GPT などの肝毒性パラメーターの増加は認められたが、緑茶の効果は認められなかった。さらに、ラットに 2 週間緑茶を飲ませ、一晩絶食後、500 mg/kg の四塩化炭素を強制経口投与し、24 時間に分析した実験でも、同様に GOT, GPT, LDH などが著しく増加したが、緑茶飲用の影響は認められなかった。また、肝過酸化脂質レベルは四塩化炭素により増加が認められたが、緑茶による影響は認められなかった。病理組織学的検査でも、四塩化炭素により広範な肝細胞変性が認められたが、緑茶の効果は認められなかった。

四塩化炭素の低用量反復投与の実験では、緑茶を 1 週間飲ませたのち、さらに緑茶を飲ませながら四塩化炭素を 100 mg/kg/day で 2 週間強制経口投与した²⁹。その結果、軽度の GOT, GPT の増加は認められたものの、単回投与の実験と同様に緑茶の抑制効果は全く認められなかった (Table 3)。また、肝臓の病理組織学的検査でも、同様に緑茶の効果は認められなかった。

四塩化炭素の肝毒性に対して、methylenedioxybenzenes およびその類似物質による CYP2E1 の抑制³¹, ubiquinol³² あるいは schisandrin B³³ による細胞内還元系の増加, rifampicin³⁴ による直接的抗酸化、クッパー細胞活性化の

Table 2. Blood biochemistry of male rats at 24 hours after single oral administration of carbon tetrachloride (200 or 800 mg/kg) and the effect of green tea a

Group Animal NO.	Control 4	CCl ₄ -200 4	CCl ₄ -800 4	CCl ₄ -200+Tea 4	CCl ₄ -800+Tea 4
TP	g/dl	5.87±0.18	5.90±0.12	5.93±0.17	6.03±0.19
Alb	g/dl	4.04±0.17	4.08±0.16	4.01±0.11	4.19±0.16
A/G		2.23±0.29	2.26±0.17	2.11±0.15	2.28±0.15
BUN	mg/dl	19.5±1.9	22.4±1.0 *	22.9±1.0 *	23.3±2.3 *
CRN	mg/dl	0.27±0.02	0.27±0.01	0.27±0.02	0.26±0.02
Glc	mg/dl	102±8	100±3	113±4 *	96±5
PL	mg/dl	140±13	104±11 **	94±5 **	106±11 **
TG	mg/dl	110±29	34±8 *	23±8 **	41±12 **
TCho	mg/dl	74±4	49±8 **	40±3 **	49±5 **
AIP	mU/ml	834±35	969±52 **	1012±78 **	962±14 **
GPT	mU/ml	82±9	127±27 *	1058±587 *	189±24 **
GOT	mU/ml	100±12	137±12 **	868±365 *	196±36 **
LAP	mU/ml	48±2	51±2 *	63±6 **	54±2 **
LDH	mU/ml	502±311	304±78	1546±697 *	864±652
					1681±949

*: Significant differences against Control (p<0.05)

**: Significant differences against Control (p<0.01)

a: Green tea was given as a drinking water 1 week before and until termination.

Table 3. Effect of green tea on blood biochemical parameters of male rats after oral administration of carbon tetrachloride (100 mg/kg/day) for 2 weeks

Group Animal NO.	Control 5	CCl ₄ -100/day 5	CCl ₄ -100+Tea/day 6
TP	g/dl	5.95±0.14	6.21±0.19 *
Alb	g/dl	3.71±0.12	3.90±0.14 *
A/G		1.66±0.08	1.69±0.10
BUN	mg/dl	14.5±1.6	16.5±1.9
CRN	mg/dl	0.26±0.02	0.26±0.02
Glc	mg/dl	143±11	138±9
PL	mg/dl	135±7	112±6 **
TG	mg/dl	105±10	62±28 *
TCho	mg/dl	54±3	43±2 **
AIP	mU/ml	800±62	969±90 **
GPT	mU/ml	53±4	200±90 *
GOT	mU/ml	72±5	158±60 *
LAP	mU/ml	43±2	48±5
LDH	mU/ml	407±216	412±87
			606±402

*: Significant differences against Control (p<0.05)

**: Significant differences against Control (p<0.01)

a: Green tea was given as a drinking water 1 week before and until termination.

抑制^{35,36)}などの機構による抑制効果の報告があるが、 α -tocopherol hemisuccinate および cholesterol hemisuccinate³⁴⁾あるいは metallothionein 誘導物質³⁵⁾などによる抑制機構は明らかではない。一方で、ビタミン E³⁹⁾や BHT³³⁾などの抗酸化物質によって、肝毒性の抑制効果が見られなかったとの報告もある。

カテキン類には、四塩化炭素から產生されたラジカルに対する直接的な抗酸化作用あるいは肝細胞内の還元系の増加作用があると推定されるが、本実験では飲水による持続投与のため、四塩化炭素からのラジカル消去を行うのに十分な肝カテキン濃度に達しなかったものと推定される。

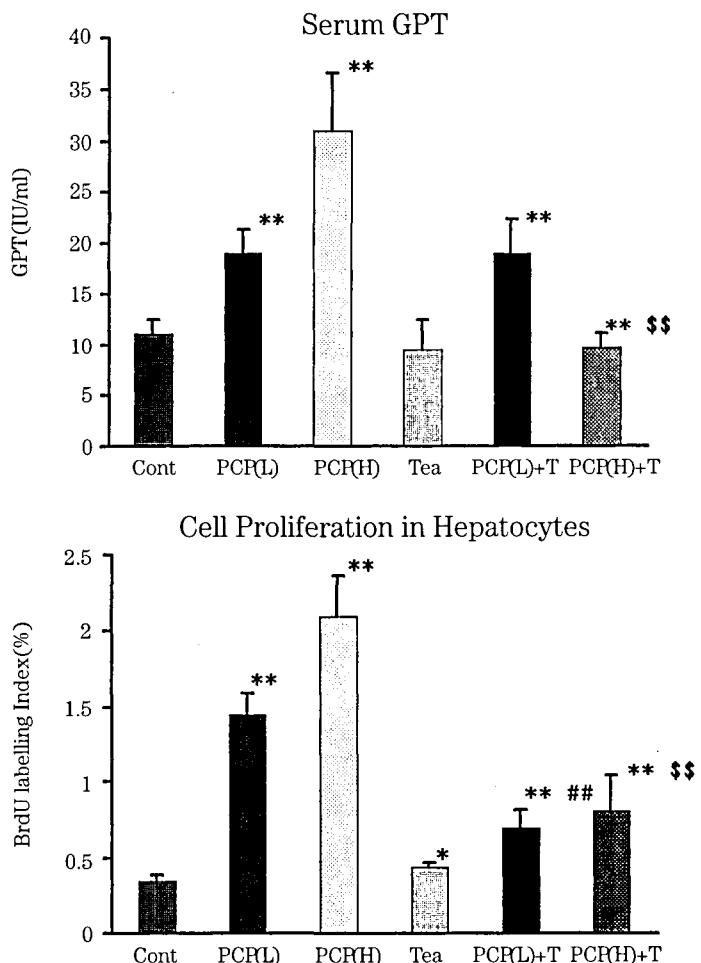


Fig. 4 Effect of green tea on serum GPT and cell proliferation in liver of male mice after 2 weeks treatment with pentachlorophenol in diet⁴²⁾

Animals were given 2% green tea infusion 1 week before onset of pentachlorophenol (PCP) treatment and until termination of experiment. Analysis was conducted after 2 weeks administration of 300 ppm (L) or 600 ppm (H) pentachlorophenol in diet.

*: p < 0.05 vs Cont, **: p < 0.01 vs Cont, #: p < 0.01 vs PCP(L), \$\$: p < 0.01 vs PCP(H)

d. ペンタクロロフェノール

ペンタクロロフェノールは木材の防腐剤、除草剤、防菌剤、防黴剤として使用されているが、変異原性は Ames 試験および染色体異常試験で陰性、姉妹染色分体交換試験で弱陽性を示し、マウスでは肝細胞癌を引き起こす肝発癌物質である⁴⁰⁾。ペンタクロロフェノールは生体内で代謝されてテトラクロロヒドロキノンとなったのち、そのテトラクロロキノンとの可逆反応における酸化還元過程でスーパーオキシラジカルを生じ、これが最終的にDNAの酸化的損傷を引き起こし、発がんに至ると考えられている⁴¹⁾。

B6C3F1 雄性マウスにオリーブ油に溶解したペンタクロロフェノールを、単回あるいは5日間連続強制経口投与した実験では、肝毒性発現の徴候は認められなかった。しかし、ペンタクロロフェノールを混餌 (300, 600 ppm) でマウスに2週間投与した結果、Fig. 4 に示すように、血清 GPT の増加および肝細胞増殖亢進が顕著に認められた。こうした変化に対して、投与前1週間および投与期間中に緑茶を与えることにより、顕著な抑制作用が認められた^{42,43)}。したがって、緑茶はペンタクロロフェノールの代謝により生成した酸素ラジカルを捕捉することにより、肝毒性の発現を防御したものと考えられた。

3. 緑茶成分の体内動態

緑茶の有効性についての動物実験の結果をヒトの場合に当てはめるために、その主成分であるカテキン類の体内動態についての研究報告をまとめた。

最初の研究では、放射性同位体標識 EGCG をラットに1匹当たり 50 mg (250 mg/kg に相当) 投与し、非吸収同位体量から EGCG の吸収率は約 20% になると推定された⁴⁴⁾。その後、ラットに単回経口投与したカテキン類が門脈中から検出され、体内に吸収されることが証明された^{45,46)}。さらに、EGCG、エピガロカテキン (EGC)、エピカテキンガレート (ECG)、エピカテキン (EC) は血中および尿中ではほとんどがグルクロン酸あるいは硫酸抱合体として存在し、ラットに3週間脱カフェイン緑茶抽出物を摂取させた実験では、血中には EGCG、EGC、EC が存在し、尿中には EGC、EC のみが排泄されることが示された⁴³⁾。また、1.2 g の脱カフェイン緑茶抽出物をヒトに投与した実験でも、1時間後の血中に EGCG、EGC、EC が、24時間の尿中には EGC および EC だけが検出された⁴⁷⁾。一方、ジャスミン茶をラットに与えると、血中から検出されたカテキンは EGC と EC だけで、この状態で溶血防御効果が認められている⁴⁸⁾。

ラットとヒトを直接比較した実験として、緑茶あるいは EGCG を単回投与し、血中の EGCG 濃度を分析した結果が2つの研究室から報告された。ひとつはラットに 311 mg/kg、ヒトに 1.62 mg/kg の EGCG を単回投与した実験⁴⁹⁾で、血中最大濃度を基準とした計算から、吸収率はそれぞれ 0.012% および 0.32% となり、その違いはラットに比べ、ヒトの方が約 30 倍高い値であった。ふたつめは、ラットに 278 mg/kg⁵⁰⁾、ヒトに 1.76 mg/kg⁵¹⁾ の EGCG を投与した実験で、同様の計算方法を適用すると、吸収率はそれぞれ 0.0022% および 0.16% となり、その違いはラットに比べ、ヒトの方が約 70 倍高い値となる。これらの結果からでは、ヒトはラットに比べて EGCG の吸収が 30~70 倍高いことになる。

さらに、ラットに EGCG あるいは緑茶抽出物を単回経口および静脈内投与した実験で、EGCG、EGC、EC の吸

収率はそれぞれ0.1, 13.7, 31.2%であるが、血中からの消失はEGCGが有意に遅いことが示された⁵²⁾。

しかし、以上のヒトとラットの比較実験では、投与が単回で行われ、またラットへのEGCGの投与量が約300mg/kgと高く、本実験の1日当たりEGCG 80mg/kgの持続投与と条件が大きく異なっている。また、ラットに単回投与したときの血中EGCG濃度は、緑茶を1週間飲用させることにより、約10倍に増加するとの情報⁵³⁾もあり、現時点では、本実験条件での緑茶の摂取量をヒトの場合に外挿するための十分な情報は得られていないと判断した。

4. 緑茶のヒトにおける有効性についての推定

上述した2つの研究⁴⁹⁻⁵¹⁾から、ヒトでのEGCGの吸収はラットの30~70倍高いことになる。一方、学会の口頭発表ではあるが、緑茶をラットに前飲用させることにより、EGCG単回投与後の血中濃度が、無処置ラットの約10倍に増加するとの報告⁵³⁾を考慮すると、ヒトとラットの体内動態の違いを30~70倍と考えるのは現実的ではないと考えた。しかし、現時点ではほかにヒトとラットの違いを解析した情報がないので、化学物質や医薬品の体内動態の推定に用いられている生理的要因を考慮した外挿のための係数(補足を参照)を用いて、ヒトでの緑茶飲用の有効性を推定した。なお、緑茶の摂取量はその主要有効成分であるEGCG量に基づいて計算した。ラットの体重が200g、1日当たりの摂水量が20ml、緑茶中のEGCGが800μg/mlであることから、体重kgあたりの1日のEGCG摂取量は80mgとなる。ヒトの体重を60kgとすると、外挿係数は6.7となり、ヒトの体重kgあたりの1日のEGCG摂取量は約12mgに相当することになる。一方、日本人が飲んでいる緑茶中のEGCGはTable 1に示した分析値から400μg/mlであり、60kgのヒトが1日800ml、5,6杯飲むと仮定すると、5.3mg/kg/dayとなり、上述の12mg/kg/dayと大きな違いはないことになる。この推定結果からは、通常我々が飲んでいる緑茶の量で、肝毒性を示す一部の化学物質に対しては、抑制効果が期待できると考えられる。なお、本実験の成果をヒトに出来るだけ正確に外挿するためには、実験動物およびヒトで、適切な投与量での用量依存性のデータを得る必要があると考えられる。

最後に、生体に対する緑茶の効果は、多くがカテキン類によるものと考えられ、本実験で得られた肝毒性抑制効果も、発生した細胞内ラジカルの捕獲を介した抗酸化作用によるものが主であると推定される。しかし、ガラクトサミンの場合には、肝過酸化脂質の増加抑制が得られない状態で、肝毒性抑制効果が認められたことから、緑茶の生体への効果は、脂質過酸化抑制作用以外の生体作用、例えばNOラジカル産生酵素の誘導抑制⁵⁴⁾、細胞内蛋白性SH基のレベル維持⁵⁵⁾などの関与も重要であると考えられる。

さらに、緑茶により肝薬物代謝酵素のCYP1A1, 1A2, 2B1及びUDP-グルクロニルトランスフェラーゼが誘導されることが報告されており⁵⁶⁾、緑茶の肝障害抑制作用に大きく関与していると推定される。なお、CYP1A2は緑茶中のカフェインにより誘導を受けることが確認されたことから⁵⁷⁾、本実験の2-ニトロプロパンで見られた緑茶抽出物による抑制効果が緑茶浸出液より弱かった原因として、肝薬物代謝酵素の誘導の違いによることも考えられる。

一方、四塩化炭素の肝障害が緑茶により抑制されなかつた原因として、緑茶により誘導された薬物代謝酵素により四塩化炭素からCCl₄ラジカル生成⁵⁸⁾が増加した可能性も考えられるが、四塩化炭素は薬物代謝酵素を顕著に阻害することから⁵⁹⁾、本実験条件下で生じた状況を推定することは容易でない。また、四塩化炭素は単離肝リソームに対して、過酸化脂質の増加を伴わない直接効果により、β-グルクロニダーゼの強力な遊離を引き起こすことから⁵⁹⁾、EGCGなどのカテキン類がこうした作用を抑制できなかつた可能性も考えられる。

補 足

抗腫瘍治療薬はその対象疾患の性質から、臨床上で最大耐量が投与されている。Freireichら⁶⁰⁾は18種の抗腫瘍治療薬について、最大耐量あるいは10%致死量(mg/kg体重)を体表面積当たりとして表すと(mg/m² 体表面積/kg体重)、ヒトおよび5種の実験動物、マウス、ラット、ハムスター、イヌ、サルの投与量はほぼ同じ値となることを示した。これは、ヒトや実験動物での毒性発現の感受性の違いは、体重当たりの体表面積の違いであることになる。

こうした考え方は、次のような情報からも支持される。外来物質に対する感受性の違いはその体内動態と反応性によって決まるが、反応性は種間で特殊な場合を除いて平均的には大きな違いはないと考えられ、体内動態の違いが重要な要素になる。肝臓、心臓、腎臓、肺などの主要器官重量および全血液量は体重をベースに計算すると、大動物から小動物まであまり違いがない。しかし、生理活動速度、すなわち、単位時間当たりの心臓の拍出量、腎臓の糸球体濾過速度、物質代謝速度、1日当たりの空気吸入量、食品および水の摂取量は大きく異なっている⁶¹⁾。この違いは体内動態速度の違いとなって現れ、感受性の違いとなる。結果として、これが単位体重当たりの体表面積とほぼ一致する。実際に臨床の場でも、体表面積をベースに医薬品を投与する場合がある。

体重当たりの体表面積は式(A)となり、

$$\frac{\text{Body Surface Area}}{\text{Body Weight}} (\text{m}^2/\text{g})$$

$$= \frac{K \times W^{2/3}}{10^4} \times \frac{1}{W} = \frac{K}{10^4 \times W^{1/3}} \quad (\text{A})$$

[K Values; Human; 9-11, Mouse; 9.0, Rat; 9.0]

ヒトと動物でのこの違いを計算すると、補正値Kはほぼ同じ値であるため、結果としてそれぞれの体重の3分の1乗の比（式B）となる⁶⁰⁾。

Animal
Human
$= \frac{K_a}{10^4 \times W_a^{1/3}} \times \frac{10^4 \times W_h^{1/3}}{K_h} \div \frac{W_h^{1/3}}{W_a^{1/3}}$

$$(B)$$

ちなみにヒトの体重を60 kg、マウスの体重を40 g、ラットの体重を200 g とすると、それぞれ11.4および6.7である。この結果は1993年に発表された183種の医薬品の解析結果からも支持される⁶²⁾。WHOあるいは各政府機関等ではこれらの値から、ヒトとマウスあるいはラットなどの実験動物との種差として、不確実係数を10として用いている⁶³⁾。

Human; 60 kg	
Mouse; 40 g	$60000^{1/3} / 40^{1/3} = 11.4$
Rat; 200 g	$60000^{1/3} / 200^{1/3} = 6.7$

文 献

- Weisburger JH, Hara Y, Dolan L, Luo FQ, Pittman B, Zang E: Tea polyphenols as inhibitors of mutagenicity of major classes of carcinogens. *Mutat. Res.-Genet. Toxicol.* **371**, 57-63 (1996)
- Zhang AQ, Chan PT, Luk YS, Ho WKK, Chen ZY: Inhibitory effect of jasmine green tea epicatechin isomers on LDL-oxidation. *J. Nutr. Biochem.* **8**, 334-340 (1997)
- Tabak M, Armon R, Potasman I, Neeman I: In vitro inhibition of Helicobacter pylori by extracts of thyme. *J. Appl. Bacteriol.* **80**, 667-672 (1996)
- Qin GZ, Gopalankrizky P, Su JJ, Ning YY, Lotlikar PD: Inhibition of aflatoxin B-1-induced initiation of hepatocarcinogenesis in the rat by green tea. *Cancer Lett.* **112**, 149-154 (1997)
- Tamura K, Nakae D, Horiguchi K, Akai H, Kobayashi Y, Satoh H, Tsujiuchi T, Denda A, Konishi Y: Inhibition by green tea extract of diethylnitrosamine-initiated but not choline-deficient, L-amino acid-defined diet-associated development of putative preneoplastic, glutathione S-transferase placental form-positive lesions in rat liver. *Jpn. J. Cancer Res.* **88**, 356-362 (1997)
- Yin, PZ, JY Zhao, SJ Cheng, Y Hara, QF Zhu, ZG Liu: Experimental studies of the inhibitory effects of green tea catechin on mice large intestinal cancers induced by 1, 2-dimethyl-hydrazine. *Cancer Lett.* **79**, 33-38

(1994)

- Ohmori Y, Ito M, Kishi M, Mizutani H, Katada T, Konishi H: Antiallergic constituents from oolong tea stem. *Biol. Pharmaceut. Bull.* **18**, 683-686 (1995)
- Pugalendhi KV, Ramakrishnan S: Effect of coffee and tea on intestinal cholesterolgenesis and the contents of cholesterol in serum, liver, duodenum, jejunum and ileum. *J. Coffee Res.* **20**, 28-36 (1990)
- Sagesakamitane Y, Sugiura T, Miwa Y, Yamaguchi K, Kyuki K: Effect of tea-leaf saponin on blood pressure of spontaneously hypertensive rats. *Yakugaku Zasshi* **116**, 388-395 (1996)
- Maity S, Vedasiromoni JR, Ganguly DK: Anti-ulcer effect of the hot water extract of black tea (*Camellia sinensis*). *J. Ethnopharmacol.* **46**, 167-174 (1995)
- Takabayashi F, Harada N, Hara Y: The effects of green tea catechins (Polyphenon) on DL-ethionine-induced acute pancreatitis. *Pancreas* **11**, 127-131 (1995)
- Yokozawa T, Chung HY, He LQ, Oura H: Effectiveness of green tea tannin on rats with chronic renal failure. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **60**, 1000-1005 (1996)
- Wada M, Takita T, Innami S: Some kinds of teas suppress a sideration of diabetes in streptozotocin-administered rats. *J. Clin. Biochem. Nutr.* **20**, 61-69 (1996)
- Sai K, Takagi A, Umemura T, Hasegawa R, Kurokawa Y: Relation of 8-hydroxydeoxyguanosine formation in rat kidney to lipid peroxidation, glutathione level and relative organ weight after single administration of potassium bromate. *Jpn. J. Cancer Res.* **82**, 165-169 (1991)
- Takagi A, Sai K, Umemura T, Hasegawa R, Kurokawa Y: Inhibitory effects of vitamin E and ellagic acid on 8-hydroxy-deoxyguanosine formation in liver nuclear DNA of rats treated with 2-nitropropane. *Cancer Lett.* **91**, 139-144 (1995)
- Sai-Kato K, Umemura T, Takagi A, Hasegawa R, Tanimura A, Kurokawa Y: Pentachlorophenol-induced oxidative DNA damage in mouse liver and protective effect of antioxidants. *Food Chem. Toxicol.* **33**, 877-882 (1995)
- Hasegawa R, Chujo T, Kato-Sai K, Umemura T, Tanimura A, Kurokawa Y: Preventive effects of green tea on oxidative DNA damage in liver and hepatotoxicity of rats treated by 2-nitropropane. *Food Chem. Toxicol.* **33**, 961-970 (1995)
- Chung FL, Xu Y: Increased 8-oxodeoxyguanosine levels in lung DNA of A/J mice and F344 rats treated with the tobacco-specific nitrosamine 4-(methyl-nitrosamine)-1-(3-pyridyl)-1-butanone. *Carcinogenesis* **13**, 1269-1272 (1992)
- Lewis TR, Ulrich CE, Busey WM: Subchronic inhalation toxicity of nitromethane and 2-nitropropane. *J. Environ. Pathol. Toxicol.* **2**, 233-249 (1979)
- Fiala ES, Czerniak R, Castonguay A, Conaway CC, Rivenson A: Assay of 1-nitropropane, 2-nitropropane, 1-azoxypyropane, and 2-azoxypyropane for carcinogenicity by gavage in Sprague-Dawley rats. *Carcinogenesis* **8**, 1947-1949 (1987)

- 21) Bors W, Michel C, Dalke C, Stettmaier K, Saran M, Andrae U: Radical intermediates during the oxidation of nitropropanes-the formation of NO₂ from 2-nitropropane, its reactivity with nucleosides, and implications for the genotoxicity of 2-nitropropane. *Chem. Res. Toxicol.* **6**, 302-309 (1993)
- 22) 甲斐幸恵, 谷村顕雄, 佐井君江, 長谷川隆一, 井上達: 2-ニトロプロパンによるラット肝ミトコンドリア呼吸の抑制と緑茶の予防効果. 日本食品衛生学会 第73回学術講演会 東京 (1997)
- 23) Schweizer M, Richter C: Nitric oxide potently and reversibly deenergizes mitochondria at low oxygen tension. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **204**, 169-175 (1994)
- 24) 佐井君江, 甲斐幸恵, 梅村隆志, 長谷川隆一, 谷村顕雄, 黒川雄二, 井上達: 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. 日本癌学会 第55回総会 横浜 (1996)
- 25) Keppler D, Lesch R, Reutter W, Decker K: Experimental hepatitis induced by D-galactosamine. *Exp. Mol. Pathol.* **9**, 279-290 (1968)
- 26) Keppler DOR, Rudigier JFM, Bischoff E, Decker KFA: The trapping of uridine phosphates by D-galactosamine, D-glucosamine and 2-deoxy-D-galactose. *Eur. J. Biochem.* **17**, 246-253 (1970)
- 27) Shiratori Y, Kawase T, Shina S, Okano K, Sugimoto T, Teraoka H, Matano S, Matsumoto K, Kamii K: Modulation of hepatotoxicity by macrophages in the liver. *Hepatology* **8**, 815-821 (1988)
- 28) 林真知子, 山添寛, 山口優, 国友勝: ガラクトサミン負荷によるラットの肝障害に対する緑茶抽出物の効果. 日薬理誌 **100**, 391-399 (1992)
- 29) 武木田薰, 谷村顕雄, 長谷川隆一, 佐井君江, 梅村隆志, 井上達: 緑茶による肝障害の予防効果に関する研究. 日本食品衛生学会 第74回学術講演会 福岡 (1997)
- 30) Rao KS, Recknagel RO: Early onset of lipoperoxidation in rat liver after carbon tetrachloride administration. *Exp. Mol. Pathol.* **9**, 271-278 (1968)
- 31) Zhao ZS, O'Brien PJ: The prevention of CCl₄-induced liver necrosis in mice by naturally occurring methylenedioxylbenzenes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **140**, 411-421 (1996)
- 32) Takahashi T, Sugimoto N, Takahata K, Okamoto T, Kishi T: Cellular antioxidant defense by a ubiquinol-regenerating system coupled with cytosolic NADPH-dependent ubiquinone reductase: protective effect against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in the rat. *Biol. Pharm. Bull.* **19**, 1005-1012 (1996)
- 33) Ip SP, Ko KM: The crucial antioxidant action of schisandrin B in protecting against carbon tetrachloride hepatotoxicity in mice: a comparative study with butylated hydroxytoluene. *Biochem. Pharmacol.* **52**, 1687-1693 (1996)
- 34) Huang R, Okuno H, Takasu M, Shiozaki Y, Inoue K: Protective effect of rifampicin against acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice. *Jpn. J. Pharmacol.* **69**, 325-334 (1995)
- 35) Yao T, Degli Esposti S, Huang L, Arnon R, Spangenberger A, Zern MA: Inhibition of carbon tetrachloride-induced liver injury by liposomes containing vitamin E. *Am. J. Physiol.* **267**, G476-484 (1994)
- 36) elSisi AE, Earnest DL, Sipes IG: Vitamin A potentiation of carbon tetrachloride hepatotoxicity: role of liver macrophages and active oxygen species. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **119**, 295-301 (1993)
- 37) Fariss MW, Bryson KF, Hylton EE, Lippman HR, Stubin CH, Zhao XG: Protection against carbon tetrachloride-induced hepato-toxicity by pretreating rats with the hemisuccinate esters of tocopherol and cholesterol. *Environ. Health Perspect.* **101**, 528-536 (1993)
- 38) Hanna PM, Kadiiska MB, Jordan SJ, Mason RP: Role of metallothionein in zinc (II) and chromium (III) mediated tolerance to carbon tetrachloride hepatotoxicity: evidence against a tri-chloromethyl radical-scavenging mechanism. *Chem. Res. Toxicol.* **6**, 711-717 (1993)
- 39) Mak DH, Ip SP, Li PC, Poon MK, Ko KM: Effects of schisandrin B and alpha-tocopherol on lipid peroxidation, *in vitro* and *in vivo*. *Mol. Cell Biochem.* **165**, 161-165 (1996)
- 40) National Toxicology Program (NTP): Toxicology and carcinogenesis studies of two pentachlorophenol technical grade mixtures in B6C3F1 mice. TR349 (1989)
- 41) Naito S, Ohno Y, Somiya I, Inoue S, Ito K, Yamamoto K, Kawanishi S: Role of active oxygen species in DNA damage by pentachlorophenol metabolites. *Mutat. Res.* **310**, 79-88 (1994)
- 42) 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. 日本癌学会 第54回総会 京都 (1995)
- 43) 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損傷及び細胞増殖に対する緑茶の予防効果. 日本食品衛生学会 第71回 学術講演会 茨木 (1996)
- 44) Matsumoto N, Tono-oka F, Ishigaki A, Okushio K, Hara Y: The fate of (-)-EGCg in the digestive tract of rats, in Proceedings of the International Symposium on Tea Science, pp. 253-257 (1991)
- 45) Okushio K, Matsumoto N, Suzuki M, Nanjo F, Hara Y: Absorption of (-)-epigallocatechin gallate into rat portal vein. *Biol. Pharm. Bull.* **18**, 190-191 (1995)
- 46) Okushio K, Matsumoto N, Kohri T, Suzuki M, Nanjo F, Hara Y: Absorption of tea catechins into rat portal vein. *Biol. Pharm. Bull.* **19**, 326-329 (1996)
- 47) Lee MJ, Wang ZY, Li H, Chen L, Sun Y, Gobbo S, Balentine DA, Yang CS: Analysis of plasma and urinary tea polyphenols in human subjects. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **4**, 393-399 (1995)
- 48) Zhan AQ, Zhu QY, Luk YS, Ho KY, Fung KP, Chen ZY: Inhibitory effects of jasmine green tea epicatechin isomers on free radical-induced lysis of red blood cells. *Life Sci.* **61**, 383-394 (1997)
- 49) Nakagawa K, Miyazawa T: Chemiluminescence high-performance liquid chromatographic determination of tea catechin, (-)-epigallocatechin 3-gallate, at picomole levels in rat and human plasma. *Anal.*

- Biochem.* **248**, 41-49 (1997)
- 50) Unno T, Takeo T: Absorption of (-)-epigallocatechin gallate into the circulation system of rats. *Biosci. Biotech. Biochem.* **59**, 1558-1559 (1995)
- 51) Unno T, Kondo K, Itakura H, Takeo T: Analysis of (-)-epigallocatechin gallate in human serum obtained after ingesting green tea. *Biosci. Biotech. Biochem.* **60**, 2066-2068 (1996)
- 52) Chen LS, Lee MJ, Li H, Yang CS: Absorption, distribution, and elimination of tea polyphenols in rats. *Drug Metab. Dispos.* **25**, 1045-1050 (1997)
- 53) 藤木博太, 菅沼雅美, 小森敦正, 末岡栄三朗, 岡部幸子, 神津知子, 末岡尚子, 菅謙司, 今井一枝, 中地敬子: 発がんプロモーションの抑制を介するがん化学予防の基礎的研究. 日本癌学会 第56回総会シンポジウム 京都 (1997)
- 54) Lin YL, Lin JK: (-)-epigallocatechin-3-gallate blocks the induction of nitric oxide synthase by down-regulating lipopolysaccharide-induced activity of transcription factor nuclear factor-kappa B. *Mol. Pharmacol.* **52**, 465-472 (1997)
- 55) Miyagawa C, Wu C, Kennedy DO, Nakatani T, Ohtani K, Sakanaka S, Kim M, Matsuiyuasa I: Protective effect of green tea extract and tea polyphenols against the cytotoxicity of 1, 4-naphthoquinone in isolated rat hepatocytes. *Biosci. Biotech. Biochem.* **61**, 1901-1905 (1997)
- 56) Sohn, OS, Surace, A, Fiala, ES, Richie, JP Jr, Co-losimo, S, Zang, E, Weisburger, JH: Effects of green and black tea on hepatic xenobiotic metabolizing systems in the male F344 rat. *Xenobiotica.* **24**, 119-127 (1994)
- 57) Chen L, Bondoc, FY, Lee, MJ, Hussin, AH, Thomas, PE, Yang, CS: Caffeine induces cytochrome P4501A2: induction of CYP1A2 by tea in rats. *Drug Metab. Dispos.* **24**, 529-533 (1996)
- 58) Slater, TF: Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem. J.* **222**, 1-15 (1984)
- 59) 長谷川隆一, 櫛谷真美, 小室徹雄, 伊阪 博: 有機汚染物質と細菌内毒素(LPS)のマウス肝に対する協同作用に関する研究 [四塩化炭素とLPSの同時投与により生じる肝リソソームの不安定化について]. 衛試報告 **105**, 78-81 (1987)
- 60) Freireich EJ, Gehan EA, Rall DP, Schmidt LH, Skipper HE: Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man. *Cancer Chemother. Rep.* **50**, 219-244 (1996)
- 61) U.S. Environmental Protection Agency, Draft report: A cross-species scaling factor for carcinogen risk assessment based on equivalence of mg/kg^{3/4}day; *Fed. Reg.*, **57**, 24151-24173 (1992)
- 62) 加藤隆一: 薬物の臨床用量と反復投与毒性試験における無毒性量および体内動態との関連. 臨床薬理 **24**, 595-602 (1993)
- 63) WHO: Special Issue "Tolerable Daily Intake of PCDDs and PCDFs". *Toxic Sub.J.* **12**, 101-332 (1992)

国立医薬品食品衛生研究所における研究情報基盤整備の進展

中田琴子[#]・中野達也・高井貴子・神沼二眞

Development of NIHS Information and Computing Infrastructure (NICI)

Kotoko Nakata[#], Tatsuya Nakano, Takako Takai and Tsuguchika Kaminuma

We describe the development of NICI, which we extended during June 1996 to May 1998. The direct lines between our Experimental Stations for Medicinal Plants at Tsukuba and Tsukuba Node for Inter Ministry Network, and newly opened Pharmaceuticals and Medical Devices Evaluation Center at Minato-ku and NIHS at Setagaya-ku in Tokyo, were constructed. Although the main frame in NIHS at Setagaya is not different since May 1996, we provided many databases and useful information on Drugs, Foods and Chemicals, constructing the interface between World Wide Web and databases. Our Home Page was timely updated.

Keywords: World Wide Web, infrastructure, server, personal computer, database

はじめに

国立医薬品食品衛生研究所（旧国立衛生試験所）における研究情報基盤環境は、平成7年度末にその第1段階の整備を終えた。所内幹線（LANスイッチで接続されている同軸ケーブルと光ファイバー）に日本サン・マイクロシステムズ社のSUN、日本シリコン・グラフィックス社のSGI、日本アイ・ビイ・エム社のIBMなど種々のワークステーションサーバと各部の多数のパーソナル・コンピュータ（PC）が接続された。このネットワークは科学技術庁による省際研究情報ネットワーク幹線（IMnet）を経てインターネットに接続されている。その経過は平成8年発行の衛生試験所報告第114号に記述した¹⁾。私達はこうした全般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国立医薬品食品衛生研究所における情報と計算のための基盤環境、NICI (NIHS Information and Computing Infrastructure) と呼んでいる。平成8年度末には、サーバマシンの増設や基幹システムの機能強化など研究情報基盤環境の整備が進んだ²⁾。研究情報基盤整備としては基幹コンピュータのみでなく端末まで供給するという考え方もあるが、与えられた予算を最大限有効に使うため各種サーバ機器に重点を置

いた。端末としてのPCは各部の自己努力により、一人一台体制に近い状態になった。厚生省の研究機関としても、厚生科学課傘下の感染症研究所、健康・栄養研究所、医療・病院管理研究所のNIH-NETが平成6年度に整備され、平成8年度には社会保障・人口問題研究所および公衆衛生院の研究情報ネットワークが整備された。厚生省本省は平成8年度にはネットワークが敷設され、PC 1人1台体制となり、その後ホームページも整備されてきた。平成9年7月、当所に開設された医薬品医療機器審査センター（審査センター、東京都港区）と東京本所間も専用回線で接続した。

NICIは全般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。全般的な業務や研究支援システムのみでなく、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、医薬品や食品および環境中の化学物質の影響を予測、評価するための新しい研究の道具でもある。前回の報告以降、NICIがどの様に整備してきたか、また今後の発展の方向について記述する。研究所名やコンピュータ用語等に略号を用いるため、正式名との対応表を末尾に付す。

1. システムの概念

NIHSの研究情報ネットワークは、厚生科学研究機関の研究事業の目的に沿って情報交換および情報発信を効率よく行うことを目標としている。つまり、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

[#] To whom correspondence should be addressed: Kotoko Nakata; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-9572; Fax: 03-5717-7180; E-mail: nakata@nihs.go.jp

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、提供することである。この目的のために、NICIはインターネットへの接続とその活用を前提としている。今日インターネットは世界的にも研究者を結ぶ情報網として発展しており、さらに一般にも普及しつつある。国内外の研究者と厚生科学研究事業に関する情報を交換したり、より多くの人々に有益な情報を提供するのにインターネットが強力な手段の一つだからである。

2. NICI の基幹システム

当所の研究情報ネットワークの敷設は、東京本所、大阪支所に引き続き筑波薬用植物栽培試験場（筑波栽培場）と進み、省際研究情報ネットワークの東京センター、大阪ノード、筑波ノードにそれぞれ接続している。平成9年7月には東京本所と審査センターが専用線で接続した。Fig. 1に本所一支部（場、センター）の接続を表示し、Table 1にNICIの進展状況を示す。東京本所内のネットワークは平成7年度に建物間を光ファイバーで繋いだことにより安定している。大阪支所、筑波栽培場、審査センターとも独自にLANを構築した。

平成10年5月現在のNICIシステムの全体構成は概念図(Fig. 2)に表示した。以下では、この図に従い、主要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東京本所および大阪支所では256 Kb/s、筑波栽培場では64 Kb/sの専用回線を経由している。審査センターのPCにはプライベートアドレスを設定し、本所と128 Kb/sの専用回線で接続することでインターネットに接続している。本所は省際研究情報ネットワークの東京センターに、大阪支所および筑波栽培場は同じく大阪ノードと筑波ノードにそれぞれ接続している。省際研究情報ネットワークを経由してSINET、WIDEまた海外の他の基幹インターネットに接続している。

外部からの専用回線は玄関口にあたるルーターを経て内部のバリアセグメントのLAN回線に繋がっている。バリアセグメントはLANのうち、ファイアウォール（外部からの侵入者を阻止する門番の役割）の外側にある領域である。ファイアウォールの実体はワークステーション(SUN SPARC Station 5)であり、外部からアクセス可能なバリアセグメントと内部セグメントとの間に介在している。バリア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サーバもこのマシンに置かれている。内部セグメントは本所のPC数の増加に伴い、現在は三つのセグメントからなり、ローカルルーターでセグメント間を接続している。審査センターからの専用回線も同じローカルルータに接続している。

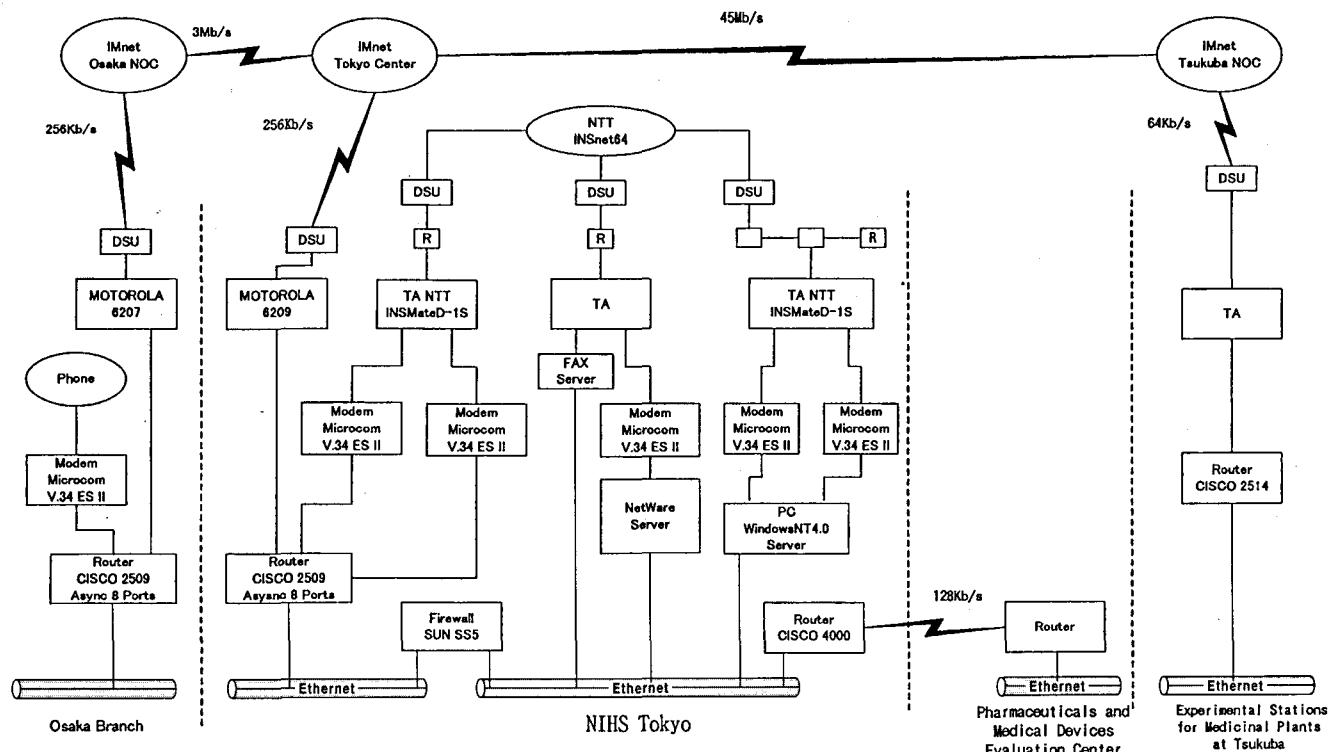


Fig. 1 Overview of the connection from NICI to outer networks

Table. 1 Developmental History of NICI

	speed	event / service
May 1990		• LAN test (SUN SPARC Station 1, SONY NEWS-1450 and client computers)
Aug. 1991	19.2kb/s	• Electric mail service by JUNET • Easy connection to outside computer centers
	2400b/s	• On-line database search and the file transfer on outside commercial computer through a telephone line and a modem in Library
Apr. 1993		• MEDLINE and Current Contents search service using NetWare and 4 series CD-ROM tower in Library
May 1993	64kb/s	• Internet connection via Genome Net in Inst. of Medical Science, The university of Tokyo, and TISN by ISDN (INSnet 64)
June 1994		• Installation of World Wide Web • Network use of MEDLINE, Current Contents, CAS corrective index, using double 4 series CD-ROM tower in Library
Jan. 1995	256kb/s	• Joint in IMnet NIHS - Tokyo IMnet Center
Feb. 1995	64kb/s	NIHS, Osaka - Osaka IMnet Node
Mar. 1996	256kb/s	NIHS, Osaka - Osaka IMnet Node (upgrade) • Installation of main server machines • Optical fiber connection through buildings using a LAN Switch.
Oct. 1996	64kb/s	• Additional joint in IMnet NIHS, Tsukuba - Tsukuba IMnet Node
July 1997	128kb/s	• Connection between Yoga and Pharmaceuticals and Medical Devices Evaluation Center

2. 2 所内 LAN の構成

所内基幹幹線に関しては前回の報告以来変化はない。各建物と11号館3階に置かれているLANスイッチはそれぞれ光ファイバーで接続されており、各建物内にはイーサネットが張られている。これらの回線間の通信速度は10 Mb/sである。

ファイアウォールの内部に位置する所内LANは、TCP/IPというプロトコル(通信規約)による基幹部分と、それ以外にNovel社のNet WareのプロトコルであるIPX、アップルコンピュータ社のMacintoshで利用されるAppleTalkおよび日本デック社のDECnetである。このうちTCP/IP、IPXおよびAppleTalkはハード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。

2. 3 主要サーバ

現在所内幹線にはFig. 2のように共通性の高いサーバが接続されている。個々のサーバについて以下に概要を記す。

a) 外部公開用ネットワークサーバ(SUN SPARC Station 20)：外部向けのネットワークサーバ(DNSサーバ、メールサーバ、WWWサーバ、Newsサーバ)として機能する。

- b) 所内用ネットワークサーバ(SUN SPARC Station 20)：所内用のネットワークサーバ(DNSサーバ、メールサーバ、WWWサーバ、Newsサーバ)として機能する。登録ユーザーおよび登録マシンの管理を行っている。
- c) データベースサーバ(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マシンが各1台、基幹幹線に接続されている。リレーショナルデータベースである日本オラクル社のORACLE(所内用サーバ)とサイベース社のSYBASE(部内用サーバ)が導入されている。所内用サーバには米国Genetics Computer Group社のGCG(遺伝子解析ソフトウェア)が導入されており、またシルバー・プラッター社のCD-ROMによるMEDLINE(医科学関係文献検索用データベース)やCHEM-BANK(CHRIS, HSDB, IRIS, RTECS, OHMTADS)の情報がコピーされている。同社が提供しているERLというソフトウェアを使ってMEDLINEおよびCHEM-BANKはPC(Windows, Macintosh)から検索できる。
- d) 計算サーバ(SGI 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に3台あり、大型ソフトをそれぞれ分散して導入し、利用している。

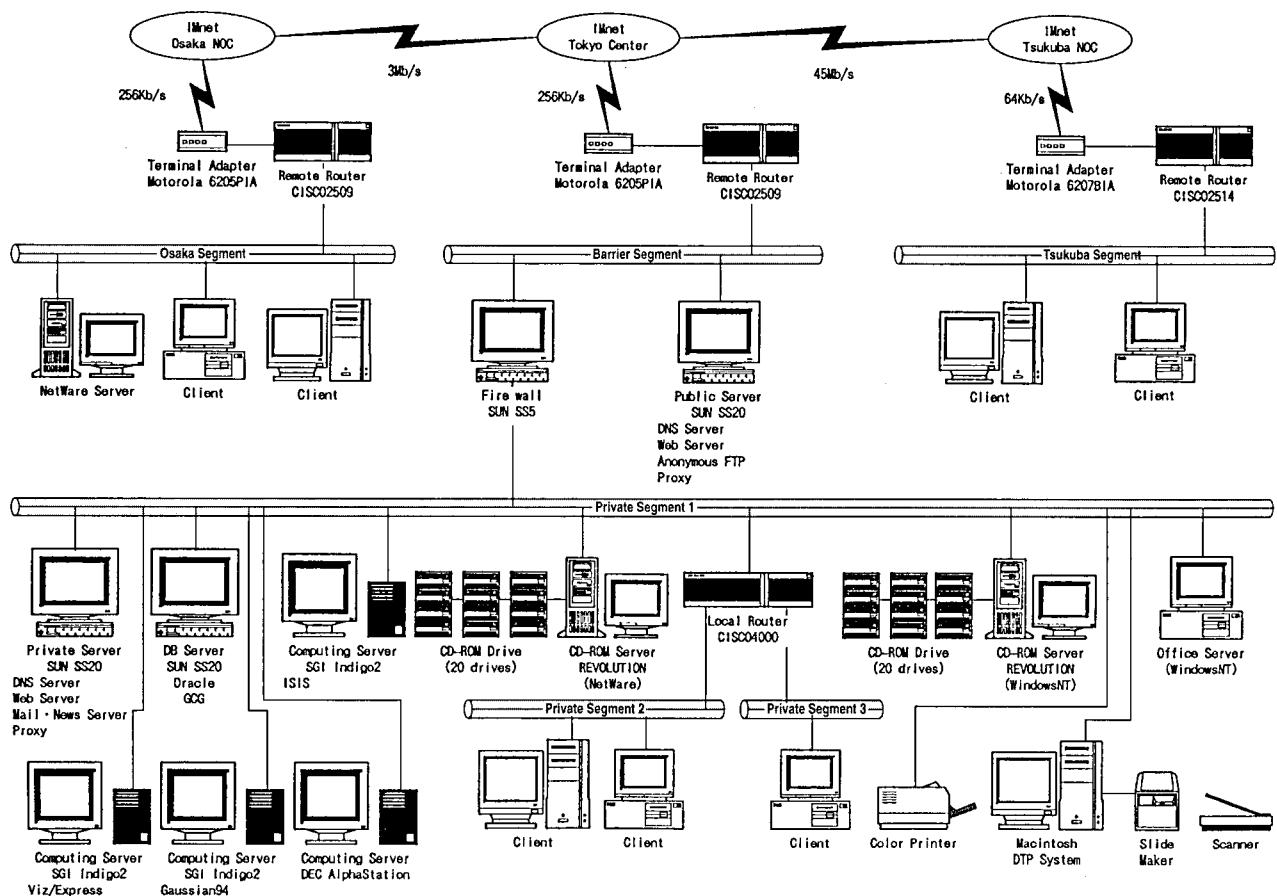


Fig. 2 Network configuration and main servers

- Molecular Design 社の ISIS (分子設計支援ソフトウェア)用
 - Advanced Visual Systems 社の Viz/Express(画像解析)用
 - Gaussian 社の Gaussian 94(分子軌道計算)用
- e) NetWare サーバ (Advanced Logic Research 社の REVOLUTION) : NetWare は PC 用のネットワークオペレーティングシステムであり、ソフトウェアや情報の共有ができる。このサーバに CD-ROM タワー 3 台 (CD-ROM ドライブ20台)を接続し、CD-ROM およびフロッピーディスクで提供される以下のデータベースの検索サービスに利用している。
- CAS 12th Collective Index (1987-1991)
 - CAS 12th Abstracts (1987-1991)
 - Federal Register (1996-)
 - Current Contents (最新科学文献情報)
- f) NT サーバ (REVOLUTION, コンパック社のCOMPAC等) : Windows NT は PC 用のもう一つのネットワークオペレーティングシステムで、最近では NetWare に取って代わりつつある。Windows NT をインストールした PC に CD-ROM タワー 3 台(CD-ROM ドライブ20

台)を接続し、CD-ROM の増加に対応するとともにソフトウェアや情報を共有する。Windows NT 用 ERL を導入して、データベースサーバと連携し、CD-ROM 上のデータベースを PC(Windows, Macintosh)から検索できる。

- シルバープラッター社の Toxline Plus (1995-)
 - g) FAX サーバ: 各自の PC で作成した文章ファイルをネットワーク経由でこのサーバに送ることにより、外部に FAX 送信できる。NetWare サーバに接続して運用していたが多少不安定なため、Windows NT サーバに接続して稼働することを実験中である。受信もできるが、配達に運用上の問題があるため、受信サービスは今のところ実施していない。
 - h) Windows NT マシン: Windows NT をインストールした PC 数台を実験的に基幹 LAN に接続し、サーバとして利用している。
- ## 2.4 PPP 接続ポート
- 北海道、伊豆、和歌山、種子島の薬用植物栽培試験場から、また所内ユーザが自宅からモデムを接続した PC を使ってインターネットを利用するため、PPP 接続ポートを設置した。東京本所に 4 回線（アナログ回線）、大阪支所

に2回線（アナログとデジタル各1回線）が運用されている。公衆衛生院とルーターを用いたISDN（サービス統合デジタルネットワーク）接続を行っていたが、平成8年度に同院が省際ネットワークに専用線接続したことにより停止した。平成10年4月より、接続の際のパスワードはユーザ毎に異なるものを使用する方式に変え、利用状況を把握出来るようにした。東京本所でも近日中にデジタル回線の開設を予定している。

3. NICIによる研究支援

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を所内ネットワークの通信規約として利用しているため、所内利用に限定したWWWサーバを複数置くことができる。またパスワード入力を必要とし、所内の人だけを対象とした「NIHS掲示板（所内限定）」をWWW上に作り、研究情報の共有や情報交換に利用している。こうした情報システムはイントラネットとも呼ばれる。掲示板には委員会報告や研究会・講演会案内、所内報や所内規定、図書関連のお知らせ、またユーザから寄せられた記事を載せている。さらにネットワーク関連情報として以下のようなネットワークを効率よく利用するための情報を載せていく。

・NICI FORUM バックナンバー

Adobe社のAdobe Acrobat Readerというソフトを利用してNICI FORUM（情報計算基盤構築のための様々な資料を載せたニュースレター；後述）のバックナンバーを読むことができる。

・所内用文献検索

ERLというソフトウェアをUNIXサーバおよびWindows NTサーバにそれぞれ導入して、CD-ROMで購入した文献情報データベース（MEDLINE, CHEM-BANK, Toxline Plus）をWWW上で利用出来るようにした。MEDLINE, CHEM-BANKについてはCD-ROMの情報をUNIXマシンのディスクにコピーし、Toxline PlusについてはCD-ROMのまま提供している。またWWWから利用する場合は、所内用ネットワークサーバ上のWWWサーバを経由して、UNIXおよびWindows NTサーバ上の文献情報データベースを検索するようになっている。

・利用マニュアル・ソフトウェア・関連情報

ネットワークを有効利用するためのマニュアルや無料ソフトウェアおよび関連情報を載せ、必要に応じて短時間でダウンロードできるようにした。

またNIHSホームページへのアクセス状況もグラフ表示およびテキスト表示で記載されている。

3.2 NICIによる情報提供

NIHSは健康や安全および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おり、化学物質情報部でも医薬品、食品、化学物質、環境に関する情報を提供し、その一部は外部にも公開している。化学物質の安全性アクセスガイド、国際化学物質安全性カード（ICSC）^③、医薬品情報ガイド^④等はそうした例である。NIHSホームページ上のこれらの情報は適宜更新されている。

インターネット上のWWWを用いれば格段に低コストで情報を提供できる。NICIの外部公開用WWWサーバ（UNIXマシン）には、SAMBAという無料ソフトウェアが導入しており、クライアントPC（Windows NTまたはWindows 95）からUNIXのWWW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はマルチメディア対応であるため、写真等の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・サーバ型のデータベース環境も整備されており、データベースとWWWを組み合わせたデータベース検索の機能も提供されており、次に例を示す。

日本薬局方標準品

国立医薬品食品衛生研究所において製造し交付している標準品は、毎年国立医薬品食品衛生研究所報告（平成8年までは衛生試験所報告）に記載されている。平成8年からワープロソフトで書かれたファイルをマイクロソフト社の表作成ソフトウェアExcelのファイルに書き換え、さらにHTML（情報のつながりを記述）ファイルに変換してWWWページに記載している。

<http://www.nihs.go.jp/9hyojunhin.htm>

食品添加物含有量データベース

大阪支所食品試験部が作成した「食品添加物含有量データベース」（Excelファイル）をHTMLファイルに変換してWWWページに記載した。

<http://www.nihs.go.jp/hse/food/food-db/food-index.html>

WWW版有害物質検索システム

PC上のデータベースソフトウェアであるボーランド社のdBASEⅢを用いて作成されたデータベースをWWW上で検索できるシステムに作り変える実験として、以前食品部が作成した「食品中の有害物質検索システム（Search for Harmful Substances in Foods）」を取り上げた。

本システムで検索できるデータはあらかじめWWWサーバ（Windows NT）上のデータベース管理システムであるマイクロソフト社のACCESSファイルに変換する必要があるため、dBASEⅢからACCESSファイルへのデータ取り込みやフィールド定義等を行った。データベース連

携の準備としては、インターネットサーバ（Windows NT）上で、ファイルマネージャやコントロールパネルのODBC（転送手順）の設定、ACCESSの設定等を行い、有害物質検索用のWWWサーバに作り上げた。次のサイトで(a-c)の検索が可能である。

<http://dcbint2.nihs.go.jp/syokuhin/syokuhin.htm>

- (a) 有害物質名から食品名の検索
- (b) 食品名から有害物質名の検索
- (c) ファイルの内容表示

本システムを構成するデータファイルの登録、修正、削除について次に更新時にまわす。

学術雑誌のような印刷形式の情報を提供する場合によく使われているソフトウェアとしてAdobe社のAdobe Acrobat/Adobe Acrobat Readerがある。Adobe Acrobatを用いて、文章や図を印刷形式にはめ込んだファイルをPDFファイルに変換しWWWページに載せる。PDFファイルはインターネットで改ざんされにくく、印刷物と同様の形式で出力できるというメリットがある。WHO、CDC、FDA等、欧米の厚生科学関連機関では重要な情報をPDFで公開している。NIHS掲示板にはNICI FORUMのバックナンバーがPDF形式で記載されている。WWW上でPDF形式のファイルを見るためにはAdobe Acrobat ReaderをPC側に導入する必要がある。Adobe Acrobat ReaderはNIHS掲示版からダウンロードできる。

3.3 情報の検索とビューリング機能

今日様々なメディアとチャンネルで膨大な情報が提供されており、必要な情報を効率的に探し出し、見やすい形で取り出すのは至難の技である。現在多くの情報がインターネット上に載せられているので、インターネット上の情報を効率的に収集、分析する機能も必要になってくる。このために、インターネットおよびインターネット上のデータベースをWWWから統合的に利用するためのシステムの研究・開発を行っており⁵⁾、その成果をGINC Database Search (<http://db.nihs.go.jp/>) という形で公開している。またNICI内のホームページについて全文検索を行うシステムを開発し、現在試験運用を行っている。さらにWWW上の文章、画像、動画、音声等各種の情報を利用するためのヘルププログラムについての解説をWWW上で公開している。特に分子を立体的イメージで表現するための無料ソフトウェアRasMolやMolecular Design社のChemscapeというソフトウェアについては、米国のNIHやNIEHSがWWWで公開している物質データベースを利用する際、3次元構造を表示するのに必要なため積極的に利用を勧めている。

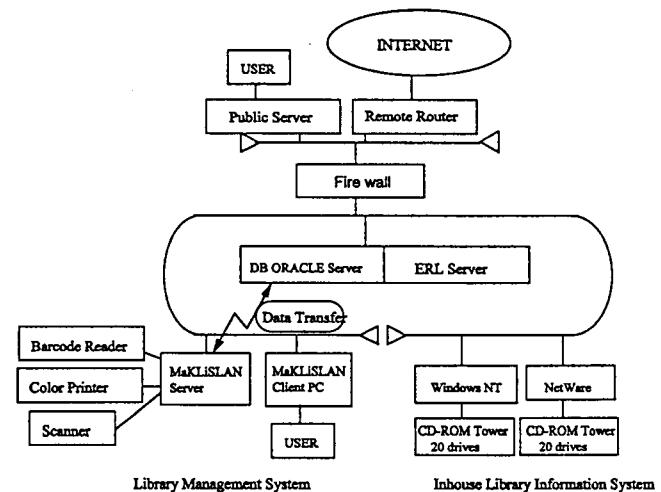


Fig. 3 Library search system

蔵書検索

図書館では単行本や雑誌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MaKLIS-LANを導入し、Windows 95上で稼働している。このシステムは本来クライアント・サーバ型であり、所内LANとは独立に稼働していたが、このシステムで管理している図書目録等の情報を所内のWWWサーバに送り、所内LANからも検索できるようにした(Fig. 3)。

PC上のデータベースを管理しているACCESSというソフトウェアとワークステーション(UNIXマシン)上のデータベース管理システムORACLEの間に転送手順ODBCに準拠して、ACCESS上で蓄積された図書関連データを自動的にORACLEに転送することができる。さらにWWWサーバとデータベースの接続にインターナショナルシステムリサーチ社のZolarというツールを利用してWWWを介する蔵書検索システムを構築した。現在試験運用中である。図書名、著者名(単行本のみ)、出版社、購入時期等を入力して検索できる。

<http://db1.nihs.go.jp/zousho/zousho.html>

各部で所内一般にも提供できる図書を部内のPCとACCESSで管理している場合、これらのデータも同様にORACLEのデータベースに転送することができ、所内全体の図書検索システムが構築できる。WWWはインターネットに接続できるところならどこからでも使えるので、国研地方衛研を巡る図書検索もインターネットを介して可能になる。

3.4 NICIを基盤とした研究支援システム

NICIは研究情報交換や発信のための支援のみでなく、理論や計算を基盤とした計算化学や計算生物学などの研究支援も目的としている。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は情報部の重要な研究目標でもある。平成8年度の研究情報整備予算で増設した計算

サーバや分子設計支援ソフトはこれらの研究に利用できる。また基盤となる分子化合物データベース(CSD)や生体分子や遺伝情報データベース(PDB, PIR, SwissProt, GenBank, EMBL)および解析プログラミング(GCG等)は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。

WWWを介してデータベースにアクセスする方法は情報部でも開発しており、3.2で述べたようにPC上で開発されたデータベースをWWWで検索できるようにすることについて支援している。また創薬設計のための基盤研究や環境ホルモン等の構造活性相関解析がNICIを用いて進展中である。環境汚染物質の分布調査や、食品汚染調査結果等を地図上にマッピングする3次元地理情報システムの開発も進行している。米国ESRI社のArcViewおよび米国MapInfo社のMapInfoという地理情報システムを基盤とし、これにデータベースや3次元可視ソフトであるAVSやVRMLを組み合わせて、多様な環境データを2次元、3次元的に表現する方法を用いている。このシステムは健康被害分布図⁶⁾や国際的な化学物質安全性評議会(IPCS)の事業であるGINCに地球規模の環境情報システムを付随するための基盤にもなっている。

また全所的な研究支援、研究管理および事務連絡の基盤であるNICIについて、所員全員の理解を深めるために、NICI FORUMというニュースレターを発行してNICIの開発方針、開発経過、整備状況、利用状況等の情報を提供している⁷⁾(Fig. 4)。

4. 結 果

東京本所のLAN基幹回線は、平成8年3月に建物間を光ファイバーで補強し、安定稼働しているが、ネットワーク機器スペースの関係等で外部公開用サーバが熱暴走したり(平成9年5月)、ルーターの故障で一部の建物間接続が頻繁にダウンしたこともあった(平成10年3月)。各部内のPC数も少しづつ増加し、それに伴いHUBや配線の追加も行われた。筑波栽培場からのPPP接続は省際ネットワークとの専用回線接続に切り替え、北海道・伊豆・和歌山・種子島栽培場からは東京本所または大阪支所にPPP接続が始まった。審査センターでは開設時(平成9年7月)ユーザー数64人から現在91人に増え、PC1人1台体制が整備されている。

所外からのPPP接続ユーザーは一時120人程度であったが、厚生省本省のネットワークが整備されたことにより減少した。それにかわり、帰宅後または休日に電子メールを利用する所員が増え、新規PPP接続システムの登録者は89人であった。

電子メールやファイル交換が増えるにつれ、ウィルスに汚染されたファイルを受け取ったり、またハッカーや

Seeing is believing. Touching is convincing.



The Newsletter of the NIH Information and Computing Infrastructure

NICI FORUM 1997.5.1

情報計算基盤構築のための話し合いの広場

Vol. 1 No. 1

- NIH ホームページの今昔
- 新しい対話の機会を求めて
- NIH のホームページについて
- FAQ: NICI を説明する情報はどこに公開されているか?
- イギリスの研究仲間との件

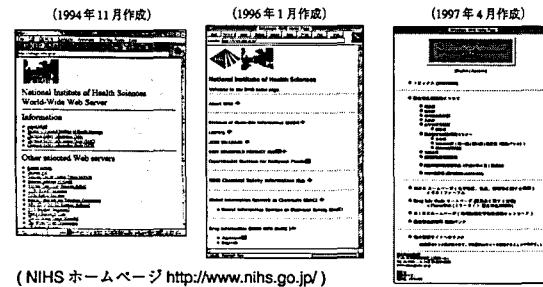
創刊のことば

インターネットの世界ではスピードが命です。とにかくタイムリーに出し続けたいと考えています。ご声援を!

コンテンツ紹介

NIHS ホームページの今昔

WWW(Web)によって情報が提供される方が増えてきました。情報関係者の間では、CD-ROM、データベース、Web用のHTMLファイルなど、情報の中味のことを「コンテンツ」と呼ぶようになっています。この欄ではNICIに関連した重要なコンテンツをシリーズで紹介していく予定です。その第1回として、当所のホームページを取り上げました。(解説は3頁)



情報部からのメッセージ

新しい対話の機会を求めて

1997年(平成9年)4月の時点で、国立衛生試験所のコンピュータネットワークは、本所(用賀)、大阪支所、筑波農業植物栽培場の3つのLANをインターネット(科学技術庁の省ネットワーク)で結ぶ本格的な機関ネットワークとして稼働している。このネットワークには、500台近くのコンピュータが接続されており、所員「1人1台のパソコン」体制をほぼ実現している。

それは最初(90年頃)情報部の研究費で購入した2台のワークステーションと2台のパソコンを1台のハブでタコ足状に繋いで大きさやかな部内LANからスタートした。

その後Netwareの導入、ISDNによるインターネット接続、木に竹をつないだような所内基幹ネットワークの整備をへて、ようやくわれわれがNICI(NIHS Information and Computing Infrastructure、すなわち国立衛生試験所の情報計算基盤)と呼んでいる本格的なLANにまで発展したのである。

一般的な潮流として官公庁の情報化への投資は急増している。しかし研究所、とくに当所の情報基盤整備が、われわれの意図的な努力なしに順調に進んで行くとは到底考えられない。一方で、国際化が進み、人員が増えない割

NICI FORUM Vol.1 No.1 May 1997

1

Fig. 4 An example of NICI FORUM

SPAMメール(他のサーバを経由してメールの送付元をカモフラージュし大量に送りつける不正なメール)等の被害を受けたこともある。情報部はその都度ヘルプデスクとともに対策を検討し対処してきたが、セキュリティ対策には終わりがない。さらに新手の不正使用や被害を受けないよう、また被害を受けた場合は早期に対処できるよう継続して考えていく必要がある。

WWWによる情報発信は平成6年6月の開設以来次第に伸びており、大阪支所、筑波栽培場からの情報発信も加わった。PC台数の増加とも比例して、当所ホームページへのアクセスも年々増加している(Fig. 5A, 5B参照)。日本語ページのアクセス状況は一昨年7月5,119件、昨年7月9,368件、今年6月16,321件であった。現在情報部以外のWWWサーバは10台ある(Table 2)。情報委員会を初めとして各種の委員会や部長会の案内も電子メールが主流となり、様々な意見交換にNIHS掲示板が使われるようになった。インターネットによる文献情報データベースの利用はMEDLINE、CHEM-BANKおよびToxLine Plusについて各部のPC(Windows, Macintosh)から検索できるようになった。図書の蔵書検索についても問題点を改善しな

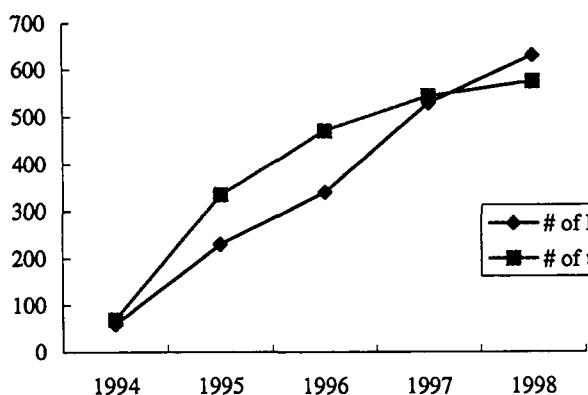


Fig. 5A Number of users and number of personal computers

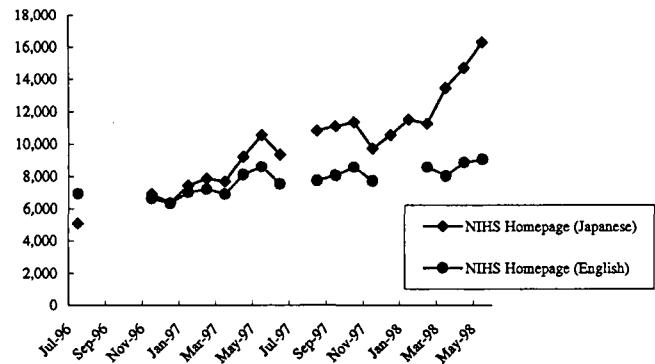


Fig. 5B Number of access for NIH Homepage

Table 2. Divisional Systems on NICI

	server	Applications
Div. of Drug	1 (Windows NT)	Guideline for bioequivalence studies. Validation of analytical procedures.
Div. of Medical Devices		NIHS Household product Hub. ISO/TC194 biological evaluation of Medical Devices
Div. of Environmental Chemistry		Regulation on Cosmetics in Japan and other countries.
Div. of Foods		Examples of foreign matters in foods.
Div. of Organic Chemistry		Information on NMR in NIHs.
Div. of Chem - Bio Informatics	4 (Windows NT)	ICSC and the summary of EHC in Japanese. To prevent chemical accidents. Regulation on chemicals in Japan.
Div. of Toxicology	1 (Windows NT)	Related academic society.
Div. of Genetics and Mutagenesis	2 (Windows NT)	Japanese collection of research bioresource Cell Bank
Div. of Risk Assessment	1 (Windows NT)	Search books or journals in DRA.
Pharmac. and Med. Dev. Evaluation Center		Evaluation process of a new drug.
Osaka Branch Div. of Drugs Div. of Food Chemistry Div. of Biol. Evaluation	4 (Windows NT)	Activity reports of Information subcommittee. In-house announcement.
Exp. Stat. for Medicinal Plants at Tsukuba	1 (Macintosh)	Guidance for 5 experimental stations in NIHs. Index Seminum.

がら運用中である。FAX サーバは稼働しているが、さらに安定性を高めるために NetWare から Windows NT に移行中である。

国内では国立大学を初めとしてほとんどの大学や国立研究機関のインターネット環境は既に完備され、地方の衛生研究所等の研究機関について整備が進行中である。重油流出事故等を含む環境問題や食中毒等健康被害のデータ収集や被害対策には地方衛研等とのインターネットによる連携が今後特に必要と思われる。化学物質の安全な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とコラボレーションを行うという GINC 構想はさらに発展している。アジアの国々を対象とした Asia GINC についても各国の関心が高まってきて、ホームページも充実してきた。国内地方都市に於いてもアジアの国々に於いても、インターネットの必要性についての理解が深まってきた。曲がりなりにも多少の予算でネットワークを開設し、なんとかそれを維持したり拡張する方法を見いだした例が多くなっている。

5. 考察

NICI の開発、整備については一部の人々を除いて理解され難いこともある。しかしながら国際的な情報基盤のレベルアップや欧米からの情報伝達方式の変化に促されて、所内のインターネット環境の見直しもなされてきた。ユーザーの理解を得ることを目的に NICI の逐一について解説した NICI FORUM 発行の成果も現れてきた。NIHS ホームページを評価して、自分達のホームページにリンクしたいと言う電子メールでの反響も多くなった。情報部以外の部でも WWW を用いた研究発表や他機関とのコラボレーションが着実に増えつつある。各部ホームページの特色を表(Table 2)に示す。

平成 8 年の衛試報告で掲げた課題は、予算の関係上未だにクリアされていない。(外部への接続は 256 Kb/s のままである。計算サーバは多少増えたが数ギガフロップスには至っていない。テレビ会議の設備はまだない。)しかし、電子メールや WWW の利用者は増え、所員のインターネ

ットにたいする意識は確実に高まっている。北海道、伊豆、和歌山、種子島の薬用植物栽培試験場における PPP 接続を含めて全所にインターネットが行き渡ったと言える。情報部はヘルプデスクのサポート範囲や推奨機器およびソフトの案内をして、端末としての PC の購入は各部の必要性に任せた。この方法の利点は、ユーザが自分の目的にかなう機種やソフトを使用できることである。外国の研究仲間

Table 3. Abbreviations

AVS	Advanced Virtual System
CAS	Chemical Abstracts
CDC	Centers for Disease Control and Prevention (USA)
CSD	Cambridge Crystallographic Data Centre (UK)
CHRIS	Chemical Hazards Response Information System (from the U.S. Coast Guard)
DECnet	Digital Equipment Corporation network
DNS	Domain Name Service
EMBL	European Molecular Biology Laboratory
EPA	Environmental Protection Agency (USA)
ERL	Electric Reference Library
FDA	Food and Drug Administration (USA)
GCG	Genetics Computer Group
GINC	Global Information Network on Chemicals
HSDS	Hazardous Substances Data Bank (from NLM)
HTML	Hyper Text Markup Language
IMnet	Inter Ministry network
IPCS	International Programme on Chemical Safety
IRIS	Integrated Risk Information (from the U.S.EPA)
ICSC	International Chemical Safety Cards
ISDN	Integrated Service for Digital Network
ISIS	Integrated Scientific Information System
JUNET	Japanese University Network
Kb/s	Kilo bit per second
LAN	Local Area Network
Mb/s	Mega bit per second
NICI	NIHS Information and Computing Infrastructure
NIEHS	National Institute of Environmental Health Sciences (USA)
NIH	National Institutes of Health (USA)
NIH-NET	The National Institute of Health Service Management, The National Institute of Infectious Diseases, and The National Institute of Health and Nutrition Network
NIHS	National Institute of Health Sciences
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health (USA)
NLM	National Library of Medicine (USA)
ODBC	Open Database Connectivity
OHM-TADS	Oil and Hazardous Materials-Technical Assistance Data System (from the U.S. EPA)
PC	Personal Computer
PDB	Protein Data Bank
PDF	Portable Document Format
PIR	Protein Information Resource
PPP	Point to Point Protocol
RTECS	Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (from NIOSH)
SGI	Silicon Graphics Incorporated
SINET	Science Information Network
TCP/IP	Transmission Control / Internet Protocol
TISN	Tokyo University International Science Network
VRML	Virtual Reality Modeling Language
WHO	World Health Organization
WIDE	Widely Integrated Distributed Environments
WWW	World Wide Web

とのソフトの交換にも対応できている。他機関で基幹システム整備より端末の配布に重点を置いたところでは、同一機種の PC を配布したり使用ソフトを制限する等、ユーザの要望に答えられない場合もある。

今後の課題として、さらに NIHS ホームページを充実させ当研究所からの情報提供の拡大と質の向上を目指すことが不可欠である。医薬品関係では、ICH (医薬品規制整合化国際会議) について日英両言語によるページを充実させつつある⁴⁾。環境問題もダイオキシンやレジンペレット等当所と関わりの多い問題に事欠かない。現在までに整備された NICI を全所的に活用していくことでかなりのことができると思われる。また食品や環境に関連した化学物質のデータベース、創薬設計のための基盤研究として構造活性相関等を組み込んだ化合物のデータベース等に NICI を活用していく予定である。

謝 辞

NICI の運用・維持および更新には所内外の多くの方々に御協力いただいた。とりわけネットワークの運用・保守、障害時の対応、および各種データベースを WWW に連携する等のアプリケーション支援について、ヘルプデスク(日立電線㈱および日立ソフト㈱の諸氏)の協力を得ております。ここに感謝する。

文 献

- 1) 中田琴子・中野達也・神沼二真：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)。衛生試験所報告 第114号, 53-61 (1996)
- 2) 国立医薬品食品衛生研究所化学物質情報部 : Collected Technical Report Series 97, No.1 インターネットとインターネットを利用した研究情報と計算基盤の構築。(1997)
- 3) 山本都・横手規子・森田真理子・中野達也・石川恵司・神沼二真：WWW による国際化学物質安全性カード(ICSC)日本語版の提供。国立医薬品食品衛生研究所報告 第115号, 161-165 (1997)
- 4) 山本美智子・中田琴子・蕪山典子・神沼二真：インターネットによる医薬品情報提供Ⅱ。国立医薬品食品衛生研究所報告 (本号) (1998)
- 5) 石川恵司・中野達也・五十嵐貴子・灘岡陽子・神沼二真：グローバルに分散している化合物データベースの検索エンジンの開発。第20回情報化学討論会講演要旨集55-58 (1997)
- 6) 神沼二真・蕪山典子・石川恵司：病原性大腸菌 O-157 を例とする健康被害分布図の作成と WWW による提供。国立医薬品食品衛生研究所報告 第115号, 155-160 (1997)
- 7) 神沼二真・中田琴子・中野達也・高井貴子： NICI FORUM. Vol.1 No.1 - No.14 (1997-1998)

ラットへの LPS 投与による体内 NO 産生に伴う血中及び主要臓器内 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 濃度について

酒見和枝・大野泰雄・津田充宥[#]

$\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ levels in blood and principal organs in rats treated with lipopolysaccharide

Kazue Sakemi, Yasuo Ohno and Mitsuhiro Tsuda [#]

It is well revealed that activation of macrophages stimulated by endotoxin resulted in induction of nitric oxide synthase which catalyze nitric oxide (NO) formation from L-arginine. Consequently, blood concentrations of $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ (NO_x^-) are shown to increase.

We studied on pharmacotoxicokinetics of NO_x^- in serum and principal organs in Wistar male rats after i.p. administrations of LPS and NaNO_3 . The serum levels of NO_x^- at 1h and 6h after nitrate administration (10 mg/kg, i.p.) were 240 and 120 μM , respectively. Tissue levels of NO_x^- in lung, liver and kidneys were ca.1/2 of the serum level. Those levels in spleen and brain were ca.1/4 and 1/10 of the serum level, respectively. The correlation of NO_x^- levels in serum and these 5 organ tissues between 1h and 6h after administration of nitrate was $r = 0.992$ suggesting no specific accumulation of NO_x^- in these organs. The serum level of NO_x^- at 18h after LPS treatment (1 mg/kg, i.p.) was 430 μM . The correlation of NO_x^- levels in serum and 5 organ tissues between LPS and nitrate administrations was shown to be $r = 0.851$. NO_x^- levels of serum, lung, kidneys and brain showed good correlation but liver and spleen showed out of the correlation. The liver tissue level of NO_x^- after LPS treatment was low compared with the expected value from the serum level. The reason may be explained partially by the liver weight increase and the liver toxicity with increased GPT and γ -GT levels due to LPS. Contrary to this, NO_x^- level of spleen tissue after LPS treatment was more than 2-fold compared with the expected value from the serum level suggesting NO formation in the spleen. This was supported by the markedly high concentration (73.2 nmol/g tissue) of NO_2^- in the spleen tissue. NO_2^- levels in lung (34.5 nmol/g tissue) and brain (14.3) were also found to be significantly high after stimulation with LPS suggesting NO formation in these organs.

Increased formation of NO_2^- in these organs by LPS stimulation suggests the formation of active nitrogen oxides such as N_2O_3 which is an effective nitrosating agent in non-acidic conditions *in vivo*.

Keywords: lipopolysaccharide (LPS), organ tissues, nitric oxide formation, nitrite/nitrate, reactive nitrogen oxides

はじめに

エンドトキシン刺激によるマクロファージの活性化に伴って、一酸化窒素合成酵素(inducible nitric oxide synthase, iNOS)が誘導され、アルギニンを基質として一酸化窒素(NO)が体内産生されることは良く知られている¹⁻³⁾。その結果、血中の $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 濃度が顕著に増加する⁴⁾。この体内 NO 産生は細菌感染等に対する生体防御としての免疫応答である反面、術後感染等により誘発される敗血症は、過剰の NO 産生による急激な血圧低下がその原因の一つとさ

れている⁵⁾。また、産生した NO の体内酸化過程で N_2O_3 のような化学的反応性に富んだ酸化窒素分子種が生成してニトロソアミン等の発がん性物質の体内生成に関与するなど体内 NO 産生の生体作用における両面性が論議されている^{6,7)}。このようなエンドトキシン刺激により誘導される体内 NO 産生には各臓器所属マクロファージの活性化に伴う iNOS 誘導の関与が示されている⁵⁾。一方、各臓器での NO 産生能並びに生成した NO の NO_2^- 及び NO_3^- への酸化速度は各臓器の血流速度やアスコルビン酸などの抗酸化物質の濃度により異なると考えられ^{8,17)}、臓器により異なる NO_2^- 及び NO_3^- の存在状態を示すことが予想された。

本研究では LPS 刺激時における血中及び主要臓器組織内の NO_2^- 及び NO_3^- 濃度を調べ、臓器中の NO 産生並びにその酸化状態に関する知見を得ることを目的とした。比較

* To whom correspondence should be addressed: Mitsuhiro Tsuda; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo, 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-9762; Fax: 03-3707-6950; E-mail: mtsuda@nihs.go.jp

の為に硝酸ナトリウム投与後の血中および主要臓器内における動態の検討も合わせて行った。

実験方法

1. 使用動物

8~9週令のSPF雄性Wistarラットを日本エスエルシー(株)より購入し、1週間の馴化期間を置いて健康な個体を実験に供した。投与前日に平均体重に有意差が生じないよう群分けを行ない、実験への影響をさけるために飲料水として脱イオン水を与えた。また動物は投与16時間前より実験期間中絶食した。

2. 投与と生体試料の採取

生理食塩液に溶かしたlipopolysaccharide (LPS, *E. Coli*, Serotype 0127:B8, Sigma) 1 mg/kg 又は対照群として生理食塩液を腹腔内投与 ($n=4$) して、18時間後にエーテル麻酔下で眼窩静脈叢より採血した。採血後、直ちに頸静脈切断により放血致死させ、剖検後、肺、肝臓、腎臓、脾臓及び脳を摘出、重量を測定した。硝酸ナトリウム 10 mg/kg を同様に腹腔内投与(4群, $n=4$)した。その内2群は、投与1及び6時間後に採血し、放血致死させ、剖検後、前記主要臓器を摘出、重量測定を行った。残りの2群は経時的採血(1~2回/匹)に供した。対照群($n=4$)には生理食塩液を腹腔内投与した。尚、腹腔内投与液は全て、滅菌フィルター(孔径 0.2 μm)ろ過を施して使用した。血液は採取後血清を調製し、血清及び摘出臓器は分析時まで-20°Cで凍結保存した。

3. 血清の除蛋白および $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 濃度測定法

血清試料0.1 mlに対して0.01 N水酸化ナトリウム溶液0.2 ml, 420 mM 硫酸亜鉛溶液0.2 ml, 蒸留水0.5 mlを加えてよく攪拌し、60°Cで10分間加温後、遠心分離(12000 rpm, 5 min)して、除蛋白した。除蛋白した試料は、カドミウム-銅還元カラムを付した自動窒素酸化物測定装置(TCI-NOX1000, 東京化成)を用いて、試料中の NO_3^- を NO_2^- に還元後 Griess 試薬により発色させ、生成したアゾ化合物の吸光度540 nmを測定することにより、全 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 量を定量した⁴⁾。試料中の NO_2^- は還元カラムを通さず直接発色させ測定した。

4. 摘出臓器のホモジエネート調製及び測定前処理法

臓器はハサミで細切し、1N水酸化ナトリウム溶液を加えて(臓器1g当たり3~5 ml)アルカリ処理した後、超音波で完全に破碎してホモジエネートを得た。臓器ホモジエネートは血清試料と同様に除蛋白を行ない、 NO_2^- 及び NO_3^- の濃度を測定した。

血清生化学検査は臨床生化学自動分析装置(日立7150型、日立製作所)により各検査項目に対する市販キットを用いて測定した。

2群間の平均値の有意差はt-検定により調べた。

結果

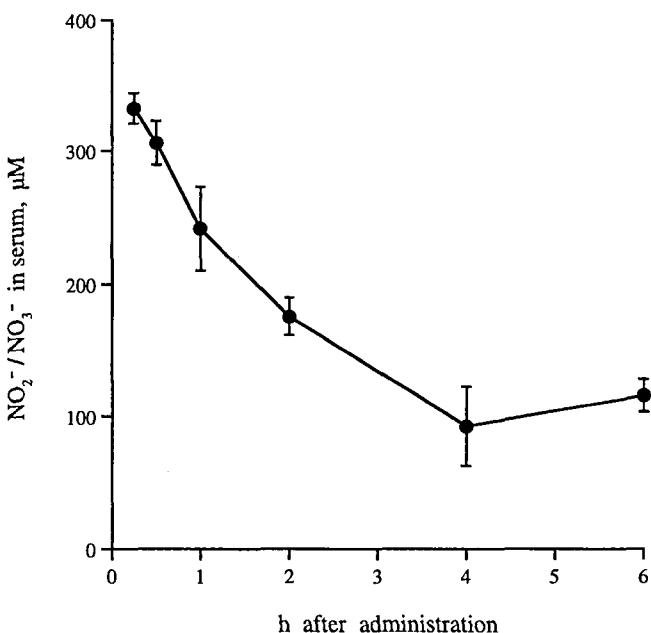
LPS 腹腔内投与(1 mg/kg) 18時間後、硝酸ナトリウム(10 mg/kg) 腹腔内投与1及び6時間後及び生理食塩液腹腔内投与(5 ml/kg, 対照群) 1時間後の、ラット血清中及び主要臓器組織内の $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 及び NO_2^- 濃度をTable 1に示した。

Fig. 1に硝酸ナトリウム腹腔内投与後のラットの血清中 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 濃度推移を示した。投与後0.25 hの $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 濃度は332.2 μMで、その後はすみやかに血中より消失し、投与後6 hで約1/3に低下した。

一般症状は、LPS投与において、投与後1 hより自発運動の低下と顕著な下痢症状が観察された。これに対して、硝酸ナトリウム投与による毒性症状は認められなかった。

Table 2に採血直前のラット体重及び採血直後に摘出した臓器重量を示した。LPS投与では肺、腎臓、肝臓および脾臓において臓器重量の有意な増加が見られた。

Table 3にはLPS投与18時間後のラット血清生化学データを示した。BUN, PL, TG, TCho, ALT並びにγ-GTが有意に増加し、Alb, AIP並びにLAPが有意に減少した。



Each point with the vertical line represents the mean ± S.D. for 4 rats. Pharmacokinetic parameters analyzed by Gauss-Newton method (WinNonlin nonlinear estimation program) are as follows: Cmax 341 nmol/ml, AUC^{0-∞} 1141 nmol·h/ml, t_{1/2} 2.3h.

Fig. 1. Serum concentration profile of $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ in male rats after i.p. administration of NaNO_3 at a dose of 10 mg/kg

Table 1. NO₂/NO₃ levels of serum and various organ tissues in rats after administrations of LPS, NaNO₃ or saline

	LPS (18h)		NaNO ₃ (1h)		NaNO ₃ (6h)		Saline (1h)	
	NO ₂ /NO ₃	NO ₂	NO ₂ /NO ₃	NO ₂	NO ₂ /NO ₃	NO ₂	NO ₂ /NO ₃	NO ₂
No. of rats	4	4	4	4	4	4	4	4
Blood (nmol/ml)	431.9 ± 120.7	15.5 ± 0.96 ^a	241.6 ± 31.5	10.8 ± 0.25 ^a	115.5 ± 12.4	10.3 ± 0.46	24.6 ± 6.03	9.97 ± 0.42
Organs (nmol / g tissue)								
Lung	239.3 ± 45.0	34.5 ± 8.84 ^b	113.7 ± 21.6	0.11 ± 0.22 ^b	58.7 ± 6.70	1.29 ± 1.56	16.1 ± 8.24	0.40 ± 0.57
Kidney	187.1 ± 60.1	19.5 ± 4.65 ^c	106.4 ± 16.3	13.8 ± 0.86 ^c	58.8 ± 11.4	14.4 ± 2.06	23.6 ± 7.11	12.4 ± 1.83
Liver	87.0 ± 28.7	21.6 ± 4.80	96.6 ± 6.34	18.1 ± 1.26	62.2 ± 3.25	17.9 ± 0.99	33.3 ± 1.55	18.2 ± 1.07
Spleen	248.7 ± 68.1	73.2 ± 30.9 ^d	60.5 ± 3.57	7.87 ± 0.65 ^d	38.0 ± 8.22	8.72 ± 5.08	20.6 ± 4.69	10.7 ± 6.83
Brain	57.8 ± 11.9	14.3 ± 2.64 ^e	17.5 ± 8.95	3.06 ± 1.66 ^e	18.3 ± 3.17	6.06 ± 2.91	5.40 ± 3.96	2.64 ± 0.46

Data are shown by mean ± S.D..

Numbers in parenthesis are h after administration.

Significantly different between a and ^a, b and ^b, d and ^d, e and ^e at p<0.01, between c and ^c at p<0.05.Table 2. Body and organ weights in male rats after i.p. administrations of LPS, NaNO₃ or saline

No. of rats	Saline ¹⁾		NaNO ₃ ¹⁾		Saline ²⁾		LPS ²⁾	
	4	4	4	4	4	4	4	4
Body weight (g)	225.5 ± 17.5		221.5 ± 9.8		185.8 ± 3.3		182.0 ± 7.1	
Organs (g)								
Lung	0.85 ± 0.08 (0.38 ± 0.01)		0.86 ± 0.08 (0.39 ± 0.02)		0.75 ± 0.03 (0.40 ± 0.02)		0.86 ± 0.13 (0.47 ± 0.05)	*
Kidney	1.61 ± 0.08 (0.71 ± 0.03)		1.54 ± 0.05 (0.70 ± 0.02)		1.32 ± 0.12 (0.71 ± 0.05)		1.40 ± 0.10 (0.77 ± 0.03)	*
Liver	7.53 ± 2.21 (3.30 ± 0.69)		7.19 ± 0.40 (3.24 ± 0.05)		5.65 ± 0.69 (3.04 ± 0.33)		6.56 ± 0.51 (3.60 ± 0.22)	**
Spleen	0.47 ± 0.04 (0.21 ± 0.01)		0.47 ± 0.03 (0.22 ± 0.00)	**	0.42 ± 0.02 (0.22 ± 0.01)		0.54 ± 0.04 (0.29 ± 0.01)	**
Brain	1.71 ± 0.04 (0.76 ± 0.06)		1.72 ± 0.08 (0.78 ± 0.05)		1.78 ± 0.07 (0.96 ± 0.05)		1.76 ± 0.07 (0.97 ± 0.02)	

1) Wistar male rats (8w) were treated with NaNO₃ (10 mg/kg, i.p.) or saline (5 ml/kg, i.p.). 1h after the treatment, weighed body weight and collected blood (0.5 ml), and then autopsied to obtain the organs described.

2) Wistar male rats (9w) were treated with LPS (1 mg/kg, i.p.) or saline (5 ml/kg, i.p.). Eighteen hours after the treatment, weighed body weight and collected blood (0.5 ml), and then autopsied to obtain organs described. Food was removed 16h before administration and during experiment.

Data are shown by mean ± S.D.. Numbers in parentheses are relative organ weight values.

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

Table 3. Clinical biochemistry findings for serum obtained from male rats 18h after treatment with LPS

Biochemical test			Treatment	
			Saline	LPS
Total protein	(TP) ^{a)}	g/dl	5.96 ± 0.18	5.61 ± 0.38
Albumin	(Alb) ^{a)}	g/dl	4.28 ± 0.20	3.88 ± 0.09 *
Albumin-globulin ratio	(A/G)		2.56 ± 0.35	2.31 ± 0.50
Blood urea nitrogen	(BUN) ^{b)}	mg/dl	13.3 ± 2.5	22.8 ± 2.2 **
Creatinine	(CRN) ^{c)}	mg/dl	0.29 ± 0.03	0.29 ± 0.03
Glucose	(Glc) ^{c)}	mg/dl	124 ± 15	129 ± 21
Phospholipid	(PL) ^{a)}	mg/dl	97 ± 6	134 ± 9 **
Triglycerides	(TG) ^{c)}	mg/dl	61 ± 24	120 ± 28 *
Total cholesterol	(TCho) ^{c)}	mg/dl	44 ± 5	71 ± 10 **
Alkaline phosphatase	(ALP) ^{c)}	mU/ml	608 ± 45	501 ± 24 **
Alanine aminotransferase	(ALT, GPT) ^{c)}	mU/ml	49 ± 13	113 ± 22 **
Aspartate aminotransferase	(AST, GOT) ^{c)}	mU/ml	218 ± 100	204 ± 71
γ-glutamyltransferase	(γ-GT) ^{c)}	mU/ml	0.09 ± 0.16	0.66 ± 0.40 *
Leucine aminopeptidase	(LAP) ^{c)}	mU/ml	52 ± 2	48 ± 1 *
Calcium	(Ca) ^{a)}	mg/dl	9.5 ± 0.3	9.5 ± 0.5

1) Wistar male rats were treated intraperitoneally with saline or LPS (1 mg/kg).

Values represent mean ± S.D. (n = 4).

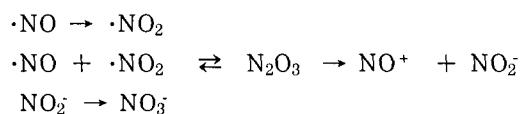
* and ** show significant difference from the control at p < 0.05 and p < 0.01, respectively.

Test kits used were obtained from a) Wako Pure Chemical Industries, b) Shinotest Laboratory,

c) Boehringer Mannheim

考 索

LPS 刺激等により体内産生した NO は、主として以下のような酸化過程を経て NO₂ 及び NO₃ に変換され⁹⁾, NO₃ の形で、主に尿中から排泄される。



NO の最終酸化産物である NO₃ の体内動態を把握するため、硝酸ナトリウム投与後の血中濃度推移及び主要臓器組織内 NO₂/NO₃ レベルを検討した。硝酸塩投与における主要臓器組織内 NO₂/NO₃ レベルは、投与後 1 h 及び 6 h とも、肺、腎臓、肝臓で血清レベルの約 1/2 を示し、脾臓及び脳では、それぞれ血清レベルのおよそ 1/4 及び 1/10 を示した。一般的に、血流速度の小さい脾臓等の薬物濃度は肝臓、腎臓等に比して低い場合が多い¹⁰⁾。脳は摘出臓器中最最低レベルを示したが、これは硝酸イオンが水溶性であり血液-脳関門による通過抑制を受けたものと推察された¹¹⁾。このような NO₂/NO₃ の血清レベルと主要臓器組織内レベルとの濃度関係は、硝酸塩投与後 1 h 及び 6 h で良い相関 ($r = 0.992$, Fig. 2A) を示した。このことは、血中の NO₂/NO₃ 濃度の低下に伴って各臓器中濃度も同様に低下し、臓器特異的な蓄積が関与しないことを示唆した。更に、硝

酸塩投与後の各臓器組織内の NO₂ 濃度に対照群との差が見られなかったことから、これらの臓器組織での NO₃ の還元による NO₂への変換の可能性は少ないと判断された。

一方、著者らの前報において、ラットへの LPS 投与により、投与 3 時間前後から血中 NO₂/NO₃ 濃度の増加がみられ、24 時間後においてもコントロールレベルの 10 倍以上であることを示した⁴⁾。また、それが NOS の阻害剤 N^G-monomethyl-L-arginine により生成抑制されることより、iNOS 誘導に伴う NO 産生によるものであることを確認してきた⁷⁾。

LPS 投与後 18 時間と硝酸塩投与後 1 時間での血清中及び各臓器組織内 NO₂/NO₃ レベルの比較において、血清レベルと肺、腎臓及び脳では硝酸塩投与の場合と良い相関を示した。一方、肝臓及び脾臓の組織内 NO₂/NO₃ レベルと血清レベルでは硝酸塩投与の場合と相関せず、肺、腎臓、脳とは異なる状況が示唆された (Fig. 2B)。肝臓が血清レベルからの予測値に比して低いレベルを示した原因としては、LPS 投与による肝臓重量の増加 (20%) がその一因と考えられた。また、血清中 ALT (GPT) 及び γ-GT が上昇していることから肝障害が示唆され、LPS の肝機能への影響もその一因と考えられたが、詳細は不明であった。脾臓においても臓器重量の増加 (30%) がみられたが、NO₂/NO₃ 濃度は逆に血清中レベルからの予測に比して、著しい増加を示しており説明が困難であった。

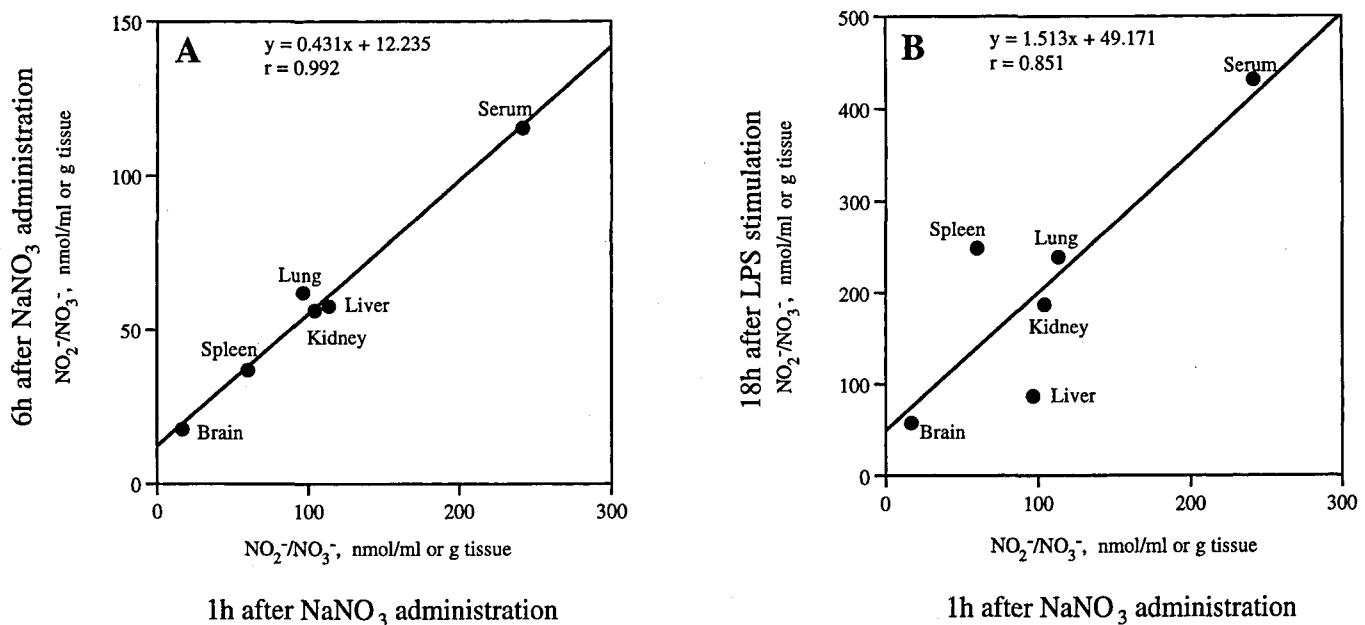


Fig. 2. Correlations of NO_2/NO_3 levels in serum and various organ tissues in male rats after i.p. administrations of NaNO_3 and lipopolysaccharide (LPS)

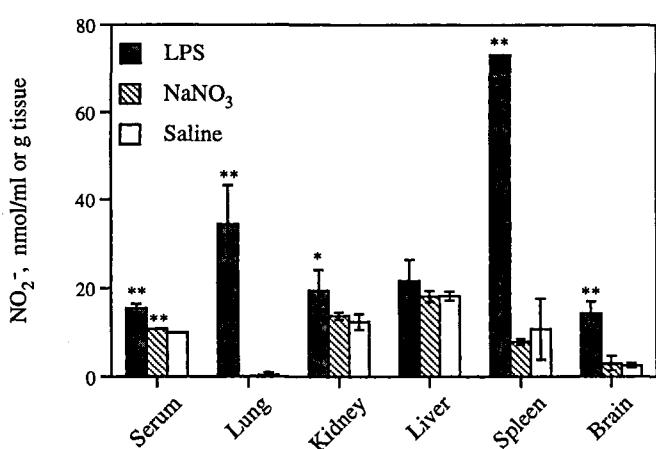
Hom らは Sprague-Dawley ラットへの LPS 投与において、今回、我々が検討した各主要臓器での、iNOS の mRNA および蛋白の発現を明らかにしている⁵。著者らの本研究結果において、LPS 投与後の各臓器組織中に検出された NO_2 濃度は、硝酸塩投与時のそれより、肝臓を除いて、有意に高い値を示し、各臓器での NO 産生の観点から注目に値した(Fig. 3, Table 1)。特に、脾臓中の NO_2 濃度が他の臓器に比して著しく高いことが特徴的であった。LPS 刺激により脾臓固有のマクロファージ (Splenocytes) による iNOS の誘導の関与¹²⁾が示されている事から、脾臓における NO 産生の結果を示すものと判断された。また、脾臓中のアスコルビン酸濃度が肝臓や腎臓に比して高濃

度¹⁷⁾であることからも、 NO_2 が安定に存在したと推測された。

一方、対照群及び硝酸塩投与群の肺組織において NO_2 濃度が顕著に低値を示したことは、肺では酸素供給が高く、 NO_2 の NO_3^- への酸化が容易なためと推測された。また、LPS 投与時の肺組織中に NO_2 が高濃度で検出されたことから、肺摘出時点での NO 産生の持続が示唆された。硝酸塩投与時の脳内 NO_2 に比して LPS 投与時の NO_2 濃度が有意に増加していることから、脳内独自の NO 産生の関与を示していると推察された。腎臓での NO 産生も NO_2 濃度測定結果から示唆されたが、血中 NO_2 濃度の影響が無視出来ないと思われた。

結論として、脾臓、肺及び脳において NO 産生が示唆され、肝臓及び腎臓での NO 産生に関しては、本研究からは知見が得られなかった。今回、LPS 投与による臓器組織内 NO_2 濃度の有意な増加が観察されたことにより、臓器組織内 NO_2 濃度の測定が、当該臓器での NO 産生の一指標として役立つことが示された。とりわけ、脾臓などの血流速度の小さい臓器では、血中の NO_2/NO_3 濃度に比較的影響されずに、臓器独自の NO 産生の関与及びその酸化状態を観察出来ると考えられた。

LPS などのエンドトキシン刺激による臓器組織内 NO_2 濃度の上昇は、組織内の N_2O_3 等の化学的反応性に富んだ酸化窒素分子種の増加を示している。この様な活性な酸化窒素分子種は、生体の中性環境でもニトロソ化や脱アミノ化反応に関与できることから、寄生虫やバクテリアなどによる慢性感染症や炎症等による発がん促進との関連で本研究の知見は注目される¹³⁻¹⁶⁾。



*、**: Significantly different from the control (saline) at $p < 0.05$, and $p < 0.01$, respectively.

Fig. 3. NO_2 levels of serum and various organ tissues in male rats after administrations of LPS, NaNO_3 or saline

文 献

- 1) Moncada, S., Palmer, R. M. J. and Higgs, E. A.: *Pharmacol. Rev.*, **43**, 109-142(1991)
- 2) Iyengar, R., Stuehr, D. J. and Marletta, M. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 6369-6373(1987)
- 3) Cunha, F. Q., Assreuy, J., Moncada, S., Liew, F. Y.: *Immunology*, **79**, 408-411(1993)
- 4) Kitajima, S., Tsuda, M., Eshita, N., Matsushima, Y., Saitoh, M., Momma, J. and Kurokawa, Y.: *Toxicol. Lett.*, **78**, 135-140(1995)
- 5) Hom, G. J., Grant, S. K., Wolge, G., Bach, T. J., Macintyre, D. E. and Hutchinson, N. I.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **272**, 452-459(1995)
- 6) Miwa, M., Stuehr, D. J., Wishnok, J. S. and Tannenbaum, S. R.: *Carcinogenesis*, **8**, 955-958(1987)
- 7) Tsuda, M., Kurashima, Y., Kosaka, H., Ohshima, H., Sugimura, T. and Esumi, H.: *ibid.*, **16**, 2653-2657(1995)
- 8) Stamler, J. S., Singel, D. J., Loscalzo, J.: *Science*, **258**, 1898-1902(1992)
- 9) 鈴木仁美:窒素酸化物(NO_x)の有機化学, ファルマシア, **33**, 487-491(1997)
- 10) 小泉保:医薬品の開発 第19巻 薬動学, 広川書店, 東京, pp. 216-222(1990)
- 11) 加藤隆一:臨床薬物動態学, 南江堂, 東京, pp. 31-34(1992)
- 12) Stein, C. S. and Strejan, G.: *Cell. Immunol.*, **150**, 281-297(1993)
- 13) Liu, R. H., Baldwin, B., Tenant, B. C. and Hotchkiss, J. H.: *Cancer Res.*, **51**, 3925-3929(1991)
- 14) Haswell-Elkins, M. R., Satarug, S., Tsuda, M., Mairiang, E., Esumi, H., Sithithaworn, P., Mairiang, P., Saitoh, M., Yongvanit, P. and Elkins, D. B.: *Mutat. Res.*, **305**, 241-252(1994)
- 15) Satarug, S., Haswell-Elkins, M. R., Tsuda, M., Mairiang, P., Sithithaworn, P., Esumi, H., Sukprasert, S., Yongvanit, P. and Elkins, D. B.: *Carcinogenesis*, **17**, 1075-1081(1996)
- 16) Satarug, S., Haswell-Elkins, M. R., Sithithaworn, P., Bartsch, H., Ohshima, H., Tsuda, M., Mairiang, P., Mairiang, E., Yongvanit, P., Esumi, H. and Elkins, D. B.: *ibid.*, **19**, 485-491(1998)
- 17) Kosaka, H., Tsuda, M., Kurashima, Y., Esumi, H., Terada, N., Ito, Y. and Uozumi, M.: *ibid.*, **11**, 1887-1889(1990)

クロロフィルのF344ラットを用いた13週間亜慢性毒性試験

古川文夫[#]・笠原健一郎・西川秋佳・今沢孝喜・広瀬雅雄

A 13-week Subchronic Oral Toxicity Study of Chlorophyll in F344 Rats

Fumio Furukawa[#], Ken-ichiro Kasahara, Akiyoshi Nishikawa,
Takayoshi Imazawa and Masao Hirose

A 13-week subchronic toxicity study of chlorophyll (containing 40% oil) was performed in both sexes of F344 rats by feeding of CRF-1 powder diet containing 0, 0.18%, 0.55%, 1.66% and 5%, and vehicle (oil) alone. No animals died during the administration period and no changes in body weights and food intakes were found in any dosed groups. Some hematological, serum biochemical and histopathological changes were observed for the 5%-treated group, but these did not suggest obvious toxicity. These findings indicate that the treatment with 1.66% chlorophyll in diet for 13 weeks does not cause any changes in rats and the 5% feeding is not obviously toxic.

Keywords: Chlorophyll, F344 rat, Subchronic Toxicity

はじめに

クロロフィルは植物界に広く存在するポルフィリン系色素で、コンフリーーやアルファルファなどの食用緑色野菜やクロレラを原料とし、エタノールまたは有機溶剤で抽出して得られる¹⁾。一般に食品添加物としてのクロロフィルは、変性を防ぐためにアセトン抽出物に食用油を加えた油溶性の緑色着色素である。主色素はクロロフィルaおよびクロロフィルbの混合物で、クロロフィル成分としては10~11%を占め、性状は緑色から暗緑色のペースト状を呈し、アセトン、クロロホルム、エタノールに溶解するが、水には不溶である¹⁾。用途としてはチューインガム、魚肉練製品、チョコレートに0.08~0.18%，健康食品に0.1~0.25%の割合で添加されている。その他に生菓子、ワサビ漬けなどに使用されている¹⁾。

クロロフィルは化学構造上、一種のポルフィリン環の中央にマグネシウムがキレート結合をしている。このマグネシウムが酸性または加熱により離脱し、フェオフィチンとなる²⁾。このフェオフィチンからクロロフィラーゼによりフィチル基が取れるとフェオフォルバイドとなる²⁾。フェオフォルバイドは光過敏症の原因物質であり、特にフェオフォルバイドaおよびビロフェオフォルバイドは強い光過敏毒性をもつことが報告されている²⁾。このようにクロ

ロフィル分解産物の毒性に関する報告は多々あるが、これまでにクロロフィルの毒性評価に関する報告はほとんどない。

今回、実験Iとしてクロロフィルの安全性評価の一環として、13週間の亜慢性毒性試験を実施するとともに、実験IIとしてクロロフィルの溶媒の影響を検討する目的で、クロロフィル非含有溶媒対照の毒性試験も追加実施した。

実験材料および方法

1. 動物ならびに飼育条件

5週齢のF344ラット雌雄各70匹を日本チャールス・リバー(株)より購入し、約1週間の馴化飼育の後、実験Iとして雌雄とも各群10匹ずつ5群に配した。また、実験IIとして雌雄とも各群10匹を2群に配した。動物の飼育はバリヤーシステムの動物室にて行い、室内の環境条件は温度24±1℃、湿度55±5%，換気回数18回/時間、蛍光照明12時間(7~19時)とした。動物は、ポリカーボネット製箱型ケージに5匹ずつ収容し、床敷は三協ラボサービス(株)のソフトチップを用い、週2回交換した。また、飲料水として水道水を自由に摂取させた。

2. 被験物質ならびに投与量

クロロフィルは原体として日本葉緑素(株)から供与を受けた。実験に使用したクロロフィルは、ムラサキ科コンフリーーよりアセトン抽出で得られたクロロフィル抽出物が60%に食用油(デザイン200C:日本リーバ)40%を加えたものである。主色素はクロロフィルaおよびクロロフィルbの混合物で、クロロフィル成分としては18.5%である。

[#] To whom correspondence should be addressed: Fumio Furukawa; Division of Pathology, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-9819; Fax 03-3700-1425; E-mail: furukawa@nihs.go.jp

実験Ⅰとして、既に実施した予備試験の結果に基づき、最高用量を5%とし、公比3で除して以下の用量を1.66, 0.55, 0.18%に設定した。それぞれ粉末飼料（オリエンタル酵母社）に混じて13週間自由に摂取させ、また対照群には粉末飼料のみを同様に摂取させた。

実験Ⅱとして、溶媒の影響を検討するため、クロロフィル非含有溶媒対照飼料（デザイン200Cと α -トコフェロール含有）および粉末飼料のみを同様に摂取させた。

3. クロロフィル含有および非含有飼料の調製方法

遮光ビンにクロロフィル0.1%の濃度になるように α -トコフェロール（シグマ社）を酸化防止のために加えた。 α -トコフェロールの添加濃度は、事前に飼料の安定性試験を実施して決定した。アセトンで溶解後、それを粉末飼料に混じ、5%クロロフィル添加飼料を調製、ドラフト内に24時間放置し、脱アセトンを行った。飼料は隔週ごとに5%濃度飼料を作製して分注後、真空パックで密封、冷凍庫に保存した。飼料は保存飼料を基に週2回作製し、粉末給餌器の上にステンレス板を置き遮光した。またクロロフィル非含有溶媒添加飼料を同様の手順で調製した。

4. 観察ならびに検索方法

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

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

血清生化学的検査は、分離した血清を凍結後、総蛋白（TP）、A/G比、アルブミン（Alb）、総コレステロール（T.Chi），尿素窒素（BUN），クレアチニン（CRN），ナトリウム（Na），塩素（Cl），カリウム（K），カルシウム（Ca），無機リン（P），アスパラギン酸トランスアミナーゼ（AsT），アラニントランスアミナーゼ（ALT），アルカ

リフォスマターゼ（ALP）および γ -グルタミルトランスアミナーゼ（ γ -GT）についてSRL社に依頼し測定した。

諸臓器は肉眼的に観察後摘出し、脳、下垂体、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓および精巣の重量を測定した。上記の臓器に加え、眼球、ハーダー腺、脊髄、胃、小腸、大腸、胰臓、膀胱、皮膚、乳腺、リンパ節、気管、食道、甲状腺、胸腺、舌、大腿筋、精巣上体、精嚢、前立腺、子宮および腔を10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。固定臓器は、全例の全臓器を常法に従い、パラフィン包埋後、薄切片を作製し、ヘマトキシリソ・エオジン染色を施した。

5. 統計学的処理法

体重、血清生化学的検査、血液学的検査および臓器重量の測定値は、分散分析(ANOVA)による検定を行った。

結 果

1. 一般状態および死亡動物

実験ⅠおよびⅡでの投与期間中の死亡動物は認められず、いずれの動物においても一般状態の異常は認められなかった。

2. 体重および摂餌量

実験Ⅰにおいて、体重は雄の1.66%群が投与4週から対照群を若干上回って推移したが、その他の投与群ではほぼ同様な推移を示した。雌では対照群とほぼ同様の体重増加が認められ、被験物質投与に起因すると思われる異常は認められなかった。実験Ⅱでも異常は認められなかった。

摂餌量を表1に示す。実験Ⅰでは、雌雄とも投与期間を通じて対照群とほぼ同様な推移を示した。1日当たりの摂餌量は雄において対照群が13.7gであるのに比し、各投与群はいずれも14g以上であり、摂餌量の減少は認められなかった。また雌においても同様の傾向が認められた。クロロフィルの総摂取量は、雄では5%群で195.4g/kg体重、1.66%群で66.1g、0.55%群で22.7g、0.18%群で7.5g、雌では5%群で239.8g、1.66%群で93.0g、0.55%群で27.3g、0.18%群で9.2gであり、雌雄ともに投与

Table 1. Food consumption and intake of chlorophyll

	Group	Food consumption (g/rat/day)		Daily intake (g/kg/day)		Total intake (g/kg)	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female
Exp. I	5%	14.0	9.4	2.146	2.635	195.366	239.841
	1.66%	14.8	9.6	0.726	0.911	66.146	92.950
	0.55%	14.7	9.5	0.249	0.300	22.705	27.323
	0.18%	14.5	9.8	0.082	0.100	7.532	9.157
	0%	13.7	9.4	—	—	—	—
Exp. II	vehicle	12.5	7.1	—	—	—	—
	0%	13.8	8.1	—	—	—	—

Table. 2 Serum biochemical and hematological data of F344 male rats treated with chlorophyll for 13 weeks

♂	Experiment I					Experiment II	
	5%	1.66%	0.55%	0.18%	0%	Vehicle	0%
TP(g/dl)	6.3 ± 0.2 ^{a)}	6.4 ± 0.2	6.4 ± 0.1	6.4 ± 0.2	6.3 ± 0.2	6.6 ± 0.2	6.5 ± 0.2
A/G	2.4 ± 0.1	2.5 ± 0.1*	2.6 ± 0.1*	2.5 ± 0.1*	2.3 ± 0.1	2.3 ± 0.3	2.3 ± 0.1
AIB(g/dl)	4.4 ± 0.1	4.5 ± 0.1	4.6 ± 0.1*	4.5 ± 0.1	4.4 ± 0.2	4.6 ± 0.2	4.5 ± 0.1
T.CHO(mg/dl)	61 ± 4	68 ± 5	66 ± 3	66 ± 7	66 ± 6	71 ± 6	66 ± 6
BUN(mg/dl)	20.5 ± 1.1	20.4 ± 1.8	19.0 ± 0.6	19.0 ± 1.8	18.8 ± 1.0	17.6 ± 1.0	18.0 ± 1.1
CRN(mg/dl)	0.3 ± 0	0.3 ± 0	0.3 ± 0	0.3 ± 0	0.2 ± 0	0.3 ± 0	0.3 ± 0
Ca(mg/dl)	10.5 ± 0.3	10.5 ± 0.2	10.5 ± 0.3	10.7 ± 0.2	10.4 ± 0.1	10.5 ± 0.1	10.3 ± 0.2
P(mg/dl)	6.2 ± 0.5	5.9 ± 0.3*	6.1 ± 0.2*	6.1 ± 0.4*	6.6 ± 0.3	5.6 ± 0.3	5.8 ± 0.4
Na(mEQ/l)	144 ± 1	145 ± 1	143 ± 1*	144 ± 1	145 ± 1	146 ± 1	146 ± 1
K(mEQ/l)	4.7 ± 0.2	4.7 ± 0.3	4.6 ± 0.1	4.4 ± 0.3*	4.7 ± 0.2	4.4 ± 0.1	4.4 ± 0.3
Cl(mEQ/l)	104 ± 1	105 ± 1	104 ± 1	105 ± 1	105 ± 1	106 ± 1	106 ± 1
γ-GT(IU/l)	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0
AsT(IU/l)	114 ± 17*	105 ± 12*	86 ± 10	78 ± 6	88 ± 10	86 ± 31	83 ± 12
ALT(IU/l)	69 ± 10*	69 ± 6*	67 ± 9	62 ± 4	59 ± 5	61 ± 11	57 ± 5
ALP(IU/l)	357 ± 14	333 ± 24	309 ± 28	320 ± 16	312 ± 101	336 ± 45	325 ± 20
WBC(10 ³ /μl)	52 ± 12*	48 ± 5	40 ± 4	41 ± 4	39 ± 7	44 ± 6	41 ± 6
RBC(10 ⁶ /μl)	969 ± 73	962 ± 40	893 ± 59	912 ± 22	925 ± 77	960 ± 25*	931 ± 24
Hb(g/dl)	16.0 ± 1.0	16.0 ± 0.6	15.2 ± 0.9	15.6 ± 0.3	15.8 ± 1.2	15.8 ± 0.3	15.4 ± 0.4
Ht(%)	46.5 ± 3.4	46.2 ± 1.8	42.9 ± 2.8	43.8 ± 0.9	44.4 ± 3.7	46.7 ± 1.0*	44.9 ± 1.1
MCV(fL)	48.0 ± 0.4	48.0 ± 0.3	48.0 ± 0.2	48.1 ± 0.4	48.0 ± 0.4	48.1 ± 0.4	48.2 ± 0.4
MCH(pg)	16.5 ± 0.2*	16.6 ± 0.1*	17.0 ± 0.3	17.1 ± 0.2	17.1 ± 0.4	16.5 ± 0.2	16.5 ± 0.2
MCHC(g/dl)	34.4 ± 0.4*	34.7 ± 0.3*	35.4 ± 0.5	35.7 ± 0.4	35.6 ± 1.0	33.8 ± 0.3	34.2 ± 0.3
PLT(10 ³ /μl)	79.1 ± 5.5	79.3 ± 4.3	77.4 ± 6.2	77.0 ± 4.7	78.0 ± 5.8	75.7 ± 1.7*	77.7 ± 2.0

^{a)}: Mean ± S.D.

*: Significantly different from the respective control group at p < 0.05

Table. 3 Serum biochemical and hematological data of F344 female rats treated with chlorophyll for 13 weeks

♀	Experiment I					Experiment II	
	5%	1.66%	0.55%	0.18%	0%	Vehicle	0%
TP(g/dl)	6.1 ± 0.2 ^{a)}	6.3 ± 0.2	6.3 ± 0.3	6.3 ± 0.2	6.2 ± 0.3	6.7 ± 0.3	6.5 ± 0.2
A/G	3.1 ± 0.1	3.0 ± 0.2	3.3 ± 0.4	2.9 ± 0.2*	3.3 ± 0.3	2.9 ± 0.2	2.8 ± 0.2
AIB(g/dl)	4.6 ± 0.1	4.7 ± 0.2	4.8 ± 0.2	4.7 ± 0.2	4.7 ± 0.2	5.0 ± 0.2	4.8 ± 0.1
T.CHO(mg/dl)	85 ± 8	95 ± 9	94 ± 10	92 ± 12	94 ± 11	95 ± 14	94 ± 9
BUN(mg/dl)	17.4 ± 1.3	18.2 ± 1.6	18.1 ± 2.4	18.8 ± 2.3	18.2 ± 2.4	16.2 ± 1.6	15.6 ± 1.5
CRE(mg/dl)	0.3 ± 0	0.3 ± 0	0.3 ± 0	0.3 ± 0	0.3 ± 0	0.3 ± 0	0.3 ± 0
Ca(mg/dl)	10.2 ± 0.1*	10.4 ± 0.21	10.3 ± 0.4	10.4 ± 0.2	10.7 ± 0.5	10.6 ± 0.4	10.2 ± 0.2
P(mg/dl)	5.6 ± 0.3*	6.2 ± 0.5	6.2 ± 0.7	5.9 ± 0.4*	6.9 ± 1.0	5.0 ± 0.8	5.4 ± 0.5
Na(mEQ/l)	144 ± 1	145 ± 1	145 ± 2	146 ± 1	145 ± 2	147 ± 3*	144 ± 1.1
K(mEQ/l)	4.4 ± 0.2	4.1 ± 0.4	4.4 ± 0.6	4.0 ± 0.3	4.6 ± 0.9	4.0 ± 0.7	4.0 ± 0.3
Cl(mEQ/l)	106 ± 1	106 ± 2	106 ± 1	107 ± 1	107 ± 2	107 ± 2	108 ± 1
γ-GT(IU/l)	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0
AsT(IU/l)	89 ± 7*	78 ± 6	75 ± 5	71 ± 6	74 ± 6	72 ± 8	69 ± 7
ALT(IU/l)	48 ± 5*	39 ± 4	41 ± 3	40 ± 3	42 ± 5	41 ± 5	39 ± 3
ALP(IU/l)	234 ± 26	204 ± 17	221 ± 23	201 ± 34	219 ± 25	201 ± 27	198 ± 34
WBC(10 ³ /μl)	38 ± 5*	38 ± 6*	29 ± 7	32 ± 5	29 ± 8	28 ± 9*	41 ± 9
RBC(10 ⁶ /μl)	884 ± 33	820 ± 46	844 ± 42	805 ± 54*	864 ± 42	862 ± 23	861 ± 26
Hb(g/dl)	16.0 ± 0.7	15.2 ± 0.7	15.6 ± 0.7	15.1 ± 1.1	15.8 ± 0.6	15.2 ± 0.4	15.4 ± 0.4
Ht(%)	44.4 ± 1.7	41.5 ± 2.5	42.7 ± 2.1	41.0 ± 2.8	43.6 ± 2.2	43.3 ± 1.1	43.4 ± 1.3
MCV(fL)	53.2 ± 9.6	50.6 ± 0.2	50.6 ± 0.2	50.9 ± 0.4	50.5 ± 0.2	50.2 ± 0.2	49.4 ± 3.3
MCH(pg)	18.1 ± 0.2	18.6 ± 0.2	18.5 ± 0.4	18.7 ± 0.4	18.4 ± 0.2	17.7 ± 0.1	17.9 ± 0.1
MCHC(g/dl)	36.2 ± 0.4	36.8 ± 0.6	36.6 ± 0.7	36.8 ± 0.8	36.4 ± 0.5	35.1 ± 0.2	35.5 ± 0.3
PLT(10 ³ /μl)	75.8 ± 4.7	77.6 ± 3.3	77.1 ± 5.4	74.6 ± 5.0	78.2 ± 5.4	75.8 ± 6.0	79.2 ± 4.8

^{a)}: Mean ± S.D.

*: Significantly different from the respective control group at p < 0.05

濃度に依存した摂取量であった。実験Ⅱでは無処置対照群と溶媒対照群の間に摂餌量に関する差は認められなかった。

3. 血液学的および血清生化学的検査

血液学的および血清生化学的検査の結果を表2および3に示す。実験Ⅰの雄において、AsTおよびALTは1.66%以上の群、A/G比は1.66%群～0.18%群、ALBは0.55%群で対照群に比し有意に増加し、Pは1.66%群～0.18%群、Naは0.55%群、Kは0.18%群で有意に減少した。WBCは5%群で有意に増加し、MCHおよびMCHCは1.66%以上の群で有意に減少した。雌でもAsTおよびALTが5%群で対照群に比し有意に増加したが、投与量に相關するものではなかった。また、A/G比は0.18%群、Caは5%群、Pは5%群および0.18%群で対照群に比し有意に減少した。WBCは1.66%以上の群で有意に増加し、RBCは0.18%群で有意に減少した。

実験Ⅱの雄において、RBCおよびHtは溶媒対照群で無処置対照群に比し有意に増加し、PLTは有意に減少した。雌においては、Naは溶媒対照群で対照群に比し有意に増加し、WBCは溶媒対照群で対照群に比し有意に減少した。また、実験ⅠおよびⅡで、白血球型別分類については雌雄ともに各群間に有意差を認めなかった。

4. 臓器重量

相対重量の結果を表4に示す。実験Ⅰで雄1.66%群の精巣(右)重量が対照群に比し有意に減少した以外、雌雄ラットのその他の臓器では、対照群と比し有意差は認められ

なかつた。また、実験Ⅱにおいても、両群間に有意差は認められなかつた。

5. 病理組織学的所見

病理組織学的所見の結果を表5に示した。肝臓における類洞壁細胞の空胞変性が雌雄の1.66%群、0.55%群および0.18%群で全例、肝細胞の空胞変性が雌雄の1.6%群、0.55%群および0.18%群でほぼ全例認められたが、5%群には観察されなかつた。その組織像は、類洞壁細胞が空胞を有し、その空胞内に結晶状の物質が散見された。これらの空胞を有する類洞壁細胞が肝細胞を圧排する像や、崩壊像も観察された。これに対し、肝細胞にみられた空胞は比較的小型であり、結晶状の物質の存在も明らかではなかつた。その他に、組織球を中心とする小肉芽腫が雌では5%群で軽微であるが9例みられた。いずれの変化も肝小葉内に散在し、分布に偏りはみられなかつた。肝細胞の変化は類洞壁細胞の変化がみられた部位に一致して観察されたが、肉芽腫の発生部位との関連性は明らかでなかつた。

腸間膜リンパ節の小肉芽腫が雄では5%群で1例、雌では5%群で2例、大腿骨の骨髓では組織球を中心とする大型の肉芽腫が雌では5%群で2例、1.66%群で1例、胸骨骨髓においても大腿骨骨髓と同様の所見が1.66%群で1例に認められた。対照群には変化が認められなかつた。

実験Ⅱでは溶媒対照群および対照群の肝臓、骨髓において上記の変化は見られなかつた。

Table. 4 Relative organ weights of rats treated with chlorophyll

♂	Experiment I					Experiment II	
	5%	1.66%	0.55%	0.18%	0%	Vehicle	0%
Body Weight(g)	326.0 ± 14.30 ^a	339.1 ± 15.12	325.5 ± 16.12	324.0 ± 21.46	324.0 ± 13.42	309.9 ± 14.1	315.2 ± 13.4
Liver(g%)	2.24 ± 0.05	2.24 ± 0.05	2.22 ± 0.07	2.25 ± 0.07	2.24 ± 0.05	2.19 ± 0.06	2.24 ± 0.05
Heart(g%)	0.29 ± 0.02	0.28 ± 0.02	0.29 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.29 ± 0.01
Kidney(R)(g%)	0.29 ± 0.02	0.29 ± 0.01	0.30 ± 0.01	0.30 ± 0.01	0.30 ± 0.01	0.27 ± 0.01	0.29 ± 0.01
(L)(g%)	0.30 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.30 ± 0.01	0.31 ± 0.01	0.31 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.29 ± 0.01
Testis(R)(g%)	0.47 ± 0.03	0.45 ± 0.04*	0.46 ± 0.02	0.47 ± 0.02	0.49 ± 0.02	0.49 ± 0.02	0.48 ± 0.02
(L)(g%)	0.48 ± 0.03	0.46 ± 0.02	0.49 ± 0.02	0.48 ± 0.02	0.48 ± 0.02	0.49 ± 0.04	0.49 ± 0.02
Brain(g%)	0.62 ± 0.02	0.58 ± 0.03	0.61 ± 0.02	0.61 ± 0.04	0.61 ± 0.02	0.62 ± 0.03	0.61 ± 0.03
Lung(R)(g%)	0.22 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.20 ± 0.03	0.19 ± 0.01	0.20 ± 0.01
(L)(g%)	0.12 ± 0.00	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01
Adrenal(R)(g%)	0.0047 ± 0.0008	0.004 ± 0	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0	0.005 ± 0
(L)(g%)	0.0052 ± 0.008	0.005 ± 0	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.001
Spleen(g%)	0.21 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.19 ± 0.01

♀	Experiment I					Experiment II	
	5%	1.66%	0.55%	0.18%	0%	Vehicle	0%
Body Weight(g)	178.6 ± 7.910	175.9 ± 5.855	177.6 ± 4.448	180.8 ± 6.202	175.3 ± 6.486	153.5 ± 7.1	155.4 ± 8.0
Liver(g%)	2.20 ± 0.12	2.20 ± 0.06	1.94 ± 0.68	2.22 ± 0.09	2.17 ± 0.07	2.18 ± 0.28	2.14 ± 0.10
Heart(g%)	0.33 ± 0.02	0.34 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.35 ± 0.03	0.35 ± 0.02	0.33 ± 0.01	0.35 ± 0.01
Kidney(R)(g%)	0.32 ± 0.02	0.33 ± 0.01	0.33 ± 0.01	0.34 ± 0.02	0.33 ± 0.01	0.30 ± 0.02	0.32 ± 0.01
(L)(g%)	0.32 ± 0.02	0.32 ± 0.02	0.56 ± 0.71	0.34 ± 0.02	0.33 ± 0.01	0.30 ± 0.02	0.33 ± 0.01
Brain(g%)	1.01 ± 0.04	1.03 ± 0.04	1.03 ± 0.03	1.02 ± 0.03	1.02 ± 0.05	1.13 ± 0.05	1.12 ± 0.05
Lung(R)(g%)	0.28 ± 0.02	0.28 ± 0.02	0.28 ± 0.02	0.27 ± 0.02	0.28 ± 0.02	0.26 ± 0.01	0.28 ± 0.03
(L)(g%)	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.02
Adrenal(R)(g%)	0.011 ± 0.001	0.011 ± 0.001	0.011 ± 0.001	0.011 ± 0.002	0.012 ± 0.001	0.011 ± 0.001	0.011 ± 0.002
(L)(g%)	0.012 ± 0.001	0.013 ± 0.001	0.013 ± 0.007	0.013 ± 0.002	0.013 ± 0.001	0.011 ± 0.002	0.012 ± 0.003
Spleen(g%)	0.24 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.23 ± 0.02	0.23 ± 0.01

^a: Mean ± S.D.

*: Significantly different from the respective control group at p < 0.05

Table. 5 Histopathological findings in rats treated with chlorophyll

		Male					Female												
		5%		1.66%		0.55%	0.18%		0%	5%		1.66%		0.55%	0.18%		0%		
		-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-		
Liver	vacuolar degeneration of sinusoidal cell	10	0	0	10	0	10	0	10	0	0	10	0	10	0	10	0		
	vacuolar degeneration of hepatocyte	10	0	0	10	0	10	0	10	0	0	10	0	10	0	1	9	10	0
Mesenteric lymph node	microgranuloma	9	1	10	0	10	0	10	0	10	0	8	2	10	0	10	0	10	0
Femoral bone marrow	microgranuloma	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	8	2	9	1	10	0	10	0
Sternum bone marrow	microgranuloma	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	9	1	10	0	10	0
Small intestine	microgranuloma	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0

- : negative and/or weakly positive, + : positive

考 察

クロロフィルの毒性は、マウスへの経口投与で $LD_{50} \geq 10 \text{ g/kg}$ 、腹腔内投与で $LD_{50} = 400 \text{ g/kg}$ 、静脈内投与で $LD_{50} = 285 \text{ g/kg}$ 、モルモットの静脈内投与で $LD_{50} = 80 \text{ g/kg}$ であり、変異原性試験は Ames test の TA 98, TA100, TA1537, TA1535 および TA1538 を用いた試験で陰性の報告がある¹⁾。一方、クロロフィルは 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-*b*]indole (Trp-P-2) およびその誘導体である 3-hydroxyamino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-*b*]indole に対して、ショウジョウバエの系³⁾ および Ames 試験系⁴⁾において変異原性を阻害するとの報告がある。さらにクロロフィリンは *in vivo* で 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) の乳腺発癌を抑制し、乳腺における PhIP-DNA 付加体の形成も抑制した報告もある⁵⁾。クロロフィルの毒性の報告はないが、その分解産物であるフェオフォルバイド a やピロフェオフォルバイド a は、光照射下において活性酸素を生成し、これが細胞障害を引き起こし、皮膚過敏症を発生させる報告がある²⁾。実験に供した飼料には、日本葉緑素に依頼してフェオフォルバイドを測定した結果、検出されなかった。クロロフィルは動物室内の条件下で放置すると、微量のフェオフィチンが生成され、クロロフィラーゼの存在下でフェオフォルバイドが生成される。しかしクロロフィルのアセトン抽出物中にはクロロフィラーゼが存在しないために、フェオフォルバイドは生成されなかつたものと考えられる。飼料中における分解を防止するために α -トコフェロールを添加し、粉末給餌器に遮光

用のステンレス板を置き、飼料は頻回に交換した。

今回の実験では雌雄とともに体重の増加抑制、または臓器重量の減少はほとんど認められなかった。病理組織学的検索で全動物の全臓器を検索した結果、肝および種々のリンパ節に軽度の変化がみられた。雌雄の 5 % 投与群を除く投与各群で、肝細胞および類洞壁細胞の空胞変性が認められた。この変化は発生部位がほぼ一致していることから相互の関連性が示唆されるが、類洞壁細胞の空胞性変化は肝細胞のそれに比し、程度が強いこと、双方の空胞に形態的な差異が認められることなどから、発生機序が異なる可能性も推測された。これらの変化は発生部位が散在性で、用量相関性も認められていないことから、被験物質投与に起因する可能性は低いと考えられる。その他に雌の 5 % 群で肝の小肉芽腫が発生したが、この病変は軽微で、5 % 群のみに発生し被験物質の用量相関性がないこと、雌に限定していることから、被験物質投与に起因する可能性は低いと考えられた。

雌雄の腸間膜リンパ節および雌のパイエル板、大腿骨および胸骨骨髓に肉芽腫性変化が観察され、5 % 投与群で増加あるいは増強される傾向が示されたが、発生が比較的低頻度であることから被験物質投与による影響とは断定できなかった。また雌雄の 1.66 % 以上の群で AsT および ALT は増加したが、それに相応する病理組織学的变化は認められなかったことから、被験物質投与による影響とは断定できなかった。その他に雄の投与群の A/G 比、ALB、P、Na、K、WBC、MCH および MCHC、雌の投与群の A/G 比、Ca、P、WBC、RBC、実験 II の雄における RBC、Ht、

PLT, 雌における Na, WBC の変動は比較的軽度な変動であり、いずれも亜慢性毒性試験における対照群の背景データの範囲内にあり、他の関連するパラメータにも著しい変化が認め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⁶⁻⁸。実験Ⅱの溶媒対照群の雄において RBC, Ht および PLT に、雌の Na および WBC に変動が認められたが、変動幅が比較的小さいことから、実験Ⅰと同様に毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。

以上の結果、クロロフィルを混餌で13週間雌雄のラットに投与したところ、被験物質に起因すると思われる変化は最高濃度の5%でも病理組織学的に顕著な毒性変化は認められなかつたため、無毒性量は5%と考えられるが、肝臓およびリンパ節の肉芽腫形成を踏まえ、無影響量は1.66%と推定された。

文 献

- 1) 藤井正美監修、清水孝重、中村幹雄著：“概説「食用天然色素」” pp. 127-131 光琳 東京 (1993)
- 2) 糸川嘉則責任編集、毒性試験講座16 食品、食品添加物 pp. 173-187 地人書館 東京 (1992)
- 3) Negishi, T., Arimoto, S., Nishizaki, C. and Hayatsu, H.:

Inhibitory effect of chlorophyll on the genotoxicity of 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole (Trp-P-2). *Carcinogenesis*, **10**, 145-149 (1989)

- 4) Arimoto, S., Ohara, Y., Namba, T., Negishi, T. and Hayatsu, H.: Inhibition of the mutagenicity of amino acid pyrolysis products by hemin and other biological pyrrole pigments. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **77**, 245-250 (1980)
- 5) Hasegawa, R., Hirose, M., Kato, T., Hagiwara, A., Boonyaphiphat, P., Nagao, M., Ito, N. and Shirai, T.: Inhibitory effect of chlorophyllin on PhIP-induced mammary carcinogenesis in female F344 rats. *Carcinogenesis*, **16**, 2243-2246 (1995)
- 6) 池崎信一郎、西川秋佳、古川文夫、今沢孝喜、榎並倫宣、三井雅之、高橋道人：F344 ラットを用いたL-ヒスチジン塩酸塩の13週間亜慢性毒性試験。衛生試験所報告, **112**, 57-63 (1994)
- 7) 池崎信一郎、西川秋佳、古川文夫、今沢孝喜、三井雅之、榎並倫宣、高橋道人：ジョサマイシンのF344 ラットにおける13週間亜慢性毒性試験。衛生試験所報告, **113**, 44-50 (1995)
- 8) 小野寺博志、三森国敏、安原加壽雄、竹川 潔、高橋道人：ファフィア色素のF344 ラットにおける13週間亜慢性毒性試験。国立医薬品食品衛生研究所報告, **115**, 99-106 (1997)

逆相系高速液体クロマトグラフィーによる食品添加物“ミックストコフェロール”
オイル製剤中のトコフェロール同族体の定量

辻 澄子[#]・三島郁子・石光 進・柴田 正・外海泰秀

Determination of Tocopherols in Oils of Mixed Tocopherol as Food Additive using
Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography

Sumiko Tsuji[#], Ikuko Mishima, Susumu Ishimitsu, Tadashi Shibata and Yasuhide Tonogai

Simultaneous determination of four tocopherols was developed using reverse-phase high-performance chromatography with a mixture of methanol and water (88:12) as a mobile phase. The α -, β -, γ - and δ -tocopherols in oils of mixed tocopherol as food additive were determined. It is clarified that the proposed method is useful for the quality control of food additive.

Keywords: tocopherol, food additive, RP-HPLC, separation of β -and γ -tocopherol

はじめに

既存添加物のミックストコフェロールは、マメ科ダイズ (*Glycine max* MERR.), アブラナ科アブラナ (*Brassica campestris* L.) 等の植物油脂より、分離精製して得られたものである¹⁾。その成分は Fig. 1 及び Table 1 に示したように、 α -、 β -、 γ -及び δ -トコフェロール(Toc)の4種類の同族体の混合物で、いずれも *d*-体 (*RRR*-体) であり、その組成比は原料により異なる。添加物としての用途は栄養強化剤及び酸化防止剤である。 α -、 β -、 γ -及び δ -の4種のToc同族体のうち、ビタミンEの生物学的効力活性は α -Tocが一番強く、 α -Tocを1とした場合に対して、 β -Tocは0.3、 γ -Tocは0.1、 δ -Tocは0.02であるといわれている²⁾。したがって、栄養学的には、食品によってその4種のToc同族体の含有量組成が異なるため、それぞれの同族体を同時に分析することが非常に重要となる。一方、ラードのメチルエステルを基質にした場合の抗酸化力は、90°Cにおいて、 δ -Toc、 γ -Toc、 β -Toc、 α -Tocの順である³⁾。従って、酸化防止剤として用いられた場合の食品衛生学的側面からも4種類の同族体の含有量組成を分析することは重要となる。

現在、4種のToc同族体を定量する方法としては、 β -及び γ -Tocを分離定量できる順相系高速液体クロマトグラフィー (NP-HPLC) 法が行われており、逆相系高速液

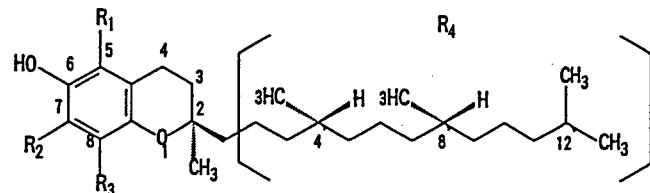


Fig. 1 Structure of tocopherol
 $R_1 \sim R_3 : -H$ or $-CH_3$

体クロマトグラフィー (RP-HPLC) では、 β -及び γ -が分離できないといわれている⁴⁻⁷⁾。しかし、NP-HPLC法は大量の有機溶媒を消費するため、RP-HPLCを用いる定量法の開発が望まれている。RP-HPLCを用いた分析法としては、里村らが65%イソプロパノール溶液を用いたRP-HPLC法により β -及び γ -Tocを分離した報告⁸⁾があるが、Tocの溶出に時間を要する。著者らは最近の高分解能HPLCカラムの開発に注目して、種々の逆相分配型カラムについて検討した。その結果、アミド型オクタデシルシラン (アミド型ODS) カラムを用いることにより、水・メタノール混液を移動相として β -及び γ -Tocが分離できることを見いだした。そこで、食品添加物“ミックストコフェロール”的オイル製剤中の4種のToc同族体の組成分析を検討した結果、絶対検量線法を用いて定量でき、食品添加物の品質管理への適用が可能であることが判明したので報告する。

* To whom correspondence should be addressed: Sumiko Tsuji; 1-1-43, Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-941-1533 ext.37; Fax: 06-942-0716; E-mail: tsuji@nihs.go.jp

Table 1 Trivial name, abbreviation, chemical name and molecular weight of tocopherols

Trivial name	Abbreviation	Chemical name	R ₁	R ₂	R ₃	Molecular weight
d- α -Tocopherol	α -Toc	5,7,8-Trimethyltocol	CH ₃	CH ₃	CH ₃	430.71
d- β -Tocopherol	β -Toc	5,8-Dimethyltocol	CH ₃	H	CH ₃	416.69
d- γ -Tocopherol	γ -Toc	7,8-Dimethyltocol	H	CH ₃	CH ₃	416.69
d- δ -Tocopherol	δ -Toc	8-Methyltocol	H	H	CH ₃	402.64
Toc		2-Methyl-2-(4',8',12'-trimethyltridecyl) chroman-6-ol	H	H	H	388.63

実験方法

1. 試料

食品添加物協会より供与されたミックストコフェロールオイル製剤を用いた。

2. 試葉・試液

- ① エタノール：HPLC 用エタノールを用いた。
- ② メタノール：HPLC 用メタノールを用いた。
- ③ ビタミン E 同族体セット：エーザイ(株)製の標準品を用いた。

他の試葉は JIS 試葉特級品を用いた。

3. 標準液の調製

① Toc 同族体の標準原液

ビタミン E 同族体セットの α -, β -, γ - 及び δ -Toc をそれぞれ 20 mg ずつ正確に量り、それぞれ 20 mL の褐色メスフラスコに入れ、エタノールを加えて溶かし、正確に 20 mL とし、標準原液とした（この液 1 mL は、各 Toc 1,000 μ g を含む）。Toc は、紫外線や空気に触れると酸化されやすいので、調製した溶液は共栓付き褐色びんに入れ、窒素ガスを充満し、密栓して冷暗所に保存した。

② Toc 同族体の標準溶液

各標準原液をエタノールで適宜希釈し、1, 5, 10, 20, 30, 50, 100 μ g 及び 200 μ g/mL の溶液を調製し、検量線用標準液とした。窒素ガスを充満し、密栓して冷暗所に保存した。

4. 試料溶液の調製

ミックストコフェロール製剤約 20 mg を精密に量り、20 mL の褐色メスフラスコに入れ、エタノールを加えて溶かし、正確に 20 mL とした。その液 2 mL を正確に量り、エタノールで、正確に全量 50 mL とした。標準溶液と同様に、窒素ガスを充満し、密栓して冷暗所に保存した。

5. 装置

- ① HPLC 装置：Waters 600E System Controller, Waters Model 510 HPLC Pump, Waters 717 Auto Sampler.
- ② 紫外部吸収(UV)検出器：Jasco UV-970 Intelligent UV/VIS Detector.
- ③ データ処理装置：Waters 805 Data Station, NEC 98 note ST/T personal computer, Canon Bubble Jet Printer BJ-15v.

④ 液体クロマトグラフー質量分析計(LC/MS)：

Hewlett Packard HP1110-LC1100MSD.

6. HPLC 条件

① カラム：SUPELCOSIL-TM ABZ + PLUS

ϕ 4.6 mm × 150 mm, 5 μ m.

(アミド型 ODS)

② 流量：1.0 mL/min.

③ カラム温度：40 °C.

④ 試料注入量：5 μ L.

⑤ 検出波長：295 nm.

⑥ 移動相：メタノール：水 = 88:12 (v:v)

実験結果及び考察

1. HPLC 条件の検討

4 種の Toc 同族体のうち、構造異性体である β - 及び γ -Toc は ODS カラムでの分離が難しく、里村らは YMC-PACK A-302 S-5 120A ODS ϕ 4.6 mm × 150 mm を用いて、65% イソプロパノールで δ -, γ -, β -, α -Toc の順に溶出分離し、他の ODS カラムでは分離できないと報告している⁸。しかし、その分離はカラムの性状によるところが大きいとしているが、詳細な説明はない。我々は、近年の高分離能の ODS カラムの開発に伴い、 β - 及び γ -Toc の分離が可能ではないかと考え、RP-HPLC 法を検討した。種々のカラムについて検討した結果、里村らの 65% イソプロパノールでは、 β - 及び γ -Toc は重なるが、メタノール：水 (88:12) を用いた時、アミド型 ODS カラムである SUPELCOSIL-TM ABZ + PLUS ϕ 4.6 mm × 150 mm カラムのみ、分離することを見いだした。また、その溶出順位は YMC-PACK A-302 S-5 120A ODS カラムと異なって Fig. 2(a) に示したように、 δ -, β -, γ -, α -Toc の順であった。すなわち、構造異性体の β -, γ -Toc の溶出順位は順相分配型カラムでの溶出順位に相当し、他はトコールのメチル基の数に比例した溶出順位で逆相分配型カラムの溶出順位と同じであった。これは、SUPELCOSIL-TM ABZ + PLUS のアミド基との吸着が β -, γ -Toc の分離に影響したと考えられる。一方、YMC-PACK A-302 S-5 120A ODS カラムは残存シラノール基 (Si-OH) との吸着が考えられ、エンドキャッピングが不十分なカラムを利用したものと考えられる。

SUPELCOSIL-TM ABZ + PLUS の移動相の水を 5 % 醋

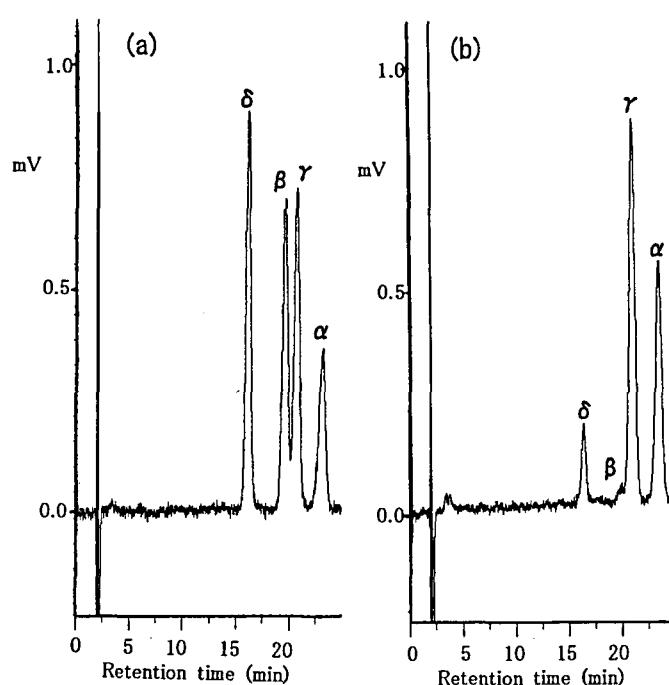


Fig. 2 HPLC chromatograms of standard tocopherols and oily mixed tocopherol
a) Each standard tocopherol : 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$
b) Oily mixed tocopherol, sample B : 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$

酸に変更することにより、溶出時間が少し速くなり、ピーク面積は約1.1倍から1.5倍位に増加し、リーディング現象がやや強調された。また、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の β -及び γ -Tocの分離度(Rs)は、1.38から1.40に上昇した。すなわち、酸性にすることによりカラム内での遊離型Tocの比率が増加してピーク面積が増加し、アミド型ODSカラムからの脱着がしやすくなったと考えられる。しかし、品質管理においては簡便な方法が利用しやすいため、移動相として

水・メタノール混液を用いることにした。

2. Toc 同族体の溶出時間及びピーク面積のばらつき

4種のToc同族体の標準溶液及び試料溶液の溶媒にエタノールを用いたため、注入量及び注入回数が増加するにつれて溶出時間が早くなる傾向を示した。そこで、標準溶液の注入量を5 μl とした時の各Toc同族体の溶出時間及びピーク面積のばらつきを検討した。Table 2に示したように、溶出時間についてはCV%で0.3%以内に、ピーク面積についてはCV%で3%以内に収まった。また、検量線は2.5 ng～2,000 ngの間で直線関係が成立した。

3. ミックストコフェロールオイル製剤中の各Toc同族体の組成分析

開発したRP-HPLC法を用いて食品添加物ミックストコフェロールの種々のオイル製剤中の各Toc同族体を分析したところ、Table 3に示したように、製剤により組成が非常に異なることが明らかになった。

ミックストコフェロールオイル製剤のHPLCクロマトグラムをFig.2のb)に示した。

組成分析からみると、ミックストコフェロールといつても、試料Eのように、ほとんど δ -Tocだけのものもあつた。 δ -Tocも既存添加物のひとつであり、その抗酸化力は大きい。したがって、ミックストコフェロール及び δ -Tocの規格を定めることは急務であると考えられる。また、ミックストコフェロールの栄養強化剤への用途を考え合わせると、ミックストコフェロールのRP-HPLC法による組成分析は食品衛生上ばかりでなく、栄養学上からも、非常に有用であると考えられる。

4. LC/MSへの適用

HPLCの移動相は水・メタノール混液であるので、LC/MSによる分析が容易である。そこで、4種のToc同族体の確認手段として、標準溶液についてLC/MS分析を行

Table 2. Retention times and peak areas of tocopherols

Tocopherol	Retention time (min)			Peak area		
	Mean	± S.D.	CV %	Mean	± S.D.	CV %
α -Toc	23.42	± 0.07	0.29	14639	± 479	3.3
β -Toc	19.76	± 0.06	0.29	24640	± 362	1.5
γ -Toc	20.97	± 0.06	0.29	25597	± 81	0.3
δ -Toc	16.37	± 0.05	0.31	25376	± 481	1.9

n=5

Table 3 Content of tocopherols in oily mixed tocopherol as food additive

Sample	α -Toc	β -Toc	γ -Toc	δ -Toc	Total	%
A	6.9 ± 0.3 ^{a)}	1.1 ± 0.6	37.5 ± 0.1	24.7 ± 0.7	70.2 ± 0.4	
B	40.0 ± 0.3	1.3 ± 0.2	35.4 ± 0.1	5.3 ± 0.1	81.9 ± 0.4	
C	3.4 ± 0.4	0.6 ± 0.3	26.1 ± 0.4	14.6 ± 0.3	45.0 ± 0.7	
D	42.1 ± 1.0	ND ^{b)}	22.8 ± 0.3	20.7 ± 0.3	85.6 ± 1.5	
E	ND	ND	3.2 ± 0.1	78.9 ± 0.2	82.1 ± 0.1	
F	13.0 ± 0.2	1.8 ± 0.1	48.3 ± 0.3	29.3 ± 0.4	92.4 ± 0.8	

a) Mean ± S.D. (n=3)

b) Not detected (less than 0.5%).

った。その結果、ESI の負モードで α -、 β -、 γ -及び δ -Toc の擬分子イオン ($M-H^-$) は、それぞれ m/z 429.3, 415.2, 415.2, 401.3 を示した。また構造異性体である β -及び γ -Toc の m/z が同一であった。この結果は本 HPLC 条件下で LC/MS による各 Toc の確認ができる事を示している。

ま　と　め

RP-HPLC 法を用いて、メタノール-水 (88:12) のアイソクラティック条件で、4種の Toc 同族体の分離定量法を開発し、食品添加物ミックストコフェロールのオイル製剤に適用した。その結果、ほとんど δ -Toc だけのものも存在することが明らかになった。

RP-HPLC 法は、NP-HPLC 法に比較して有機溶媒としてはメタノールの使用だけであり、取り扱いが簡単である。また、この方法は、LC/MS にも適用できた。

謝　　辞

ミックストコフェロール製剤を供与していただいた日本食品添加物協会(財)、また Toc 同族体の LC/MS 分析をしていただいた横河アナリティカルシステムズ(株)に深謝いたします。

本研究の一部は平成 7 年度の食品検査費によるものである。

文　　献

- 1) 厚生省生活衛生局食品化学課：“第一版 化学的合成品以外の食品添加物リスト” pp.44-45 (1989)
- 2) 林 弘道、宮川あし子、原田行雄、一色賢司、加藤丈夫、神藏美枝子、黒田弘之、後藤宗彦、坂部義雄、佐々木清司、白石由美子、西島基弘、深澤喜延、横山 剛、森口 裕、内山壽紀、城 照男、四方田千佳子、伊藤 誠志男、栄食誌, **40**, 457-462 (1987)
- 3) 日本食品添加物協会技術委員会編：“第一版 化学的合成品以外の食品添加物リスト注解書（平成三年度版）”，日本添加物協会、東京, p215 (1991)
- 4) 日本薬学会編，“衛生試験法・注解”，金原出版、東京, pp.353-356 (1990)
- 5) 阿部皓一、勝井五一郎：ビタミン, **49**, 259-263 (1975)
- 6) Abe, K. and Matsumoto, A.: “Vitamin E-Its Usefulness in Health and in Curing Diseases” (Mino,M. et al.,eds.), Japan Sci. Soc. Press, Tokyo, pp.13-19 (1993)
- 7) Tamai, H., Manago, M., Yokota, K. and Mino, M.: *Int. J. Vit. Nutr. Res.*, **58**, 202-207 (1988)
- 8) 里村由紀子、木村美恵子、平池秀和、糸川嘉則、ビタミン, **67**, 111-119 (1993)

糖鎖含有タンパク製剤の品質評価試験法に関する研究（II） —エリスロポエチン製剤 その2

川崎ナナ[#]・太田美矢子・日向須美子・橋本 統
森本和滋・早川堯夫

Study on evaluating methods for the quality control of glycoprotein products. (II)
— Erythropoietin products. Part 2

Nana Kawasaki[#], Miyako Ohta, Sumiko Hyuga, Osamu Hashimoto,
Kazushige Morimoto and Takao Hayakawa

Using recombinant human erythropoietin (rh-EPO) from three different sources, the usefulness of HPAEC-PAD (high-pH anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection) for evaluation of carbohydrate moieties of rh-EPO products was evaluated. It is well known that *in vivo* bioactivity and metabolic fate of EPO are dependent on the number of sialic acids and the degree of branching in the carbohydrate moieties. Here we show that HPAEC analysis reveals differences in the number of sialic acids as well as in the structure of desialylated *N*-glycans among the rh-EPO products. Therefore, HPAEC is useful for evaluation of the quality of rh-EPO products.

Keywords: erythropoietin, HPAEC-PAD, quality control

緒 言

バイオテクノロジーを応用した医薬品開発の進展はめざましく、生理活性を有する様々な糖タンパク質が新薬あるいは関連医薬品として開発・製造されている。遺伝子組換え糖タンパク質において、タンパク質部分の一次構造は挿入遺伝子によって決定されるが、糖鎖部分の構造は、生産細胞が有する糖転移酵素群の発現状況に依存するため、細胞の種類、発現方法、培養条件などの要因によって左右されること、また、糖タンパク質の各糖鎖結合部位に結合している糖鎖の構造には、常に多かれ少なかれ不均一性が存在することが知られている。さらに、糖鎖部分の構造は、生物活性、体内動態および安定性等に大きく寄与していることが明らかにされており、糖鎖含有タンパク製剤を評価するにあたって、糖鎖部分の分子多様性を正しく解析することが必要であるとされている^{1,2)}。しかし、糖鎖構造解析には、依然として長い時間と特別な技術が必要とされており、迅速かつ簡便な標準的試験法の確立が期待されている。

エリスロポエチン (EPO) は、赤芽球細胞の増殖分化に不可欠な糖鎖含有造血ホルモンで、組換え型ヒト

EPO (rh-EPO) は、多くの透析患者によって貧血治療薬として用いられている。EPOには、3本の*N*-結合型糖鎖と1本の*O*-結合型糖鎖が結合しており、特に、*N*-結合型糖鎖はEPOの生物活性ならびに体内挙動に大きく関与していることが報告されている³⁾。筆者らは、前報において⁴⁾、HPAEC-PAD (High-pH anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection) を用いて2種のrh-EPOの糖鎖を分析し、HPAECはrh-EPOのシアロ糖鎖の分布を解析する手段として有用であることを示した。今回は、HPAECを用いて、3種のrh-EPOの糖鎖部分についてシアロ糖鎖およびアシアロ糖鎖の分析を行い、EPO製剤の糖鎖部分の評価法としてのHPAEC法の有用性についてさらに検討した。

実験方法

1. 試 薬

3種のrh-EPOはキリンビール(株)社、中外製薬(株)社並びに雪印乳業(株)社より供与された (rh-EPO-A, rh-EPO-B および rh-EPO-C と記す (順不同))。50%水酸化ナトリウム溶液は、フィッシャーケミカル(株)社製を、酢酸ナトリウムは、和光純薬(株)社製を用いた。また、*N*-グリコシダーゼFおよびシアリダーゼはそれぞれベーリングガーマンハイム(株)社およびナカライトスク(株)社のものを使用した。

[#] To whom correspondence should be addressed: Nana Kawasaki; Kamiyoga 1-18-1 Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel:03-3700-9074; Fax:03-3707-6950; E-mail: nana@nihs.go.jp

2. 装 置

HPAEC : ダイオネックスイオンクロマトグラフィーシステム DX-300

検出器：ダイオネックスパルスドエレクトロケミカル検出器 (PED)

3. N-結合型シアロ糖鎖の遊離

rh-EPO (200 μg) を 200 μl の 10 mM 酢酸アンモニウム溶液, pH 8.5 に溶解させ, N-グリコシダーゼ F (660 mU) を 37 °C で 20 時間反応させた。反応終了後, 440 μl の冷エタノールを加えて 4 °C で 24 時間放置した。オリゴ糖を上清として回収し, 遠心濃縮装置を用いて乾固した。200 μl の蒸留水を加えて試料溶液とし, その 25 μl を HPAEC で分析した。

4. アシアロ糖鎖の調製

上記で調製した N-結合型シアロ糖鎖溶液 100 μl にシアリダーゼ 20 mU を加えて 37 °C 18 時間反応させた。つぎに, ACIPLEX カートリッジ AC-230-10 を用いたマイクロアシライザー S1 (旭化成(株)社製) により遊離シアアル酸を一部除去し, 遠心濃縮装置を用いて試料を乾固した。200 μl の蒸留水を加えて試料溶液とし, 10 μl を HPAEC に注入した。

5. シアロ糖鎖およびアシアロ糖鎖の HPAEC

カラム：PA-1 カラム (ダイオネックス社製, 0.46 x 25 cm)

溶離液 A : 100 mM NaOH

溶離液 B : 100 mM NaOH

500 mM 酢酸ナトリウム

グラジェントプログラム

アシアロ糖鎖の分析：B 液 0~30% (0~25分)

シアロ糖鎖の分析：B 液 6~40% (0~100分)

流速：1 ml/min

印加電圧プログラム：

E₁ : 0.05 V t₁ = 480 ms

E₂ : 0.6 V t₂ = 120 ms

E₃ : -0.6 V t₃ = 60 ms

ポストカラム試液：500 mM NaOH

ポストカラム試液流速：0.8 ml/min

結 果

1. シアロ糖鎖の HPAEC

3 種の rh-EPO (rh-EPO-A, rh-EPO-B および rh-EPO-C) を N-グリコシダーゼ F で処理し, 遊離された N-結合型シアロ糖鎖を HPAEC-PAD を用いて分析した。前報⁴⁾で用いた分離条件は, シアル酸結合数の違いを比較するには充分であったが, シアル酸結合数が同じである糖鎖間の分離には不充分であったため, 今回は異なる分離条件を用いた。その結果得られたクロマトグラムを Fig. 1 に示す。また, 各クロマトグラム中のピークには, 保持時間の早い

順に 1 から 14 の番号を付けた。まず, HPAEC によって 3 種の EPO の糖鎖は, いずれもオリゴ糖あたりのシアル酸結合数の違いによってピークが大きくわかれることが確認された。さらに, 各クロマトグラムのジシアロ糖鎖, トリシアロ糖鎖およびテトラシアロ糖鎖の溶出位置にそれぞれいくつかのピークが検出され, HPAEC によって EPO 糖鎖は, シアル酸結合数が同じ糖鎖において構造の違いによって分離されることが確認された。また, 各 EPO 糖鎖の溶出パターンを比較することによって, rh-EPO-A と rh-EPO-B に結合している糖鎖はほぼ同じ種類のことであること, 一方, rh-EPO-C については, テトラシアロ糖鎖の分布 (ピーク 9~14) は rh-EPO-A および rh-EPO-B のテトラシアロ糖鎖の分布と類似しているが, トリシアロ糖鎖およびジシアロ糖鎖部分 (ピーク 3~8) に違いがあることが明らかになった。

つぎに, 各 EPO において, Fig. 1 で得られたピーク 1 から 14 の面積比を比較したところ, rh-EPO-A および rh-EPO-B は, 構成糖鎖の種類は同じであるが, 糖鎖の構成比に差があることが明確となり, rh-EPO-A はジシアロ糖鎖およびトリシアロ糖鎖の割合が高く, rh-EPO-B はテトラシアロ糖鎖の割合が高いことが確認された (Fig. 2)。また, rh-EPO-C は, 他の EPO よりテトラシアロ糖鎖の割合が高いことが明らかになった。

2. アシアロ糖鎖の HPAEC

各 EPO 糖鎖をシアリダーゼで処理し, 得られたアシアロ糖鎖を HPAEC で分析したところ, Fig. 1 で認められた多数のピークはいくつかのピークに集約されることが確認され, 各 EPO 糖鎖のミクロ不均一性は, シアル酸の結合状態の違いに起因するところが大きいことが示唆された (Fig. 3)。3 種の EPO 由来アシアロ糖鎖の溶出パターンを比較すると, シアロ糖鎖の分布が類似していた rh-EPO-A および rh-EPO-B 由来糖鎖は, アシアロ糖鎖においても類似した溶出パターンを示すことが確認された。また, rh-EPO-C からは, rh-EPO-A や rh-EPO-B には認められないピークも検出され, HPAEC を用いることによって, EPO に結合している糖鎖について, シアル酸の結合状態の違い以外の構造変化を調べることができることが確認された。

考 察

EPO の糖鎖部分は, 生物活性, 体内動態及び安定性に影響を及ぼすことが報告されている¹⁾。特にシアル酸については, EPO の *in vivo* 活性はシアル酸含量が増加するにつれて増加すること^{3,7)}, また, α -2,6-sialyltransferase を用いて糖鎖の非還元末端にシアル酸を導入することによって活性が増大することから⁷⁾, シアル酸結合数が大きいほど活性が高いことが明らかにされている。さらに, 2 本鎖糖鎖の割合が高い EPO は, 4 本鎖糖鎖に富む EPO に比

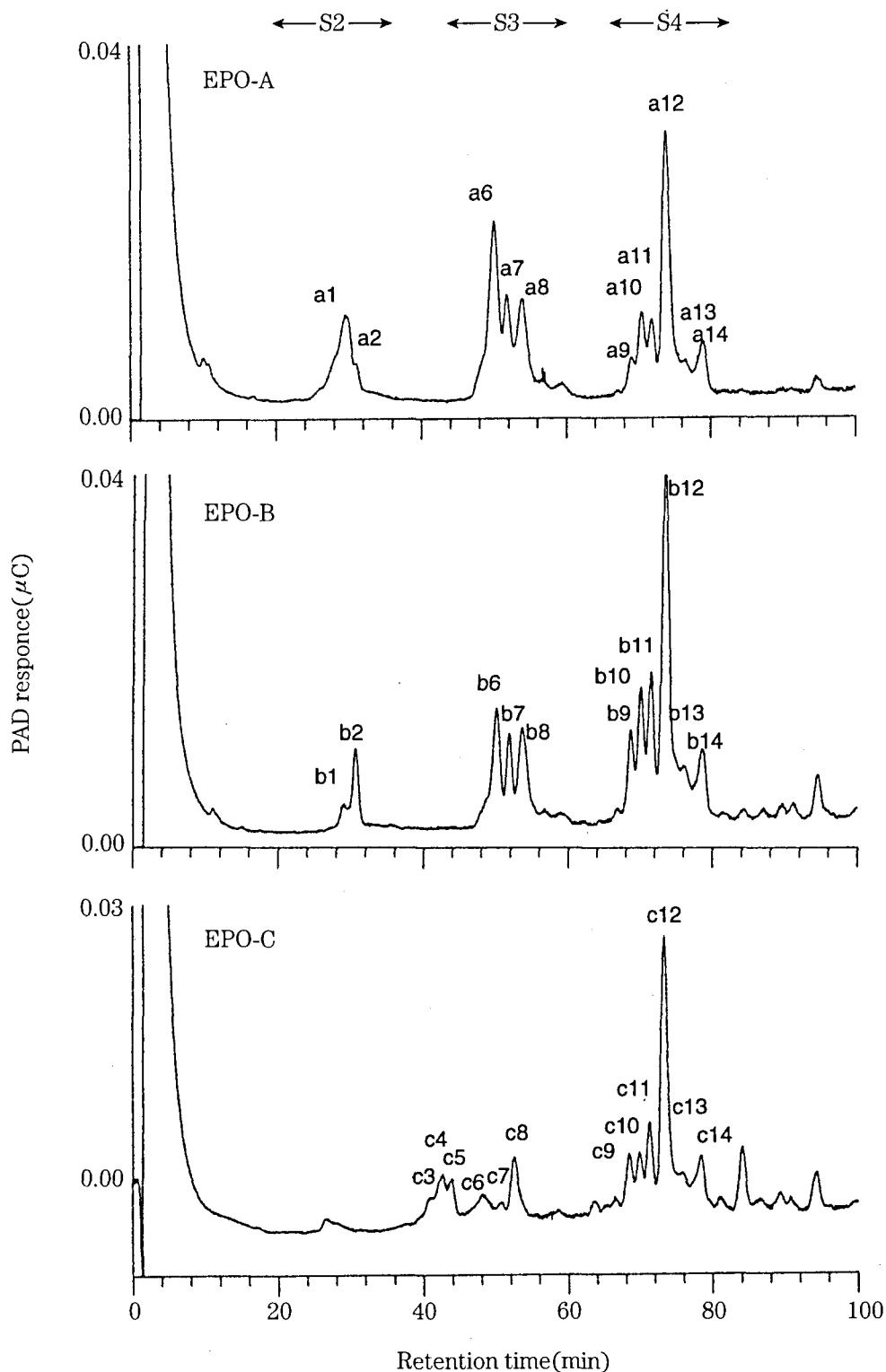


Fig. 1. HPAEC analysis of sialo-*N*-linked oligosaccharides from rh-EPO-A, rh-EPO-B and rh-EPO-C
S2, disialylated oligosaccharides; S3, trisialylated oligosaccharides; S4, tetrasialylated oligosaccharides.

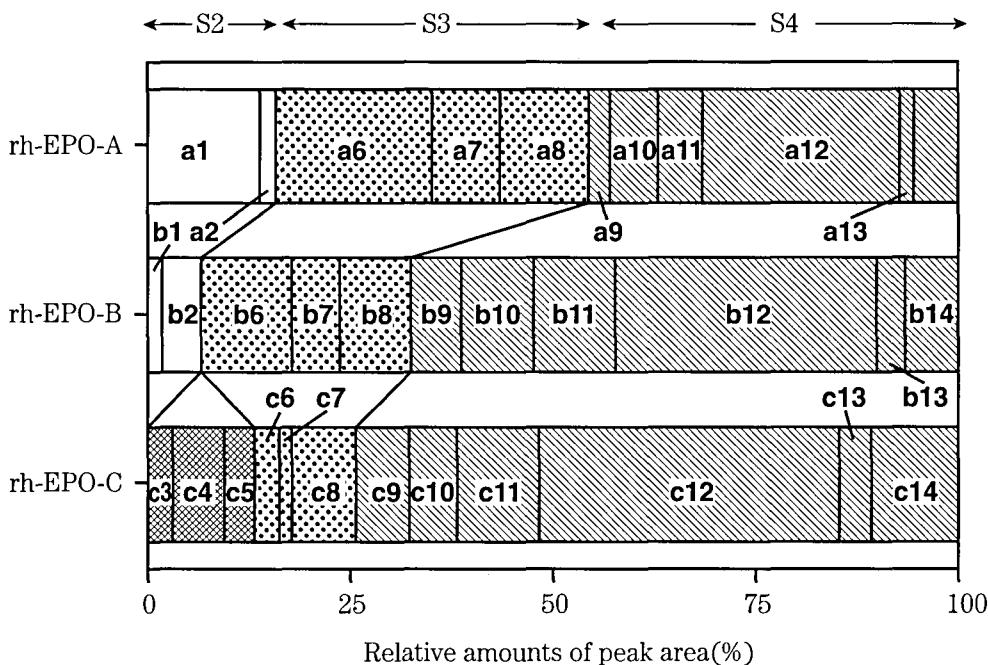


Fig. 2. Relative amounts of peak areas in rh-EPO-A, rh-EPO-B and rh-EPO-C
Peaks a1-a14, b1-b14 and c1-c14; see Fig. 1.

べて腎臓に移行する割合が高いことが見出され、分岐構造が体内動態に大きく影響を与えることが示唆されている^{5,6)}。以上のことから、EPO 製剤の品質を確保するためには、シアロ糖鎖と分岐鎖数の違いを質的量的に分析できる方法を確立することが必要であると考えられる。今回、3種類の rh-EPO に由来する糖鎖を分析することによって、HPAEC は、発現細胞の違い、あるいは培養条件等の違いによって生じた糖鎖構造の相違を、シアル酸結合数の違いに基づいて解析できることが明らかになった。また、HPAECにおいて、糖鎖はシアル酸結合数だけでなく、コースの有無や分岐及び結合位置の違い等によって分離されることが報告されており^{8,9)}、HPAECによる EPO のアシアロ糖鎖の溶出パターンは、分岐鎖数等の違いも反映しているものと思われる。以上のことから、EPO のシアル酸結合数と分岐構造等の変化を解析できる HPAEC は、EPO 製剤の糖鎖部分の評価法として有用であると考えられる。EPO 製剤の糖鎖部分のシアル酸結合数や分岐鎖数を解析する方法として、トリチウム標識化または 2 アミノベンズアミドなどで標識化された糖鎖を各種クロマトグラフィーを用いて解析する方法¹⁰⁾や、糖鎖自動解析装置の導入⁵⁾が検討されている。これらの方法と比較すると、HPAEC は、PAD 検出において各糖鎖が示すピーク強度が糖鎖の種類によって多少異なるため、ピーク面積比が糖鎖の構成比に必ずしも一致しないという欠点があるが、特別な標識法を必要とせず、簡便、迅速に、しかも比較的高感度で EPO 活性に関与しているシアル酸結合状態および分岐構造を解析できることから、品質評価ならびに品質管理において糖

鎖構造のミクロ不均一性および恒常性を確認する方法として有用な方法であると考えられる。さらに、他の糖タンパク質においても、非還元末端のシアル酸が活性やクリアランスに影響を及ぼしている例が報告されており¹¹⁾、今後、HPAEC が他の糖鎖含有タンパク製剤の糖鎖部分の評価にも応用されることが期待される。

謝 辞

本研究は、ヒューマンサイエンス基礎研究事業の支援を受けて行われたものである。

文 献

- 1) 森本和滋、内田恵理子、川崎ナナ、アハメド・アブド・サイード、徳永裕司、春日井 熊、早川堯夫：医薬品研究, **25**, 405-425 (1994)
- 2) 森本和滋、内田恵理子、川崎ナナ、アハメド・アブド・サイード、徳永裕司、春日井 熊、早川堯夫：医薬品研究, **25**, 501-523 (1994)
- 3) Imai, N., Higuchi, M., Kawamura, A., Tomonoh, K., Oheda, M., Fujiwara, M., Shimonaka, Y. and Ochi, N.: Eur. J. Biochem., **194**, 457-462 (1990)
- 4) 川崎ナナ、森本和滋、早川堯夫：衛生試報, **113**, 69-73 (1995)
- 5) 早川堯夫：平成 7 年度ヒューマンサイエンス基礎研究事業官民共同プロジェクト研究報告, 第 2 分野, 65-74 (1996)
- 6) 早川堯夫：平成 8 年度ヒューマンサイエンス基礎研究事業官民共同プロジェクト研究報告, 第 2 分野, 51-60 (1997)
- 7) Morimoto, K., Tsuda, E., Said, A. A., Uchida, E., Hatakeyama, S., Ueda, M. and Hayakawa, T.: Glyco-

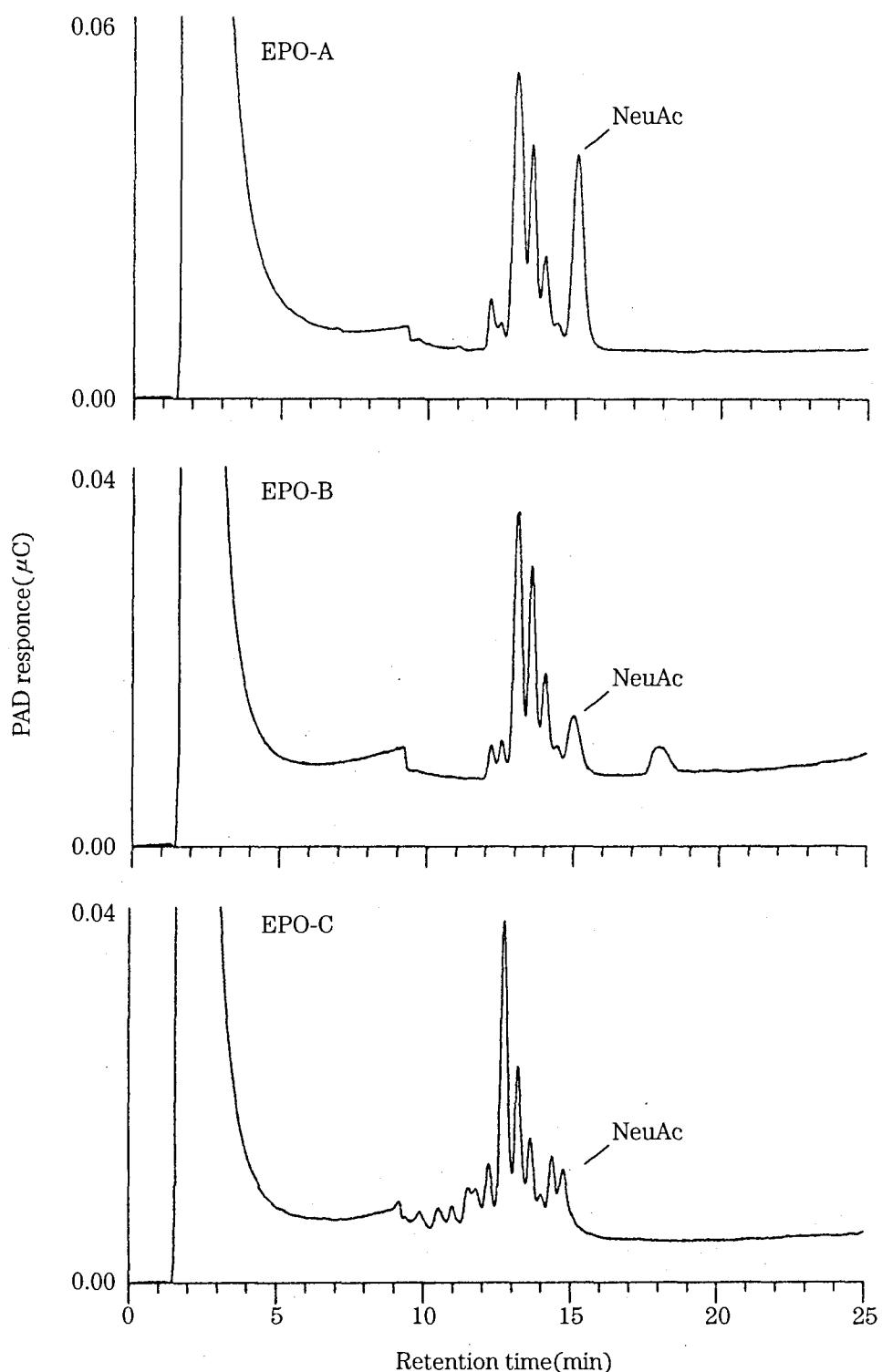


Fig. 3. HPAEC analysis of asialo-*N*-linked oligosaccharides from rh-EPO-A, rh-EPO-B and rh-EPO-C

conjugate J., **13**, 1013-1020 (1996)

- 8) Lee, Y. C.: *Anal. Biochem.*, **189**, 151-162 (1990)
 9) Lee, Y. C.: *J. Chromatogr. A*, **720**, 137-149 (1996)

- 10) 早川堯夫：平成9年度ヒューマンサイエンス基礎研究
 事業官民共同プロジェクト研究報告，第2分野
 (1998)印刷中

HPLCによる指定外着色料の定性試験法について

石綿 肇[#]・長田正大^{*1}・関口幸弘^{*2}・鎌倉和政^{*2}

杉田たき子・山田 隆

A qualitative analytical method for nonpermitted food colors by HPLC

Hajimu Ishiwata[#], Masahiro Nagata^{*1}, Yukihiko Sekiguchi^{*2}, Kazumasa Kamakura^{*2}
Takiko Sugita and Takashi Yamada

The Ministry of Health and Welfare has been proposed an analytical method for food colors by HPLC. Conditions in the method and modified conditions of the proposed method were applied for permitted and nonpermitted food colors, and relative retention times were obtained. The relative retention times would be a clue of the confirmation of these nonpermitted colors by other method.

Keywords: food color, nonpermitted food color, qualitative test, HPLC

はじめに

わが国における食品の輸入量は増加の一途をたどっている。輸入食品の中には、輸出国においては食品添加物として許可されているが、わが国では許可されていないものが使用されている場合がある。食用着色料もその一例であり、許可状況は国ごとに大きく異なる^{1,2)}。

HPLCによる特定の指定外着色料の分析法については、すでにいくつか報告されている³⁻⁶⁾。これらの方法は、いずれも独自のHPLC条件を開発して用いている。一方、わが国で許可されている12種類の合成着色料のHPLCによる一斉分析法が既に報告され、指針⁷⁾として取り入れられており、通常、着色料の定性・定量は、指針の分析条件⁷⁾、あるいはその解説書の分析条件⁸⁾により行われている。しかしながら、指針あるいはその解説書によるHPLC条件下での各種指定外着色料の保持時間について系統的に調査した報告は不充分である。指針あるいはその解説書による方法で検出された未知着色料の種類の推定ができれば、上記³⁻⁶⁾のどの方法により確認試験を行ったらよいかの判断が容易となる。

そこで、輸入食品中に検出される可能性のある指定外着色料について、指針⁷⁾およびその解説書⁸⁾の方法でHPLCを行い、許可着色料の保持時間との相関性を求め、指定外着色料の種類の推定を容易にすることを目的に研究を行った。

方 法

1. 着色料

1) 指定着色料

食用赤色2号（アマランス： C.I. 16185）：三栄源エフ・エフ・アイ社製（国立医薬品食品衛生研究所標準品適合品）

食用赤色3号（エリスロシン： C.I. 45430）：国立医薬品食品衛生研究所標準品

食用赤色40号（アルラレッドAC： C.I. 16035）：三栄源エフ・エフ・アイ社製（国立医薬品食品衛生研究所標準品適合品）

食用赤色102号（ニューコクシン： C.I. 16255）：三栄源エフ・エフ・アイ社製（国立医薬品食品衛生研究所標準品適合品）

食用赤色104号（フロキシン： C.I. 45410）：三栄源エフ・エフ・アイ社製（国立医薬品食品衛生研究所標準品適合品）

食用赤色105号（ローズベンガル： C.I. 45440）：国立医薬品食品衛生研究所標準品

食用赤色106号（アシッドレッド： C.I. 45100）：三栄源エフ・エフ・アイ社製（国立医薬品食品衛生研究所標準品適合品）

食用黄色4号（タートラジン： C.I. 19140）：三栄源エフ・エフ・アイ社製（国立医薬品食品衛生研究所標準品適合品）

食用黄色5号（サンセットイエローFCF： C.I. 15985）：三栄源エフ・エフ・アイ社製（国立医薬品食品衛生研究

*1 横浜検疫所輸入食品検疫・検査センター

*2 神戸検疫所輸入食品検疫・検査センター

To whom correspondence should be addressed: Hajimu Ishiwata; 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya, Tokyo 158-8501

所標準品適合品)

緑色3号(ファストグリーンFCF: C.I. 42053): 東京化成工業製

食用食用青色1号(ブリリアントブルーFCF: C.I. 42090): 三栄源エフ・エフ・アイ社製(国立医薬品食品衛生研究所標準品適合品)

食用青色2号(インジゴカルミン: C.I. 73015): 三栄源エフ・エフ・アイ社製(国立医薬品食品衛生研究所標準品適合品)

2) 指定外着色料

アシッドエロー(C.I. 13015): アルドリッヂ製

アシッドバイオレッド6B(C.I. 42640): 保土谷化学工業製

アシッドブルー3(C.I. 42051): 東京化成工業製

アズールブルーVX(C.I. 42045): 大和染料製, 和光純薬工業製

アゾルビンエキストラ(C.I. 14720): 三栄源エフ・エフ・アイ社製(国立医薬品食品衛生研究所標準品適合品)

エオシン(C.I. 45380): 東京化成工業製

オレンジI(C.I. 14600): 三栄源エフ・エフ・アイ社製(国立医薬品食品衛生研究所標準品適合品)

オレンジII(C.I. 15510): 和光純薬工業製

オレンジG(C.I. 16230): 東京化成工業製

オレンジRN(C.I. 15970): 東京化成工業製

キノリンエロー(C.I. 47005): シグマ製,

ギネアグリーンB(C.I. 42085): 東京化成工業製

グリーンS(C.I. 44090): 東京化成工業製

クリソインS(C.I. 14270): アルドリッヂ製

ナフトールエローS(C.I. 10316): 国立医薬品食品衛生研究所標準品

パテントブルーV(C.I. 42051): シグマ社製

ファストレッドE(C.I. 16045): 東京化成製

ファストレッドS(C.I. 15620): 三栄源エフ・エフ・アイ社製(国立医薬品食品衛生研究所標準品適合品)

ブリリアントブラックBN(ブリリアントブラックPN: C.I. 28440): 東京化成製

ブリリアントミリンググリーン(C.I. 42100): 東京化成工業製

ベンジルバイオレッド4B(C.I. 42640): 関東化学工業製

ポンソーア3R(C.I. 16155): 国立医薬品食品衛生研究所標準品

ポンソーア6R(C.I. 16290): 東京化成工業製

ポンソーアR(C.I. 16150): 国立医薬品食品衛生研究所標準品

ポンソーアSX(C.I. 14700): 三栄源エフ・エフ・アイ社製(国立医薬品食品衛生研究所標準品適合品)

マーチウスエロー(C.I. 10315): 東京化成製

レッド2G(C.I. 18050): アルドリッヂ製

レッド6B(C.I. 18055): 和光純薬工業製

2. 装置及びその条件

1) 指針の方法⁷⁾による場合

高速液体クロマトグラフ: LC-10A(検出器は SPD-M10VP)

(島津製作所)

カラム: 東ソーTSK-gel ODS-80Ts(4.6 mm x 150 mm)

カラム温度: 40°C

移動相: A液 0.01 mol/l リン酸二アンモニウム溶液

B液 メタノール

グラジェント条件: 0.01 mol/l リン酸二アンモニウム溶液-メタノール混液(9:1)から(2:3)までの直線濃度勾配を25分間行い, 以後, 混合比(2:3)を維持した.

流速: 1 mL/分

注入量: 5 μl

測定波長: 指針では, 着色料ごとに個別の波長を用いているが, 本法では254 nm及び200-700 nmで測定した.

2) 解説書の方法⁸⁾による場合

高速液体クロマトグラフ: LC-9A(検出器は SPD-6AV)

カラム: Zorbax C8(4.6 mm x 150 mm)(島津製作所製)

カラム温度: 40°C

移動相: A液 0.02 mol/l 酢酸アンモニウム溶液

B液 メタノール

グラジェント条件: 0.02M 酢酸アンモニウム溶液-メタノール混液(100:0)から(0:100)までの直線濃度勾配を30分間行い, 以後, 混合比(0:100)を維持した.

流速: 1 mL/分

注入量: 10 μl

測定波長: 510 nm

3. 標準溶液の作製

各着色料100 mgを秤取し, 水を加えて溶かして100 mLとした. この液を水で希釈して一定濃度の標準液, および標準混合溶液を調製し, HPLCに注入した.

結果および考察

HPLCによる指定外着色料を分析, 確認する方法は, 前述のようにいくつか報告³⁻⁶⁾されている. しかし, これらの方法は, 着色料の種類がある程度推定されているときに有効な方法である. 従って, 通常の検査時に未知のピークが出現したときにある程度の着色料の種類の推定が必要になる. そこで, 定性試験の一助とするために, 指針⁷⁾およびその解説書⁸⁾のHPLC条件を変えずに, そのまま準用したときの指定外着色料の保持時間の調査を行った.

Table 1に指針⁷⁾及び解説書⁸⁾のHPLC条件下における

Table 1. Relative retention times of food colors and nonpermitted colors by HPLC

Color	C.I. Number	Relative retention time by HPLC	
		Conditions A *1	Conditions B *2
Food red No.2 (Amaranth)	C.I. 16185	1.49	1.29
Food red No.3 (Erythrosine)	C.I. 45430	5.59	4.51
Food red No.40 (Allura red AC)	C.I. 16035	3.45	2.85
Food red No.102 (New coccine)	C.I. 16255	2.05	2.01
Food red No.104 (Phloxine)	C.I. 45410	6.50	4.87
Food red No.105 (Rose bengale)	C.I. 45440	7.01	4.95
Food red No.106 (Acid red)	C.I. 45100	5.48	4.46
Food yellow No.4 (Tartrazine)	C.I. 19140	1.00	1.00
Food yellow No.5 (Sunset yellow FCF)	C.I. 15985	2.63	2.32
Food green No.3 (Fast green FCF)	C.I. 42052	4.25	3.79
Food blue No.1 (Brilliant blue FCF)	C.I. 42090	4.41	3.86
Food blue No.2 (Indigo carmine)	C.I. 73015	1.76	1.46
Acid yellow	C.I. 13015	1.05	
Acid violet 6B	C.I. 42640		4.79
Acid blue 3	C.I. 42051	5.42	
Azule blue VX	C.I. 42045	4.03	
Azo rubine extra	C.I. 14720	4.14	3.71
Eosin	C.I. 45380	5.12	
Orange I	C.I. 14600	4.47	4.06
Orange II	C.I. 15510	5.55	
Orange G	C.I. 16230	2.50	
Orange RN	C.I. 15970	5.57	4.60
Guinea green B	C.I. 42085	6.15	
Quinoline yellow	C.I. 47005	4.73	
Green S	C.I. 44090	3.81	
Chrysoin S	C.I. 14270	1.39	
Naphthol yellow S	C.I. 10316	1.82	
Patent blue V	C.I. 42051	5.49	4.33
Fast red E	C.I. 16045	4.02	
Fast red S	C.I. 15620		4.95
Brilliant black BN	C.I. 28440	2.95	2.41
Brilliant milling green	C.I. 42100	5.27	
Benzyl violet 4B	C.I. 42604	6.30	
Ponceau 3R	C.I. 16155	4.64	
Ponceau 6R	C.I. 16290	0.30	0.21
Ponceau R	C.I. 16150	4.19	
Ponceau SX	C.I. 14700	4.45	3.91
Martius yellow	C.I. 10315	4.32	
Red 2G	C.I. 18050	3.18	
Red 6B	C.I. 18055	2.95	

*1 HPLC conditions proposed by the Ministry of Health and Welfare⁷⁾

Column: TSK-gel ODS-80Ts (4.6 mm x 150 mm); mobile phase: a mixture of 0.01 mol/l diammonium hydrogenphosphate and methanol (9:1), linear gradient (0 to 25 min) to the ratio (2:3), and held the ratio; flow rate: 1 ml/min; detection: 254 nm (or 200-700 nm)

*2 HPLC condition⁸⁾ modified the above conditions (see Fig. 1)

食用黄色4号の保持時間を1.00としたときの他の指定着色料及び指定外着色料の相対保持時間を示した。また、Fig. 1に解説書⁸⁾のHPLC条件下における着色料のクロマトグラム(510 nmで測定)を示した。指定着色料12種類は、既報^{7,8)}のように相互に十分に分離できた。

指定外着色料は、指針の方法では、20~30分の間に、解説書の方法では、25~30分の間に集中的に出現した。この時間帯では、許可着色料と指定外着色料、あるいは指定外着色料の間での相互分離が不充分であった。しかし、フォトダイオードアレーを用いることにより、相互の区別は可能であった。

解説書⁸⁾の測定条件(測定波長 510 nm)では、キノリンイエローは吸収を示さず、本実験条件下では見逃す可

能性があった。ただし、415 nmで測定することにより検出可能であった。また、食用赤色105とファストレッドSとの分離が不充分であった。

指針の測定条件では、オレンジRNとオレンジIIとの、アズールブルーVXとエオシンとの、ポンソーエキストラ、ポンソーラおよびマーチウスエローが出現し、相互分離はできなかった。しかしながら、これらの結果は、輸入食品中における着色料の試験において比較的検出率の高い、アズールブルーVX、ファストレッドE、オレンジI、ポンソーエキストラ、ポンソーエキストラ、オレンジII、ブリリアントブラックBN、パテントブルーV、アズールブルーVX、およびアシッドバイオレッド6Bなどの検出が可能であるこ

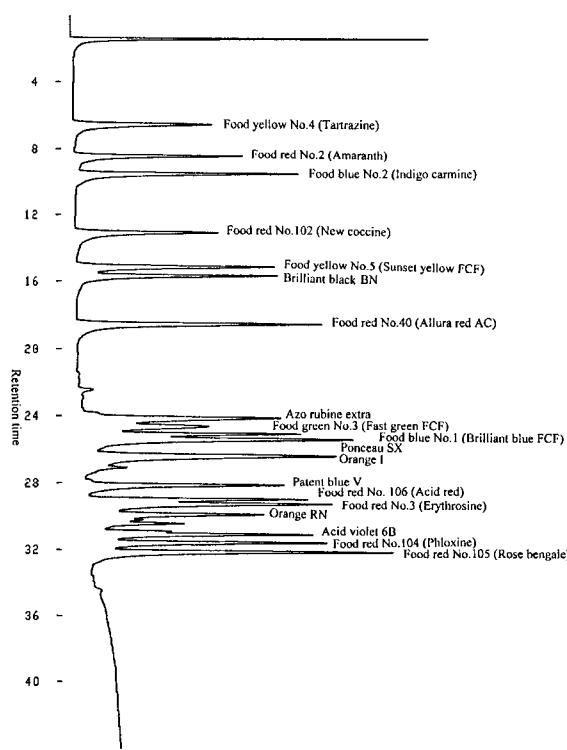


Fig. 1. High-performance liquid chromatogram of permitted and some nonpermitted food colors

HPLC conditions⁸⁾

Column : Zorbax C8 (4.6 mm × 150 mm); Mobile phase : 0.02 mol/l ammonium acetate solution-methanol (0 to 100%) linear gradient (0 to 30 min), and held 100% methanol; flow rate: 1 ml/min; detection: 510 nm

とを示している。許可着色料以外のピークを認めた場合、表1に示した相対保持時間とフォトダイオードアレーの併用によるスペクトル分析を参考に指定外着色料の推定が可能である。推定された着色料については、前述の文献^{3,6)}の条件で定性が可能となる。黄色系着色料の使用が疑われる場合には、HPLC 条件のうち、検出波長のみを変更して、あるいは254 nm を用いてクロマトグラフィーを行う必要がある。

結論

指定外着色料の定性を容易にするために、指針およびその解説書による条件下での指定外着色料のHPLC 分析を行い相対保持時間を求めた。指針や解説書の分析条件下で未知のピークが出現した場合に、他の方法で定性試験を行うための参考として利用することができ、指定外着色料の種類の推定が容易となる。

文献

- 1) 厚生省生活衛生局検疫業務管理室監修：輸入食品1993，日本食品衛生協会（1995）
- 2) 日本薬学科編：衛生試験法・注解1990, pp.500-509, 金原出版（1990）
- 3) 宮川弘之ら：東京衛研年報., 47, 75-77 (1996)
- 4) 中沢久美子ら：同上, 46, 108-114 (1995)
- 5) 石川ふさ子ら：同上, 42, 141-146 (1991)
- 6) 石川ふさ子ら：同上, 41, 101-107 (1990)
- 7) 厚生省生活衛生局監修：食品衛生検査指針食品中の食品添加物の分析法, pp.142-166, 食品衛生協会 (1989)
- 8) 谷村顯雄他監修：食品中の食品添加物分析法解説書, p.899, 講談社サイエンティフィク (1992)

わが国の有機錫汚染による健康および、環境影響リスクの評価

関沢 純[#]

Health and Environmental Risk Assessment of Organotin Pollution in Japan

Jun Sekizawa[#]

In the course of developing the Concise International Chemical Assessment Document (CICAD) on triphenyltin compounds for the IPCS, the author assessed health and environmental risks posed by major organotin species, i.e., triphenyltin compounds and tributyltin compounds. Organotin has been used widely as biocide in such applications as antifouling paints of boats and for other purposes, until its use was restricted in 1980's after discovery of severe damages on aquatic ecosystem caused by this agent. Among many other deleterious effects of organotin to aquatic species, imposex is one of the most conspicuous effects which is the development of male reproductive organs by female gastropods at concentrations as low as a few ng/ℓ. Although environmental concentrations of organotin have declined as a result of tight regulations, periodical monitoring in these years shows their levels in the water still range several ng/ℓ in Tokyo bay area which are hazardous to certain aquatic lives. Human intake of organotin in foods has been estimated through market basket surveys in Japan which showed intake of triphenyltin or tributyltin compound in 1997 as 2.29 μg/day (as tributyltin chloride) and 2.69 μg/day (as triphenyltin chloride), respectively. The intake value for tributyltin chloride corresponds to 5.2% of the provisional acceptable daily intake (ADI) estimated for bis(tributyltin) oxide (TBTO) in Japan, and 28.0% of the guidance value suggested in the CICAD draft for TBTO, respectively. The intake value for triphenyltin chloride corresponds to 10.8% of the ADI estimated by the FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Residues. Potential critical effects on human health observed in animal tests are the effects on immune systems and reproduction. Based on this investigation, needs for future research on mechanism of toxicity and further control of risks are discussed.

Keywords: organotin compound, triphenyltin, tributyltin, risk assessment, acceptable daily intake, the Concise International Chemical Assessment Document

1. はじめに

環境中の汚染物質が動物の生殖系などに有害影響を及ぼす可能性への懸念が高まっている。極微量の有機錫化合物が巻き貝の一部に引き起こすインポセックス（腹足類の雌にペニス様の突起が成長する現象）はこのひとつとして指摘されている。有機錫は、藻類、軟体動物などへの強力な殺生力と、熱、光に対する分解防止効果に着目され、船底塗料、魚網防汚剤、農薬、木材処理、塩化ビニール樹脂安定剤として利用してきた。その主要なものにトリプチル錫化合物（TBT）とトリフェニル錫化合物（TPT）がある（Fig. 1）。

筆者は IPCS（国際化学物質安全性計画）の CICAD（国際簡潔評価文書）¹⁾作成のために、トリフェニル錫のリス

ク評価資料²⁾の原案を作成、その過程で有機錫総体によるヒトの健康と環境へのリスクについて検討した³⁾。本年6月に東京で CICAD 原案の最終検討国際会議が開かれ、わが国で用意したトリフェニル錫の CICAD 原案⁴⁾のほかに、米国環境保護庁が作成したビストリプチル錫オキシド（TBTO）の原案⁵⁾も討議され、筆者もコメントを提供した。

影響データは主にこの CICAD 原案を参考にし、これにわが国の環境と、人の曝露データを総合して、リスク評価を行った。

Table 1 に代表的な有機錫化合物とその性質の一部を示す。

2. 環境汚染の経路、人と環境中生物の曝露量の推定

2. 1 環境汚染源

1970年代後半に船底塗料として利用された有機錫がフランスで養殖カキに壊滅的な打撃を与え、大きな問題となつた。わが国でも1970年はじめから漁網への使用の自粛が開

[#] To whom correspondence should be addressed: Jun Sekizawa; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext.295; Fax: 03-5717-7180; E-mail: sekizawa@nihs.go.jp

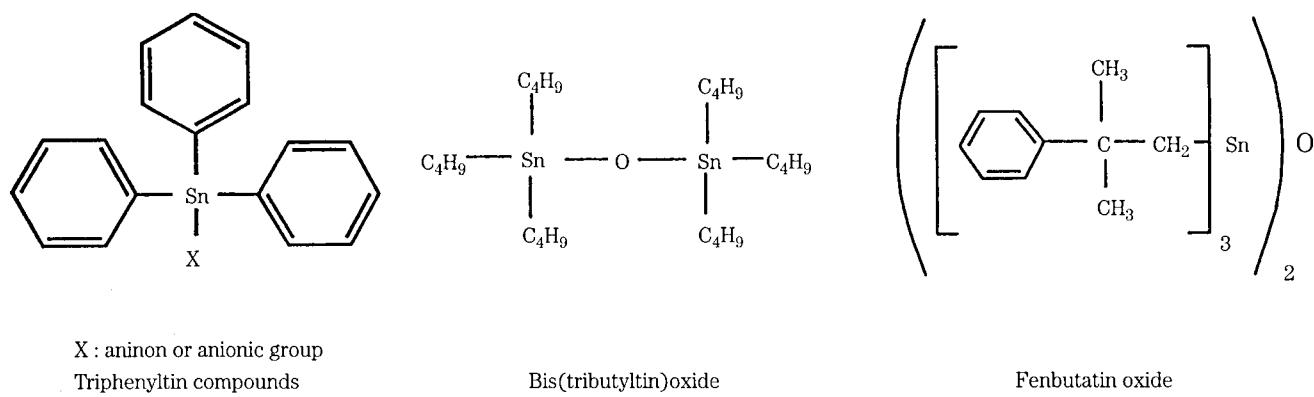


Fig. 1 Chemical structure of triphenyltin and tributyltin compounds

Table. 1 Identity, physical and chemical properties of several triphenyltin and tributyltin compounds

	TPTH	TPTA	TBTO	Fenbutatin oxide
IUPAC name	Triphenyltin hydroxide	Triphenyltin acetate	Bis(tributyltin) oxide	Fenbutatin oxide*
CAS number	76 - 87 - 9	900 - 95 - 8	56 - 35 - 9	13356 - 08 - 9
Specific gravity (at 20°C)	1.54	1.5	1.17	1.29 - 1.33
Melting point (°C)	118 - 120	121 - 123	<45	138 - 139
Solubility in water (20°C)	1 mg/l at pH 7 (20°C) greater at lower pH values	9 mg/l at pH 5 (20°C)	<1.0 to >100 mg/l at different pH values and temperatures	Insoluble in water
Vapour pressure (mPa)	0.047 (50°C)	1.9 (60°C)	1 (20°C)	8.5 x 10 ⁻⁵ (20 °C)
Log Pow	3.43	3.43	3.19 - 3.84 (distilled water) 3.54 (sea water)	5.16

* Common name

始され、1988年-1991年には「化学物質審査規制法」による包括的な製造、使用の規制の網がかけられるに至った。船底塗料としての使用量は1991年以降大幅に減り、最近はピーク時（原体として約3,000トン）の1-2割で推移していたが、1996年になりさらにその10分の1に減少した^⑤。農薬の酸化フェンブタ錫（Fenbutatin oxide）の生産は1982年以降、年間数十トン（原体）レベルで推移、最近は減少傾向にあり、また水酸化トリシクロヘキシル錫（Cyhexatin：TPTHのフェニル基をシクロヘキシル基で置換した物質）は1987年に登録が失効している。開放系以外では、塩化ビニル樹脂の安定剤などに約200トン程度（原体）が使用されている。

2.2 環境中の動態、濃度とその変遷

TBTOは水に溶けにくく環境中では主として懸濁物に

吸着した状態で存在する。環境条件による脱ブチル、光分解または生物分解を経て分解消失する。半減期は淡水中あるいは感潮域で5-11日（12-28°C）、好気条件下の底質で数ヶ月とされている。軟体動物と魚類で数千倍までの生物濃縮係数が実験および野外調査により報告されている^⑦。

TPTは環境中で脱フェニル、環の水酸化と抱合などを経て分解される。水中での半減期は季節により数日から数カ月であるが、底質または土壌に強く吸着される。実験的に環境水中の濃度レベルに曝露した魚体に数百から数千倍濃縮され、軟体生物の腸管では最高32,550倍の濃縮が観察された^⑨。

わが国の環境中レベルは、規制強化に伴い、Fig. 2 A,Bに見るような減少傾向を示しているが、最近は東京湾でのTBTの水中レベルは歩々しく改善していない^⑩。この理由

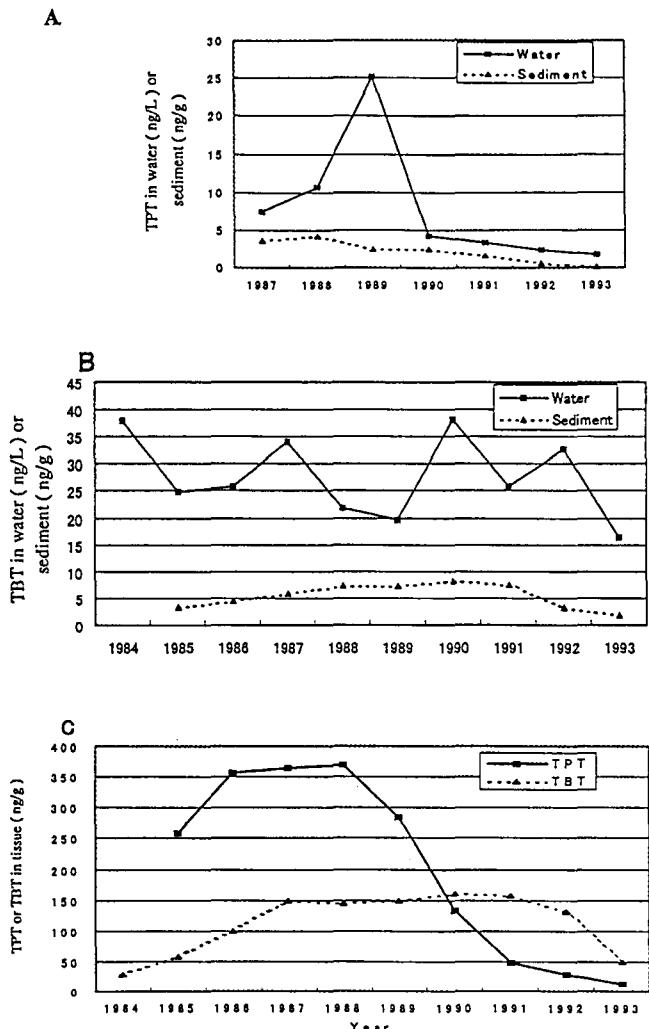


Fig. 2 Environmental concentration of TPT and TBT in Tokyo bay area

- A : Environmental levels of TPT in Tokyo bay area
- B : Environmental levels of TBT in Tokyo bay area
- C : TPT or TBT in short-necked clams caught in Tokyo bay area

は、海外での規制が25 m 以下の船舶に限られていたり未規制の国もあるので未規制船舶が日本の港に入ってくること、およびわが国でも一部使用が続いているためによると考えられる。東京湾のアサリ中のTBT、TPTの検出濃度はほぼ底質中の検出量に並行した傾向を示す(Fig. 2C)。環境庁のとりまとめでは、1995年には全国の水質調査29地点でTPTは不検出、TBTは淡水中では不検出、東京湾近辺で1995年の平均は $2.7 \mu\text{g}/\ell$ 、となっている⁹⁾。しかし底質中のTBTについて見ると、隅田川河口、大阪港では、1995年に1991年当時の59% (平均177 ng/g dry matter)、68% (平均470 ng/g dry matter) レベルと改善は緩慢である。

2.3 人の曝露量の推定

蒸気圧から考えて大気経由曝露の可能性はなく、また飲料水中での検出の報告はない。食品経由の有機錫摂取量がマーケットバスケット法により調査されている¹⁰⁾。魚介類

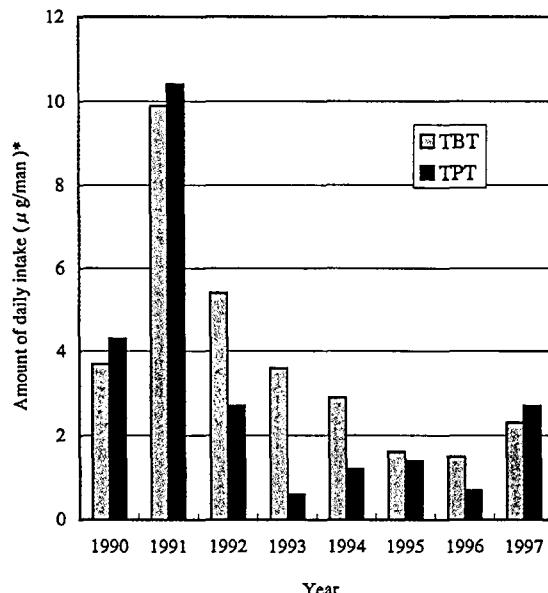


Fig. 3 Estimation of daily intake of TBT and TPT in Jaoan by the market basket method.

* as triphenyltin chloride or tributyltin chloride

(摂取量のほぼ95%以上)と野菜類(海草を含む)からのみ摂取されており、1991年を境に漸減傾向にあり1993年調査ではTBTの摂取は1991年の3分の1、TPTの摂取は1991年の15分の1に減少した(Fig. 3)。しかし、1997年の調査ではTBTの摂取が $2.29 \mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ (塩化トリプチル錫として)、TPTの摂取は $2.69 \mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ (塩化トリフェニル錫として)と増加しており、この理由は不明である。滋賀県が国のマーケットバスケット調査の一環として行った摂取量の評価結果を公表しているが、1990-1993年の間で国全体(およそ10機関)の摂取量データの平均と、滋賀県での評価値では最大2.4倍の違い(1990年にTBTで高めの値)が得られている¹¹⁾。

3. 健康影響データの概要

3.1 TBTについて

TBTは経口または皮膚からある程度吸収され、腎臓と肝臓を中心とし速やかに全身に分布し、代謝される。哺乳類での生物学的半減期は23-30日である⁷⁾。

TBTの単回経口投与LD50は、 $127-234 \text{ mg/kg}$ (ラット)、 85 mg/kg (マウス)、腹腔内投与LD50は 20 mg/kg (ラット)または 16 mg/kg (マウス)であり、中程度からやや強い急性毒性を示す。腹腔内投与で、より強い毒性を示したのは経口投与の際の吸収が部分的なことを反映していると考えられる。

TBTのエアロゾル(雌雄ラット各10匹使用、鼻部曝露、 $2.8 \text{ mg}/\text{m}^3$ 、4時間/日、5日/週、21-24回)の吸入試験では、呼吸器系の炎症とリンパ系の病理学的变化(詳細な記述なし)が見られ、雌雄のそれぞれ半数が死亡

した⁵⁾。

サルを使った22週間のTBTOの飲料水中投与(0.14 mg/kg)では、期間中に変動はあったが白血球の減少(対照群の62-67%)が見られた。

ラットのTBTO慢性毒性・発癌性試験では、高用量群(雄2.1 mg/g、雌2.5 mg/kg)でIgAとIgMの濃度の増加、IgG濃度の試験前半での低下とその後の上昇が見られた¹²⁾。用量に依存しない下垂体の良性腫瘍、副腎髓質の褐色細胞腫(高用量群のみ)、上皮小体腺腫(雄の高用量群のみ)の増加が見られた。原著者によれば、内分泌変調との関係が指摘され、かつ試験に用いられた系統のラットにおけるこれら器官の自然発生腫瘍の多発が見られており、用量依存性も見出されなかったことから、ヒトでのこれら腫瘍発生の可能性については疑わしいとされた。種々の試験系で遺伝毒性は見られなかった。

発生への影響は、母獣に毒性影響が見られる投与量でのみ観察され、神経毒性は比較的高用量のTBTO(発生毒性試験における10 mg/kg)でわずかな影響が見られたのみであった。

ヒトがTBTOに急性吸入曝露した際に呼吸器系に刺激性を示したという報告がいくつかあるが、曝露と影響の関係を記述するのに十分な情報はなく、疫学的な調査報告もない⁵⁾。

TBTOについては、ラットに0.25 mg/kg/日を18ヶ月間投与した時に見られた免疫抑制(IgE抗体値の減少、線虫感染抵抗性の低下)¹³⁾が最もクリティカルな影響と考えられ、0.025 mg/kg/日が無影響量と推定され、100倍の安全係数を適用し経口曝露の指針値として0.3 μg/kg/日が示唆された。

わが国では、ラット30日間経口投与試験で体重增加抑制が見られた最小毒性発現量(1.6 mg/kg)および他の中毒症状と、代謝が速やかで蓄積性のないことなどを総合して、1985年にTBTOの暫定許容一日摂取量が0-1.6 μg/kg/日と評価されている¹⁴⁾。

またわが国では、酸化フェンブタ錫の許容一日摂取量を0-30 μg/kg/日と評価している¹⁵⁾。

3.2 TPTについて

経口的に摂取されたTPTのほとんどはそのまま排泄されるが一部は吸収され、腎臓、肝臓に分布する。生物学的半減期は9.4日と推定された。生体内でも環境中と同じく段階的な脱フェニルが主要な代謝経路である²⁾。

TPTの毒性は、強弱の差があるもののほぼTBTOと類似している。TPTの場合、経皮の急性毒性は弱い(ラットのLD50は1,600または、>2,000 mg/kg)²⁾。

FAO/WHO合同残留農薬会議(JMPR)は、1991年に0-0.5 μg/kg/日を許容一日摂取量と勧告した¹⁶⁾。この値は、ラット長期毒性試験における最小投与量(0.3 mg/kg/日)

での死亡の増加、別のラット2年間食餌投与で白血球減少が見られなくなることにに基づく無毒性量(0.1 mg/kg/日)、2世代試験での胎仔数と胎仔体重の減少、離乳仔の脾臓と胸腺の相対重量の低下が見られなくなることにに基づく無毒性量(0.4 mg/kg/日)、ラットの13週間毒性試験で白血球の減少他が見られなくなるに基づく無毒性量(0.3 mg/kg/日)、犬の52週間毒性試験での肝重量増加が見られなくなるに基づく無影響量(0.2 mg/kg/日)、および兔の催奇形性試験で母獣への毒性影響が見られなくなるに基づく無毒性量(0.1 mg/kg/日)を総合し、200-800の安全係数を適用して設定された。

TPTの場合も最も低用量で観察されたのは、体重増加抑制と免疫系への影響であり、母獣の体重増加抑制が時折見られる用量では生殖系への影響(同腹仔数の減少)が観察された。

またJMPRは、水酸化トリシクロヘキシル錫とアゾシクロチシン(Azocyclotin:水酸化トリシクロヘキシル錫の水酸基をトリアゾール基で置換)のグループ許容一日摂取量を、ラットの2世代試験で乳仔の体重増加抑制と生存率減少が見られなくなる無毒性量0.7 mg/kgから、0-7 μg/kg/日と評価している¹⁷⁾。

4. 環境影響データの概要

Table 2に、TBTとTPTによる生物種毎の影響の概要を示す。有機錫は、環境中生物への影響において次のいくつかの特徴を持つ。

- (1) 卷き貝の一部にインポセックスといわれる現象を引き起こし生殖に影響を及ぼす。
- (2) インポセックスを含む軟体動物や藻類への影響は極めて低濃度(数ng/lレベル)で生ずる。
- (3) 影響を受ける生物種は微生物から、甲殻類、軟体動物、両棲類、魚類まで広範囲である。

5. 健康および環境リスク評価

5.1 健康影響リスク評価

1997年の食品経由の摂取量調査結果を前述した健康影響の指標と比較すると、TBTの場合はわが国のTBTOについての暫定許容一日摂取量の約5.2%、CICAD原案で示唆されているTBTOの経口曝露の指針値の33.4%、TPTの場合はJMPRの許容一日摂取量の10.8%にあたる。また汚染の高い港や河口で底質中TBT濃度の低下が緩慢であることから、沿岸、感潮域に棲息する魚介類の多量摂取は高リスク要因と推測される。

5.2 環境影響リスク評価

環境中の生物への影響を評価する際には、Table 2に示した広範な生物種に見られる種々の影響と、その起りうる濃度の全体像を考慮する必要がある。

Table. 2 Environmental concentrations of TBT or TPT which cause biological effects to different species

	Concentration ($\mu\text{g/l}$)						
	0.001	0.01	0.1	1	10	100	1000
Marine and estuarine organisms	EC50 for development of the motile spores of a green macroalgae No effect level for shell morphology. NOEL for development of imposex in female dogwhelk Induction of imposex to rock shells	NOEL for spat of the most sensitive oyster species inhibition of arm regeneration in brittle star	NOEL for the most sensitive marine microorganism NOEL for reproduction in the mysid shrimp Morphological abnormality in lug worm inhibition of mitochondrial oxidative phosphorylation in barnacle	LC50 for larva of Pacific oyster or embryo of eastern oyster. Growth inhibition and 50% reduction of reproduction and primary production in marine algae LC50 to sensitive marine fish LC50 to copepods, sensitive daphnids, and sensitive crustaceans Significant decrease in growth, motility and embryo development in molluscs Effect on carbon fixation in marine algae	Suppression of infectivity of Schistosoma to snails Acute toxicity to marine crab		
Fresh water organisms	Effect on egg laying of snails	NOEL for guppy, based on histopathological effects	NOEL for daphnids Chronic toxicity to fathead minnow larvae	No effect on survival of eggs and larvae of frog. LC50 to sensitive freshwater daphnid	LC50 for sensitive fish (rainbow trout, harlequin fish) Growth inhibition of freshwater angiosperm Acute and chronic toxicity to fresh water daphnia LC50 for target snails in schistosomiasis control Acute toxicity to snail, earth worm	Acute toxicity to gold fish, mosquito fish, bleak and guppy Acute toxicity to an European frog Killing of freshwater angiosperms	

環境庁のとりまとめによれば、1995年の東京湾内5定点のTBTの平均水質濃度は $2.7 \mu\text{g/l}$ であり、Table 2と比べると藻類の胞子形成や一部の巻き貝のインポセックスは、この濃度で起りうるが、稚ガキへの影響や淡水条件でグッピーへの影響が起るのは一桁高い濃度である。エビ、フジツボ、微生物への影響はさらに一桁高い濃度ではじめて起ることが知られている。

しかし底質中のTBT濃度の改善が緩慢であることから、汚染の高い沿岸、感潮域に棲息する生物にとってのリスクはまだ高い。淡水での国内調査データは多くないがいずれも非検出であり、環境中生物へのリスクは低いと考えられる。

6. まとめ

(1) 1997年の食品経由の有機錫(TBT, TPT)の摂取量は、わが国のTBTO暫定許容一日摂取量、TBTOのCICAD原案の経口曝露指針、JMPRのTPT許容一日摂取量のそれぞれ5.2, 28.0% (以上TBT), および10.8% (TPT)であった。しかし有機錫としての作用が相加的である可能性、汚染魚介類を特に多く摂取する地域や個人の存在が推定され、有機錫の環境中への放出をさらに少なくすべきであろう。

(2) 生態系全体になんら影響が見られないようにするに

は、さらに汚染を低減する必要があるだろう。わが国は1990年に国際海事機関(IMO)に、TBTの船底塗料使用禁止を提案し、1996年に10年後を期限とした全面禁止が参加国間で合意されているがこれを早めることも必要であろう。同時に環境と健康への有害影響の極力少ない代替品の開発を促進しなければならない。

- (3) 船底塗料や農薬のように直接環境に放出されることを目的としていないが、木材処理や塩化ビニル樹脂の安定剤に使用された有機錫も徐々に環境や人が曝露される場に放出されると考えられ、毒性影響との兼ね合いでこれらについても検討する必要も出てくるであろう。
- (4) 有機錫が人の健康(免疫系や生殖系)や、環境中生物に影響(生殖系ほか)を及ぼすメカニズムについてはまだ解明されていない点がある。

最近の研究によれば、免疫抑制と胸腺におけるapoptosisの誘導の関係¹⁸⁾が、またインポセックスについてはアンドロジェンからエストロジェンを生成するシトクロームP-450依存アロマターゼシステムの阻害によるのではないかと示唆¹⁹⁾されている。影響メカニズムの研究を進めることは、有機錫のみならず環境汚染物が生体と生態系に、どのような有害影響をおよぼしうるかを推測し、リスクの予

- 防的な管理を進める上に寄与しうると考える。
- (5) 有機錫のリスク評価に関連したより詳細な情報は、冒頭に紹介したトリフェニル錫のリスク評価資料²⁾、および来年はじめには出版されるであろうトリフェニル錫あるいはTBTOについてのCICADに記されているので参照されたい。

文 献

- 1) 関沢 純 : 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, 衛生試報, 114, 89-94 (1996)
- 2) National Committee for Concise International Chemical Assessment Document: A Critical Review on Triphenyltin Compounds, August 1997, pp.76
- 3) Sekizawa, J.: Health and Environmental Risk Assessment of Organotin Pollution in Japan, 1997 SETAC Annual Meeting, San Francisco, 1997
- 4) IPCS: Concise International Chemical Assessment Document on Triphenyltin compounds (draft)
- 5) IPCS: Concise International Chemical Assessment Document on Tributyltin oxide (draft)
- 6) 通商産業省基礎産業局化学品安全課(1998)化学物質の審査および製造等の規制に関する法律による製造数量等の届出に基づく集計 : 提供により入手
- 7) IPCS (1990) Tributyltin compounds, Environmental Health Criteria 116, World Health Organization, Geneva, pp.273
- 8) 竹内正博 : 食品中の環境汚染物質のモニタリング, 東京都衛生研究所プロジェクト研究報告 (3)
- 9) 環境庁環境保健部環境安全課 : 平成 8 年版「化学物質と環境」, pp. (1997)
- 10) 国立医薬品食品衛生研究所 (1991-1998) 日常食中の汚染物摂取量調査
- 11) Tsuda, T., Inoue, M. & Aoki, S.: *J. AOAC Internat.*, **78**, 941-943
- 12) Wester, P. W., Krajnc, E. I., van Leeuwen, F. X. R., Loeber, J. G., van der Heiden, C. A., Vaessen, H. A. M. G. & Helleman, P. W.: *Fd. Chem. Toxicol.*, **28**, 179-196 (1990)
- 13) Vos, J. G., DeKlerk, A., Krajnc, E. I., Van Loveren V. & Rozing, J.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **105**, 144-155 (1990)
- 14) 食品中の TBTO の安全性評価検討委員会報告(1985) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課長通知, 昭和60年4月26日, 衛乳第18号
- 15) 関沢 純: 農薬の安全性評価データ集, 1997年改定版, エル・アイ・シー社, 東京, pp.290 (1997)
- 16) IPCS: Fentin, in "Pesticide residues in food-1991", World Health Organization, Geneva, 173-208 (1992)
- 17) IPCS: Cyhexatin, in "Pesticide residues in food-1994, Report", FAO Plant Production and Protection Paper 127", Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome, 70-72 (1994)
- 18) Raffray, M., McCarthy, D., Snowden, R. T., & Cohen, G. M.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **119**, 122-130 (1993)
- 19) Bettin, C., Oehlmann, J. & Stroben, E.: *Helgolaender Meeresforschungen*, **50**, 299-317 (1996)

化学物質による健康被害についての事故事例データベースおよびホームページの作成

山本 都[#]・森田真理子・神沼二眞

Preparation of the Database and the Homepage on Chemical Accidents relating to Health Hazard

Miyako Yamamoto[#], Mariko Morita and Tsuguchika Kaminuma

We collected the data on accidents due to chemicals occurred in Japan, and prepared the database. We also set up the World Wide Web homepage containing the explanation on accidents due to chemicals and the retrieval page for the database. We designed the retrieval page so that users can search the data from keywords such as chemicals (e.g. chlorine gas, hydrogen sulfide, pesticides), places (e.g. home, factory, vehicles, tank), causes (e.g. reaction, leakage, exhaust gas) and others (e.g. cleaning, painting, transportation).

Keywords: chemical accident, database, World Wide Web, Internet

はじめに

現在使用されている化学物質の種類および量は膨大であり、生活の場や作業場での化学物質による事故は毎年相当数起こっている。この中には人体への危険の予測が難しいものもあるが、多くは過去の経験や既知の情報を十分活用することによってかなりの程度防ぐことが可能なものである。なかでも化学物質の性質や取り扱い方法についての知識不足が原因で起こる事故は非常に多く、同じような事故が繰り返されている。すなわち過去の被害の教訓が再発防止に生かされていない。化学物質の毒性による人への健康被害に関して、過去の事故事例や化学物質を扱う際の留意点等をわかりやすく提供することは、化学物質による健康被害防止のための重要な手段と考えられる。

したがって、身のまわりや作業場で起こった化学物質による事故を中心にこれまでの事例を調査し、データベースを作成した。また化学物質による事故や取り扱う際の注意点に関する解説とデータベースを収載したホームページを作成し、インターネットによる提供を開始した。

方 法

1. 事例データベースの作成

(1) 化学物質による事故事例の収集

原則として、化学物質による事故の中でも「化学物質の毒性による人への健康被害」を対象とした。したがって火

災や爆発などによる物理的被害は除外し、中毒症状を生じた事故を中心に調査した。

調査対象資料：文献データベース（Chemical Abstracts, Medline, Toxline, JICST 科学技術文献ファイル）、インターネット、各種資料（参考資料は、<http://www.nihs.go.jp/incident/reference.html> に記載。）

検索に用いたキーワード：chemical accident, chemical incident, chemical disaster, chemical hazard, emergency, 「化学物質×事故」、「化学物質×被害」、「化学物質×災害」、「化学物質×工場」など。

(2) データベースの作成

データベースソフトとして Microsoft Access 97 を使用し、(1)で調査した事故例の中から代表的な事例や発生件数の多いものを中心に入力した。

・入力項目：発生日時、発生場所、原因化学物質、被害を受けた人数（死者およびそれ以外の人数）、事故の状況、引用資料、キーワード（後述）。

2. WWW 用ホームページの作成

化学物質の被害事例を状況別、原因別に分けて解説したテキストおよび化学物質を取り扱う際の注意点をまとめたテキストを作成した。「化学物質による被害防止ホームページ」を作成し、これらのテキストを HTML ファイルに変換したものを収載した。

Access ファイルで作成した被害事例データベースについては、WWW 上で検索できるようにするために 2 種類のプログラム（search.htm および search.idc）を作成すると共に、化学物質名やキーワードを入力できる検索ページを作成した。データベースに関するファイルはすべて Windows NT サーバーに置いた。データベース内容を更

[#] To whom correspondence should be addressed: Miyako Yamamoto; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext. 337; Fax: 03-5717-7180; E-mail: yamamoto@nihs.go.jp

新する際は、Access ファイルのみ更新すればよい。

結 果

1. 事例の収集

化学物質による健康被害に関する事故に関して通常の文献データベース検索で抽出される数は非常に少なく、特に日本の報告はほとんど見あたらなかった。特に問題点が指摘されたり話題になった事例は別として、日常生活や作業場で起きる事故の多くは文献データベースに収載される類の報告書としてまとめられていない。したがって事例収集のための情報源としては、文献データベースよりも労働衛生や中毒等に関する資料や新聞が中心となった。

2. 事例データベース作成

入力データは、日本で起きた事例のみとし、収集した事例のうち少なくとも発生日時、発生場所、原因物質、被害者数、状況がわかるものを対象とした。原則として公表資料から資料名を明記した上で引用した。

家庭内や生活圏で起こった事故例については収集した事例すべてを入力したが、化学工場など作業場で起こった事故例については代表的なものにしぼって入力した。これは、本データベースの作成目的が、過去の事事故例を示すことによって、化学物質を取扱う際の健康被害防止のための注意を喚起するものであり、発生した事故すべてを記録しておくためのものでないとの理由からである。また、作業場における事故発生件数はかなり多いが、これらは「労働衛生のしおり」等労働衛生関係の資料にまとめられているので必要な場合はこれらを参照できる。

現時点での事例データベースの入力件数は約550であるが、今後も追加・更新予定である。

3. WWW ホームページの作成

化学物質による被害防止のための WWW ホームページを作成した（化学物質による健康被害防止ホームページ）。URL は次のとおりである。

[\(http://www.nihs.go.jp/incident/index.html\)](http://www.nihs.go.jp/incident/index.html)

ホームページに収載した情報は主に次のようなものである。

(1) 化学物質による健康被害事例についての解説

化学物質による事故例を状況別や原因別に分けて、それぞれ個々の内容について解説した。それぞれの項目から化学物質の性質や代表的な事故例、使用上の注意等を見られるようにした。[\(http://www.nihs.go.jp/incident/jirei.html\)](http://www.nihs.go.jp/incident/jirei.html)

(2) 化学物質による健康被害事例データベース

2種類の検索画面を作成した。ひとつは、ユーザーが空欄に自由にキーワードを入力して検索できる画面、もうひとつは、主な原因化学物質、場所、原因等のキーワードリストからユーザーが目的のものを選択して検索できる画面である。

(図 1 : <http://quanta0.nihs.go.jp/jirei/jirei.htm>)

収載したキーワードは次のとおりである。

- 1) 化学物質：特定しない、塩素ガス、一酸化炭素、硫化水素、二酸化炭素、二酸化塩素、フロン、有機溶剤、農薬、その他の物質
- 2) 場所：家庭、生活圏、仕事、処理施設、温泉・火山、厨房、建物/駐車場、車、船、閉鎖/狭い場所、槽・タンク
- 3) 原因：反応（混合/併用）、反応（誤注入）、反応（加熱/分解）、漏洩、練炭、排ガス、ガス器具等、火事/災害
- 4) その他：救出者/周辺被災、清掃、洗浄作業、塗装、運搬、消防設備、冷蔵/冷凍設備

(3) その他

別途作成している化学物質関連の規制・法律（化審法、毒劇法、水道法等）データベース検索ページや物性・毒性等の検索ページをリンクした。また、国内外の化学物質の被害に関する WWW サイトを、Alta Vista, Lycos 等の検索エンジンを用いて検索し、項目ごとに整理してリンクした。

考 察

1. 化学物質による健康被害の事事故例について

原因化学物質の種類は多岐にわたるが、事故の発生頻度が特に高い化学物質の種類はかなり限られている。収集した事例の中で特によく起きているものや代表的なものを、状況別および原因別に表にまとめた。（表1、表2）個々の事例については、結果の項の2-(2)に記載した WWW 検索画面（図1）から見ることができる。

(1) 家庭内や生活圏における事故

作業中の事故の場合は記録として残ることが多いが、家庭内や生活圏での事故の場合、原因がはっきりしているケース以外は、原因の特定やそれが本当に化学物質による被害だったかどうかを判断するのが難しいことが多い。家庭には、塗料、殺虫剤や防虫剤、洗浄剤、加工処理した衣料品、内装品、家具など化学物質を含む製品が多種あるが、実際に化学物質や製品により頭痛、吐き気などの症状が起きたとしても本人がそれと気がつかないケースもある。したがって、病院輸送などの処置がとられた場合や特に問題としてクローズアップされた場合を除き、事故として記録されるものは少ない。

(2) 作業時の事故

仕事上で扱う化学物質の種類は非常に多く、事故の原因となる物質の種類も多岐にわたっている。しかしその中でも特に事故が多いものは硫化水素、有機溶媒、一酸化炭素等である。事故は、換気が不十分、呼吸用保護具が設置されていないかもしくは正しい使用方法が徹底していないなかっ

Table. 1 Chemical Accidents categorized by Place

状況	場所	原因物質または製品	原因となる状況・行為
家庭内や生活圏	家庭内(浴室、トイレ等)	塩素ガス	塩素系漂白剤と酸性洗浄剤の併用
ク	家庭内(部屋、台所等)	一酸化炭素	暖房や調理
ク	家庭内	家庭用品(防水スプレー、塗料、殺虫剤、防虫剤、洗浄剤、加工処理した衣料品等)	
ク	屋内駐車場(住居とつながっている駐車場)	一酸化炭素	排気ガス
ク	アウトドアレジャー	一酸化炭素	車やテント内での練炭、木炭、豆炭等による暖房
ク	各種施設(ホテル、旅館、公共施設、ヘルスセンター、プール等)	塩素ガス	清掃時や消毒時に塩素系漂白剤と酸性洗浄剤の併用、あるいはプールなどで別の薬品を誤って注入。
ク	美容院、レストラン等の厨房	一酸化炭素	大型湯沸器やコンロ等の不完全燃焼
ク	周辺の化学工場からの有害物質の漏出による住居の巻き添え	塩素ガス、イソシアノ酸メチル(1984年12月のインド・ボバールの事故)、他各種	薬品の誤注入、反応、漏出、火災・爆発など
ク	道路での車両事故による漏出時の住居の巻き添え	各種化学物質	輸送中の横転、交通事故等による積み荷からの漏出
生活圏、作業中	火山、温泉	硫化水素	登山時、あるいは温泉の貯湯タンク等の湯ノ花除去作業時。
ク	ビルや地下駐車場など大型建物	二酸化炭素	炭酸ガス消火設備の誤作動等による噴出
作業場	化学工場	塩素ガス	反応、誤注入等。特に多いのが、タンクローリーで運んできた次亜塩素酸ナトリウムを誤って別のタンクに注入し塩素ガスが発生した事故。
ク	化学工場	その他各種化学物質	有害物質の漏出、反応、誤注入、誤操作、火災・爆発等。
ク	防火水槽、貯水槽、マンホールなど	一酸化炭素	工事の際のコンクリート養生のために練炭を使用している時に槽内に入りて中毒。
ク	汚水処理施設、廃水処理施設、し尿貯留槽等	硫化水素	老廃物、廃水、し尿等からの硫化水素の発生
ク	洗浄槽やタンク等、狭い場所や換気の悪い場所	有機溶媒	塗装作業やあく抜き作業などにおける有機溶媒中毒
ク	洗浄槽等	フロンガス	フロンガスは半導体や精密部品の洗浄剤として広く使用されているので、洗浄作業中に被災。
ク	漁船、倉庫などの大型冷蔵庫・冷凍庫	フロンガス	冷凍庫や冷蔵庫に冷媒として用いられているフロンガスの漏出による中毒、酸欠事故
ク	船倉	臭化メチル他	積み荷作業時の酸欠やくん蒸剤による中毒等
輸送中	タンクローリー、トラック、船、航空機等	各種化学物質	輸送中の横転、交通事故等による積み荷からの漏出
実験中	研究実験施設	各種化学物質	液体窒素による酸欠等

Table. 2 Chemical Accidents categorized by Cause

状況	場所	原因物質または製品	原因となる状況・行為
化学物質そのものによる事故	化学工場その他	各種化学物質	反応、漏出等
化学物質を含む製品による事故	家庭内その他	各種製品	塗料、殺虫剤、洗浄剤等
複数の物質から生成した有毒物質による事故	家庭、施設、工場等	塩素ガス	塩素系と酸性洗浄剤併用(清掃、消毒時)、タンクへの誤注入等
ク	住宅のあく抜き作業やしみ抜き作業中	二酸化塩素	亜塩素酸ナトリウムを含むかびとり剤とフッ化水素を含むあく抜き剤やしみ抜き剤の併用による二酸化塩素の発生
加熱により生成した有毒物質による事故		フッ素樹脂	フッ素樹脂を高温に加熱すると毒性の強いパーカルオロイソブチレン等が生成



化学物質による健康被害事例（データベース）

検索した後は、必ず「消去」ボタンをクリックしてから次の検索を行って下さい。

【検索方法その1】

日本語で物質名、キーワードなどを入力し、検索ボタンをクリックしてください。

	検索	消去
--	----	----

【検索方法その2】

原因物質のフィールドからは0～1物質選んで下さい。 場所、原因、その他のフィールドからはいくつでも選べます。

但し複数選択した場合は“and”で検索します。

(注：例えば、「家庭」と「生活圏」両方を選んだ場合は、どちらか一方を選んだ場合より出力件数がかなり少くなります。)

検索	消去
----	----

【原因物質】

塩素ガス 一酸化炭素 硫化水素 二酸化塩素 二酸化炭素

【場所】

- 家庭 生活圏 仕事 処理施設 温泉・火山 廉房
- 建物／駐車場 車 船 閉鎖／狭い場所 槽・タンク

【原因】

- 反応（混合／併用） 反応（誤注入） 反応（加熱／分解） 漏洩 練炭
- 排ガス ガス器具等 火事／災害

【その他】

- 救出者／周辺被災 清掃 洗浄作業 塗装 運搬 消火設備 冷蔵／冷凍設備

● 引用資料リスト

上記の検索結果における各事例の末尾の数字は引用資料番号です。



[ホームページにもどる](#)

国立医薬品食品衛生研究所 化学物質情報部
E-mail: incident@nihs.go.jp

Fig. 1 Retrieval Page for the Database on Chemical Accidents on the Internet

た、物質の適切な取扱い方法や事故発生時の対処方法に関する教育が不十分だった、といった原因によるものが多い。

意外に多くみられたのは、倒れた仲間を助けようとして有害ガスが発生している場所や酸欠状態の場所に入った作業者が同じように被災するケースだった。有害物質を除去したり呼吸用保護具を適切に着用してから立ち入るようにふだんから周知徹底しておく必要がある。

二酸化炭素やフロンによる事故の場合、被害が酸欠によるものかこれらの物質自身の毒性によるものか明確でない場合もあった。

2. 化学物質の健康被害事例収集における問題点

化学物質による健康被害事例を収集する過程で、次のような問題点がみられた。

(1) 情報を入手しにくい。

「情報不足」には、「情報がない」場合だけでなく、たとえ情報があっても「存在が知られていない」、「整理されていない」、「必要なときに容易に利用できる状況になっていない」場合がある。理由としては、情報が非公開、メンバーなど限られた人にのみ公開、特別のソフトやシステムで作成されていて一般の人はアクセスできない、等があげられる。

(2) 化学物質による健康被害の報告を受ける機関・組織がさまざまである。

化学物質の健康被害に関連する事故情報を取り扱っている主な機関としては、国の行政機関、都道府県等の衛生部局や保健所、消費生活センター、中毒情報センター、国民生活センター、製造、販売業者の相談窓口、各種業界団体等がある。組織が縦割りということもあり、報告を受けた機関相互の連携はほとんどなく、したがって被害の全体像を把握している機関はない。外国には、一定の様式を定めて一ヵ所で事故報告を受けるシステムが確立しているところもあるが、日本では上記の理由からこのような一元的な事故報告システムを作るのは今すぐには困難と思われる。

(3) 報告された事例のうち公表されるものは一部である。

プライバシーに係わる事故や会社の担当窓口に寄せられる製品に関する被害のクレーム等は公表されていない場合が多い。また、消費者等一般市民から健康被害に関する申し出を受けている機関の場合、健康被害の原因の究明や特定が困難な場合も多い。

3. インターネット利用の利点

これまで化学物質による健康被害事例についてさまざまな情報が存在するにもかかわらず、実際に多くの人に届く形にはなっていなかった。既述のように、関連する機関や整理様式がさまざまだったり非公開の情報が多いことなどが理由としてあげられるが、多くの人が簡単にアクセスで

きる適切な媒体がなかったことも大きな理由である。印刷物は現時点では最も普及している媒体であるが、内容の更新が困難という短所がある。機関ごとや細かい分野別にまとめたものが多く、また新たに出版されたものを常に把握するのは難しいので、全体像がつかみにくい。データベース（CD-ROM、オンラインなど）は一般に非常に高額だったりメンバー限定で、誰もがアクセスできる状況はない。

これらの問題を解決する有効な手段のひとつがインターネットの利用である。長所としては、(1)情報の更新が迅速かつ容易、(2)一度ハードを整備すれば新しい情報を提供するのは容易であり予算もさほどかからない、(3)情報を共有しやすく、重複を避けることができる、(4)各機関相互の連携をとりやすくなる、などがあげられる。

一元的な情報収集が困難であり、また各機関ごとにまとめ方が異なるという現在の問題点に関しても、関連機関がそれぞれホームページを設けて情報を提供すればユーザーは容易にアクセスできる。情報のまとめ方が機関によって異なっても各ホームページの中でそれぞれの形と特徴を生かしながら情報を有効に利用できるので、様式の違いはほとんど問題にならない。さらに、必要な情報がどこにあるかわからないという問題点に関しても、各機関のホームページにリンクできるガイドページを作れば、ユーザーはそこからいろいろな関連機関の情報に次々とアクセスでき、機能的に情報の一元化がはかられる。しかも機能的には一元化に近いものが得られながら、どこかの機関が組織的に全体の情報をまとめるといったことは必要ない。公開されていない情報の中には、情報自身は公開してもさしつかえないのに予算やマンパワー不足、あるいは適切な媒体がないといった問題で一般に提供できる形になっていないものも多い。インターネットの利用により、こうした情報が公開されるケースも増えていくと考えられる。

おわりに

本データベースの作成およびWWWホームページの作成は、平成8年度～9年度の厚生科学研究補助金による「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」の一部として行った。本研究の研究協力者である板倉ゆか子氏（国民生活センター）、木原正則氏（消防庁危険物規制課）、後藤京子氏（財日本中毒情報センター）、駒宮功額氏（防災都市計画研究所顧問）、佐々木美枝子氏（東京都立衛生研究所）、内藤裕史氏（茨城県立医療大学）のご協力およびご助言に感謝します。

文 献

<http://www.nihs.go.jp/incident/reference.html> に記載。

インターネットによる医薬品情報提供 II

山本美智子・中田琴子・藤山典子・神沼二眞[#]

Dissemination of Drug Information by the Internet

Michiko Yamamoto, Kotoko Nakata, Noriko Kabuyama and Tsuguchika Kaminuma[#]

We reported a system for dissemination of the drug information and its related subjects through the Internet (Drug Info Guide) in Bull. Natl. Inst. Health Sci. 1996. Since then, further information were added in the system. These include the web site for ICH Guideline in Japanese and English, and Australasian Cochrane Centre mirror site. Furthermore, the titles and their abstracts which were reviewed by Cochrane groups in Cochrane Library were translated in Japanese, and these information together with the search guide for useful resource regarding the drug information were also presented on WWW.

Keywords: ICH, Cochrane Centre, Medline

はじめに

1996年衛試報告¹⁾において、医薬品とその関連情報提供システム (Drug Info Guide) について報告した。その後、同システムにおいて、医薬品情報提供に関する実験²⁾を行い、情報内容を更新、充実した。また、日英両語によるICHガイドラインと関連情報のwebサイトおよびAustralasian Cochrane Centre のミラーサイトを構築した。さらに、Cochrane Libraryにおいて同グループがレビューを行っているタイトルとその抄訳の日本語版や医薬品に関する有用な情報源の検索案内機能をWWWで提供した。

日米EU医薬品規制整合化国際会議 (International Conference on Harmonisation: ICH) では、「日米EU三極の新医薬品の承認審査資料関連規制の整合化を図ることにより、データの国際的な相互受入れを実現し、有効性や安全性の確保に妥協すること無く、臨床試験や動物実験等の不必要な繰り返しを防ぎ、承認審査を迅速化するとともに、新医薬品の研究開発を促進し、もって、優れた新医薬品をより早く患者の手元に届ける」という目的の元に、行政、製薬業界及び学会からの参加で会議が行われ、その成果として合意内容がガイドライン等として公表されている。このガイドラインを迅速に伝えるために、当所のWWWによる提供を開始した。

Cochrane Centre³⁾は、無作為化比較試験 (Randomized

Controlled Trial: RCT) を中心に、世界中の臨床試験をシステムティックにレビュー (systematic review) する、医療テクノロジーアセスメントのプロジェクトを推進している。日本でも、これらの情報に迅速にアクセスできるよう、Australasian Cochrane Centre のミラーサイトを設置した。これらの情報コンテンツの更新について報告する。

方法および結果

本システムは国立医薬品食品衛生研究所における情報と計算のための基盤環境 (NICI) 上で構築されており、その公開WWWサーバおよびデータベース管理システム (SYBASE等) を用いている⁴⁾。

使用したハードウェア

Windows NT Server および Windows 95 がインストールされているPC

使用したソフトウェア

(1) Micrograffix PhotoMagic, (2) Micrograffix Windows Draw6, (3) Visio Professional, (4) Deskscan II, (5) Adobe Acrobat 3.0J, (6) Internet Information Server (IIS), (7) Microsoft Access 95, (8) Graphic Converter

1. ICHガイドラインと関連情報

ICHは医薬品の承認申請に関わる科学的データの作成について、日米欧の共通ガイドラインを作成することを目的とするプロジェクトである。その組織は主催者である、日本の厚生省(MHW)と日本製薬工業協会(JPMA)、米国の食品医薬品局(FDA)と米国製薬工業協会(PhRMA)、欧州委員会(EC)と欧州製薬団体連合会(EFPIA)およびICH事

[#] To whom correspondence should be addressed: Tsuguchika Kaminuma, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel:03-3700-9540; Fax:03-3700-7592; E-mail: kaminuma@nihs.go.jp

務局の国際製薬団体連合会(IFPMA)から構成される。この他に、世界保健機関(WHO)、スイス薬務局(EFTA)、カナダ薬務局がオブザーバーとして加わっている。ICHの国際会議は2年に1回開催される。その他に、運営委員会(企画立案、意志決定組織)が年に約3回、専門家委員会(ガイドライン等の作成)が原則として半年に1回開催される。ICHには、有効性(Efficacy)、品質(Quality)、安全(Safety)および複合領域(Multidisciplinary)の4つの部門があり、全部で44のトピックスが設けられた。平成10年2月までに36のトピックスにおいて最終合意(ステップ4)に達し、合意内容がガイドライン等として公表されている。厚生省医薬安全局(審査管理課、安全対策課)では、これを日本語訳し同様に公表している。ここでは、医薬安全局から当所化学物質情報部に提供された英文ファイルや日本語訳ファイル、およびハードコピーによる図、表等を用いてWWWに掲載した。

1. 1 ICH ガイドライン情報の提供様式

医薬安全局から提供された関連情報やICHの概要等を、ニュース、ICHについて、品質、有効性、安全性、複合領域の6項目に分けた。品質、有効性、安全性については、表形式で、トピックス別に、ガイドライン名、ステップ、通知日を記した。こうした構成により、どのトピックスがどのステップにあるのか、全体を把握できるように作成した。通知に関しては日本語のみだが、その他については日本語と英語版の両方掲載した。ICHプロセスにおけるステップは以下の通りである。

ステップ1：トピックの選定、問題点の分析

EWGの設置およびICH調和ガイドライン案の起草

ステップ2：ICH調和ガイドライン案の決定、承認

各国におけるガイドライン案の内示、意見聴取

ステップ3：寄せられた意見に基づくガイドライン案の修正

ステップ4：ICH調和ガイドライン最終合意

ステップ5：各国が合意内容を国内規制に取り入れる。

1. 2 WWW掲載のためのファイル変換

一太郎、テキスト、Wordファイルおよび印刷物とバラバラに提供された情報ソース形式の統一化をはかった。一太郎、テキストファイルについては、タグを挿入し、体裁を整えHTMLファイル化した。Wordファイルについて、はじめの頃は、Word機能を用いHTMLファイル化したが、図、表、グラフが挿入されているケースも多いため、PDF(Portable Document Format)ファイルに変換した。PDFファイルは、コンピュータ画面上と印刷体を一致させる技術で、ファイルサイズも小さく、改ざんされにくく。印刷物については、図、表、グラフが主だったので、

Deskscan IIを用いてスキャンし、まずPICTファイルで保存した。ついで、Grafic ConverterでGIFファイルに変換した。場合によって、Micrografx Windows Draw6、Visio Professionalを用いて大きさを調整した。

1. 3 ICHガイドラインホームページの作成

ICHガイドラインホームページのURLはhttp://www.nihs.go.jp/dig/ich/ichindex.htm(Fig. 1)である。医薬品規制情報の電子的伝送標準(ESTRI Electronic Standards for the Transfer of Regulatory Information)については、同国内ワーキンググループ作成によるWebページを提供していただき、ファイルを当所公開用サーバのNIHSのWebdocsのフォルダに置いている。また、ICH Home Page、ICH-M2 ESTRIのWebページ、また一部のファイルについて当所薬品部の掲載ページへリンクした。また、PDFファイル文書を読むための案内(インストール元)を付記した。

2. Cochrane関連情報

現在、Cochrane Centreは、北米に5ヶ所(米国4ヶ所、カナダ1ヶ所)、欧州に7ヶ所、豪州、南米、アフリカに各1ヶ所と計15ヶ所に設置されている。日本は今のところAustralasian Cochrane Centreの管轄区域に入っている。各CentreのWWW上ホームページには同一情報が載せられているが、日本国内でも迅速に情報を得られるように、当所の公開用サーバにAustralasian Cochrane Centre用のフォルダを設け、ミラーサイトを開設した(Fig. 2)。最初はファイルを送ってもらい、当所で情報を更新したが、その後、Australasian Cochrane CentreのDavid Badger氏がリモートで随時更新している。

このプロジェクトの成果は、Evidence-Based Medicine(EBM)の情報インフラとしてCochrane Libraryという名前でデータベース化されている。そのreview titlesとabstractsの日本語版ページは、日本語訳ワーキンググループによって作成されたもので、同グループの福井直仁氏(高松日赤病院薬剤部)によって、同様に当所ホームページに設置された。

3. Drug Info Guide Home Pageのその他の更新情報

3. 1 医薬品情報検索と利用ガイドコーナー

医薬品情報検索と利用ガイドコーナーを新たに設けることで、WWW上の情報を効率的に検索できるようにした。主な医薬関連情報URLサイト検索データベース、文献検索を中心とした医薬品情報の検索と活用ガイド等を掲載した。



Fig. 1 ICH Guideline and its related information Homepage

3. 1. 1 主な医薬関連情報 URL サイト検索データベース (Fig. 3)

主な医薬関連情報 URL サイト検索データベースは、まず、有用と思われるサイト情報230をピックアップし、項目別に分類し、その URL、概要およびコメントをエクセルの表に作成した。次に、以下の手順でデータベース化した。

- (1) ファイルマネージャーを起動し、ホームページ用のディレクトリを作成。
- (2) インターネットサービスマネージャーにより、作成したディレクトリのエイリアスと権限を設定。
- (3) 複数のクライアントから同時にデータベースへのアクセスを可能にするため、Microsoft オフィスのワーカーグループアドミニストレータを起動し、Access のワークグループの設定。
- (4) Excel で作成したファイルを Access のテーブルにインポートしデータベースを作成。

(5) ODBC でシステムデータソースを設定。

(6) IDC ファイル (データベースへの問い合わせ内容を記述したもの), HTX ファイル (データベースからの出力結果を表示するためのフォーマットを記述したもの) を作成。

このデータベースは、キーワードもしくは20に分類した項目 (プルダウンメニュー) による検索を可能とした。

3. 1. 2 文献検索を中心とした医薬品情報の検索と活用ガイド

文献検索を中心とした医薬品情報の検索と活用ガイドは、Web 上でフリーでアクセス可能な Pub Med, Internet Grateful Med, Medscape Medline, HealthGate Medline の 4 つの Medline サービスのヒット件数、検索方法、特徴を調査した (Table 1, 2)。ヒットしたデータ件数で比較すると、更新性の点において PubMed が最も優れていた。WebSPIRS は Silver Platter の CD-ROM で、所内 LAN 経由で Web 上から Medline が検索できるように設



Fig. 2 The mirror site of Australasian Cochrane Centre and the Cochrane Library in Japanese in NIHS

定されているが、その結果も併記した。

各サービスを比較すると、データの更新性、検索スピードの速さ、信頼性、検索の多様性において、PubMed、Internet Grateful Med の利便性が高かった。

4. 考察

4. 1 Drug Info Guide Home Page の利用度

医薬品情報提供システムの構築後の Drug Info Guide (日本語インデックスページ <http://www.nihs.go.jp/dig/jindex.html>)への外部からのアクセス数は、月毎の集計で見ると、徐々に伸びており、1998年5月では5,000を上回った (Fig. 4)。Web 上の情報をどのように活用できるかという点にフォーカスを合わせたページは、現時点で、国内において殆どなく、関係各紙で紹介されたこともあり、医療、大学関係者から一般の人まで幅広く利用されている。メールでの問い合わせが多く、月平均すると約100通前後

である。国内外の治験薬、抗がん剤、また海外での服用薬、海外からの国内の認可薬情報、臨床試験のガイドラインの問い合わせなど非常に多岐にわたった。また、リンクを張りたいという希望が多数寄せられた。

4. 2 医薬品情報提供システムの構築によるネットワークの広がり

医薬品情報提供システム (Drug Info Guide) の構築後、いくつかの機関、グループとの提携によりネットワークの輪が広がった。インターネットナルな薬系ネットワークである PharmWeb のミラーサイト (日本語版含む) の設置に始まり、日仏薬学会による「info sante」日本語版の掲載、名城大学薬学部医薬情報センター「医薬品情報の資料300選」データベース、国立国際医療センター薬剤部による N.H.S. DI-News データベース (医薬品情報 Q&A) やび薬のガイド データベース (医薬品・治療研究会) 等を作成した。

ID	分類項目	情報提供	コメント
1	医療安全性情報	FDA CDER(Center for Drug Evaluation and Research)	FDA医薬品評価・研究センターの医薬品情報に、販売の承認・副作用年次報告、副作用(ADE)報告データ認可リスト、取り締まりレポート、ラベリング改訂情報、OTC薬、Orange Bookなど
2	医療安全性情報	FDA MEDWATCH(The FDA Medical Reporting Program)	MEDWATCHについて、安全性情報(ドクターレターなど)
3	医療安全性情報	FDA Enforcement Report	FDA取締まりレポート(FDA規制活動に対する措置の週間情報)
4	医療安全性情報	FDA Medical Bulletin	FDAメディカル ブレイン(医療専門家向け送付情報)
5	医療安全性情報	WHO Collaborating Centre for International Drug Monitoring Newsletters(ADVERSE REACTION NEWSLETTER, Uppsala Reports)	WHO副作用報告、各国の副作用情報のダイジェスト版
6	医療安全性情報	NIH Clinical Alerts	NIHの治療において罹患、致死に重要な影響を及ぼす臨床警告情報
7	医療安全性情報	CDC MMWR(Morbidity and Mortality Weekly Report)	米国疾病防護センター(Centers for Disease Control and Prevention)実行の罹患、致死に関する速報(メーリングリストも可)

Fig. 3 The database for search URL site of drug information

Table. 1 The search results of the Medline services on the Internet

各 Medline Service における hit 件数	検索語「troglitazone + liver」 での hit 件数				検索語「terfenadine + QT」 での hit 件数			
検索実施日(月/日) 検索期間 (1966-検索実施日)	1/20	3/5	4/27	5/25	1/20	3/5	4/27	5/25
PubMed	16	18	24	29	48	48	49	50
Internet Grateful Med	16	18	23	27	48	48	49	50
Medscape Medline	14	14	22	25	40	40	49	49
HealthGate Medline	14	13	22	23	44	38	48	49
WebSPIRS(CD - ROM)	14	14	16	23	40	40	47	48

Table. 2 The comparison of Medline Services on the Internet

Medline Service	PubMed	Internet Grateful Med	Medscape Medline	HealthGate Medline	WibSPIRS (Silver Platter)
URL	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/	http://igm.nim.nih.gov/	http://www.medscape.com/mis/FormMedlineInfLive.html	http://www.healthgate.com/HealthGate/druginfo/di.search.html	所内限定
利用形態	無料	無料	無料 (要登録)	無料	有料 所内では8ユーザー同時使用可
アクセス速度	速い	速い	かなり速い	普通	速い
データ収録期間	1966- 年代指定可	1966- 年代により7分割 (選択可)	1966- 年代により8分割 (選択可)	1966- 年代指定可	1966- 年代により23分割 (選択可)
データの更新性	速い 毎週	速い 毎週	遅い 1997迄	遅い 1997迄	遅い 毎月
検索画面	ピックリスト (Basic Search), プルダウンメニュー (Advance Search)	プルダウンメニュー	ピックリスト	ピックリスト (Basic Search), プルダウンメニュー (Advance Search)	プルダウンメニュー
検索方法	Boolean MeSH field 指定 and, or, butnot, range で検索 検索結果の履歴表示	MeSH MeSH tree 階層 構造表示 field 指定 and, or で検索	Boolean field 指定 and, or, not で検索	MeSH, Boolean, SB (Subset Journal) 指定可 and, or, not で検索	MeSH, Thesaurus, fiel 指定, and, or, not で検索 検索結果の履歴表示
検索語の設定	ワイルドカード検索 (*を用いて前方一致)	*を用いて前方一致	自動的に派生語まで検索 (*を用いて前方、中間、後方一致)	自動的に派生語まで検索	ワイルドカード検索 (*を用いて前方一致)
フルテキストサービス	米国, カナダに限定	米国, カナダに限定	有償(8ドル + copyright royalty/ mail等)でサービス	有償(30ドル/mail, 40ドル/FAX等で) サービス	不可
その他	100誌へのフルテキストリンク, DNA/ 蛋白シークエンス データベースと3D 構造データへのリンク	HealthSTAR, AIDSDRUGS, DIRLINE 等 NLMの他の10の医学データベース利用可	Toxline 利用可	検索語を自動的に MeSH 変換 (ReADER)	Chembank Toxlineとの複合検索可, ネットワーク環境が安定
ダウンロード (検索結果)	text, HTML 形式 で保存可 (Windows, Mac 用 指定可)	text, HTML 形式, 文献管理ソフト可 読形式で保存可	text, HTML 形式 で保存可	text, HTML 形式, 文献管理ソフト可 読形式で保存可	text, HTML 形式, 文献管理ソフト可 読形式で保存可

(1998年1月25日現在)

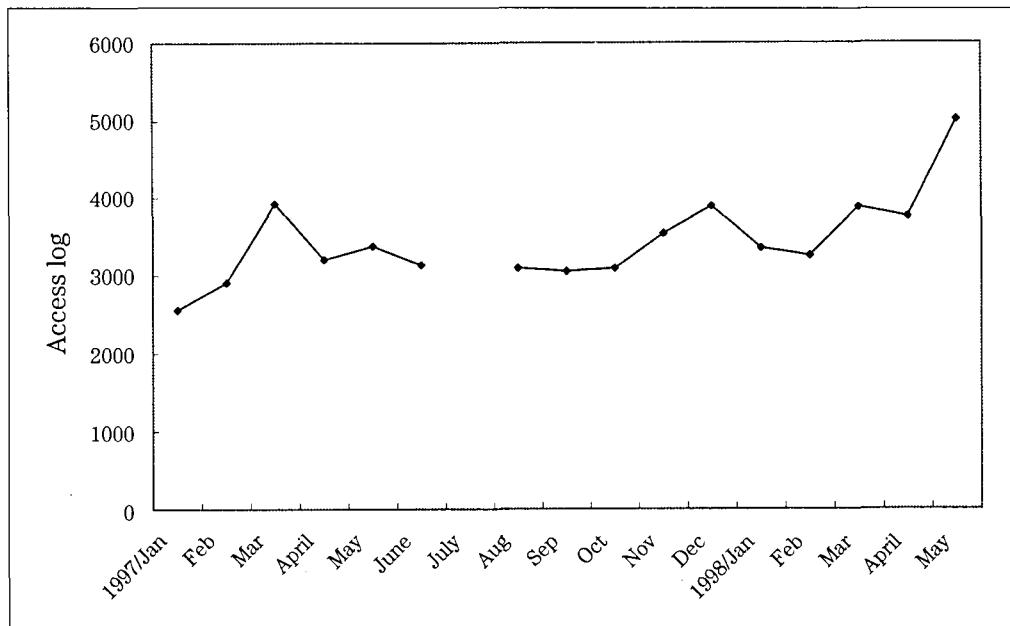


Fig. 4 Access log of Drug Info Guide homepage

今回、Australasian Cochrane Centre のミラーサイトの設置、ICH ガイドラインと関連情報の掲載など幅広い医薬品情報の収載により、多くの人々の情報収集・交換に役立つものと思われる。

医薬品に関して、世界的なハーモナイゼーション（ICH）の動きがある。一方、インターネットの世界でもボーダーレス時代を迎えており、特に、インターネットは、海外からのニュース性の高い情報を入手したり、文献検索等において非常に有効なツールである。また、疾患、治療（薬物治療）のガイドラインや最新の治療法にいたるまで幅広い情報に簡単にアクセスし、それらを相互に関連付けた利用を可能にしつつある。

すでに、米国では、消費者レベルの情報はもちろんのこと、医師、薬剤師向けの専門家レベルの情報も公開されているものが多く、日本でもそうした情報を簡単に入手できるようになった。例えば、FDA では、1969年から副作用報告（Adverse Drug Reaction Reporting）1万件以上が、データベース化され Web 上で入手可能である。抗がん剤については、Phase I からの情報が米国国立がん研究所（NCI）の CancerNet PDQ（Physician Data Query）を通じ公開されている。このように医薬品情報は、国を越えて、簡単にアクセスできるようになってきており、確実に disclose されつつある。今後、医薬品情報においても、イ

ンターネットは、地域、国を越えてネットワークを広げ、情報の発信・入手など情報交換において、大いに貢献できるものと期待される。

謝 辞

本報告作成にあたり、厚生省医薬安全局審査管理課 富永俊義国際化専門官、会田真理さん、当所ヘルプデスク 日立ソフトウェアエンジニアリング（株）伊藤裕規氏、当所化学物質情報部 村瀬尚子さんにご協力を賜りました。ここに、深く感謝いたします。

文 献

- 1) 山本美智子、中野達也、石川恵司、五十嵐貴子、神沼二眞：インターネットによる医薬品情報提供、国立衛生試験所報告第114号、pp84-88 (1996)
- 2) 山本美智子、中野達也、神沼二眞、折井孝男、深野竜史、佐野 肇、高田満男：インターネットを基盤とする医薬品情報の提供に関する実験、日本薬学会第117年会講演要旨集4、pp254 (1997)
- 3) 山本美智子：コクランセンターについて、月刊薬事、薬業時報社、37(7), pp175-178 (1995)
- 4) 中田琴子、中野達也、高井貴子、神沼二眞：国立医薬品食品衛生研究所における研究情報基盤整備の進展、国立医薬品食品衛生研究所報告第116号、pp92-100 (1998)

IPCS からコメントを依頼された環境保健クライテリアのドラフトについて(1997年度)

大竹千代子[#]

First Drafts of the Environmental Health Criteria (EHC)
Circulated for Comments by IPCS in 1997.4~1998.3.

Chiyoko Ohtake[#]

Summaries of the first draft of Environmental Health Criteria (EHC), which were circulated for comments by IPCS in the period of 1997.4~1998.3, are presented. EHC drafts on 7compounds were received in this period..

Keywords: EHC, IPCS

1. はじめに

1997年4月から1998年3月末までに、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7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 Scientific Principles and Methods for Assessing
Allergic Hyper-sensitization Associated with Exposure to
Chemicals (1997/5/10)

「化学物質への暴露に伴うアレルギー性過敏症評価の科学的原則と方法」のドラフトの目次を、以下に紹介する。

目 次

1. 免疫システム-味方か敵か？
2. 免疫システムについて
3. アレルゲン性 (Allergenicity) に影響する要因
 - 3.1 はじめに
 - 3.2 遺伝的なアレルゲン性
 - 3.3 SAR (構造活性相関) モデル
 - 3.4 感作性に影響を及ぼす外因性の要因
(暴露、大気汚染、金属)
 - 3.5 感作性に影響を及ぼす外因性の要因

(遺伝影響、耐容量など)

4. もっとも重大なアレルギー疾患の臨床的考察
 - 4.1 化学物質接触によるアレルギー性皮膚反応
 - 4.2 アトピー皮膚炎
 - 4.2 アレルギー性鼻炎性結膜炎
 - 4.3 化学物質接触によるアレルギー性喘息の臨床的考察
 - 4.4 食物アレルギー
 - 4.5 医薬品、化学物質および環境因子による自己免疫疾患
5. 喘息とアレルギー疾患の疫学
 - 5.1 はじめに
 - 5.2 アレルギー症の定義と測定法
 - 5.3 有病率とその経時傾向
 - 5.4 年齢および性別
 - 5.5 移住
 - 5.6 ウィルス性の感染
 - 5.7 社会経済的条件
 - 5.8 職業暴露
 - 5.9 食事
 - 5.10 兄弟や集団の数
 - 5.11 室内環境
 - 5.12 室内および屋外環境に原因する暴露
 - 5.13 屋外環境
 - 5.14 結論と疫学的な展望
6. 有害性の判定
 - 6.1 はじめに
 - 6.2 有効性と性質の確認
 - 6.3一般毒性テストからの一般的なてがかり
 - 6.4 構造活性相関

* To whom correspondence should be addressed: Chiyoko Ohtake; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo, 158-8501, Japan; Tel:03-3700-1141 ext361; Fax:03-3700-7592; E-mail: ohtake@nihs.go.jp

- 6.5 *In vivo* の取り組み
- 6.6 *In vivo* の予知試験
- 6.7 食物アレルギーの試験
- 7. リスクアセスメント
 - 7.1 はじめに
 - 7.2 アレルギーのリスクアセスメント
 - 7.3 アレルギーのリスクアセスメントの要因
 - 7.4 情報について
 - 7.5 結論
- 8. 用語解説（全381ページ）

2. Fumonisins B₁ (フモニシン B₁)

(化学式： $C_{34}H_{59}NO_{15}$ ，分子量：721)

純品のフモニシン B₁ はアセトニトリル-水溶媒あるいはメタノールに可溶な白色で吸湿性の粉末である。フモニシン B₁ は、トウモロコシ (maize) に付く最も一般的な菌類である *Fusarium moniliforme* および *F. proliferatum* を主とする、異なる複数の *Fusarium* 種から產生される。特に実の腐敗が *fumonisins B₁* を増加させる。

フモニシン B₁ は比較的暖かい地域、米国、カナダ、ヨーロッパ、南米およびアフリカ産のトウモロコシとトウモロコシベースの製品から検出されている。トウモロコシの乾燥ミルの過程で、ふすま、胚芽および粉に分布する。

フモニシン B₁ はしばしば飼料中に見出されるが、時には人の食料中にも ppm レベルで存在する。ミルク、肉および卵に移行した例はほとんど無い。ヒトへの暴露はカナダ、イスラエルおよび南アフリカのトランスケイでそれぞれ 0.11, 0.03 および 14 µg/kg 体重/日と推定されている。

実験動物や *in vitro* 試験の結果、ラット、マウスおよびブタでは肝毒性、鶏およびラットでは胎児毒性および催奇形性、雄のブタ、ラットおよびウサギでは腎毒性が、雌のブタ、ラットおよびウサギに腎毒性が観察された。フモニシン B₁ に暴露されると、いくつかの生物種で多くの免疫学的变化が関連してくる。また、ラットの肝臓で非突然変異誘発性の発がんイニシエーターと発がんプロモーター、ラットでは肝細胞がんと胆管細胞がんの原因となる。フモニシン B₁ が完全な発がん物質と結論するには、証拠が不十分である。

動物のフモニシン暴露を評価する優れたバイオマーカーである、尿と血清中の *S_a* (スフィンガニン) / *S_o* (スフィンゴシン) 比の測定法が、ヒトへの影響を知る上でも、利用される。フモニシン B₁ はスフィンガニン N-アリル移転酵素の阻害することにより、スフィンゴ糖脂質生物合成 (セラミドシンターゼとして知られている) を阻害する。これはフモニシン暴露後、組織と体液の中にあるフリーの *S_a* を濃縮させ、*S_o* に対する *S_a* 比の増加の原因となる。

高い濃度でヒトに暴露された事故の場合でも、急性フモ

ニシン B₁ 毒性は記録されていない。入手しうる疫学的な証拠によれば、南アフリカのトランスケイやイタリア/西ヨーロッパにおいて、食餌による暴露と食道がんの間の関連の可能性が指摘されている。ヒトの食餌からの暴露の安全基準は、トウモロコシをカロリーの上で高い割合で摂取している集団に対しては注意が必要である（開発途上国が該当する）。(全115ページ)

3. Indicators for Policy and Decision-making in Environmental Health – Measuring Health and Environment Linkages to Achieve Health for All

(環境保健における政策と意思決定のための指針値－万人の健康を達成するために健康と環境のつながりを計測する)

環境によるヒトの健康への影響についての関心が、先進国および開発途上国の双方で大きくなっている。開発が飽食と資源の枯渇を招いているのと同じように、開発の遅れも貧困をもたらし、この両方が世界中の環境保健を過酷な状態に導いている。

このドキュメントは、環境保健における政策と意思決定に利用される指針値開発の基礎になることを目的として、OECD, SCOPE, CSD (UN 持続可能な開発委員会), WHO, UNEP, などの協力で作成されたものである。

目次を以下に紹介する。

1. 環境保健の本質とその範囲について
2. 健康と環境/開発に関連した国際的な流れ
3. 健康と持続可能な開発の新しいアプローチ
4. ヘルスセクター責任制と情報の必要性
5. 指針値の特徴と利用の仕方
6. 指針値の導出における国際的なイニシアティブ
7. 環境保健指針値のタイプ
8. 指針値の枠組みの考え方
9. 環境保健指針値の導出における技術的な問題
10. コアとなる指針値とそれらの構築
11. 指針値の導出と施策決定におけるプロセスの問題
12. 結論
13. 文献
14. 付録 (全115ページ)

4. Environmental Health Criteria on Scientific Principles and Methods for Human Exposure Assessment

(ヒトの暴露アセスメントのための科学的原則と方法における環境保健クライテリア)

IPCS は従来リスク評価方法論については、研究方法 (疫学、毒物動態など)、毒性の種類 (神経毒性、免疫毒性など)、対象ヒトのサブグループ (高齢者、妊娠婦など)、あるいは化学品の用途 (農薬、食品添加物) 每の環境保健

クライティアシリーズを発行してきた。

最近は特に「健康リスクの評価—ガイドンス値の導出」や、「バイオマーカーとリスクアセスメント」などリスク評価の手法そのものをとりあげたシリーズを作成している。これらは、IPCSのリスク評価手法国際ハーモニゼーション計画（リスク評価の相互理解と受け入れを目指しており、標準化とは異なる）の一環をなすもので、本ドラフトももののひとつといえる。

曝露評価はリスク評価の重要な要素であり、評価対象物質・媒体・ヒト集団、状況、目的により、さまざまな手法が開発されているが、ドラフトには曝露評価を構成する基本的な要素、データの取り方、解析方法などが記述されている。

1996年7月当研究所で、ドラフト案の執筆者をmajoredしたドラフト案検討国際ワークショップが開かれた。本ドラフトは、主たる執筆者が大気、ことに室内空気の汚染物質による健康影響の研究者であり、この分野の実例が多く引用されているところにひとつの特徴がある。

目次を以下に紹介する。

1. 曝露の定義
 2. ヒトの曝露情報の利用
 3. 曝露研究の戦略とデザイン
 4. 環境曝露アセスメントにおける統計的な手法
 5. タイムパターンと曝露アセスメントの利用
 6. ヒトの曝露のモデル化
 7. ヒトの曝露の測定: 大気、水、および食品
 8. 生活の塵の採集
 9. 生物起源の粒子の採集
 10. 生物マーカーによる曝露の評価
 11. 曝露研究の質的な保証
 12. 曝露アセスメントの例と、ケーススタディ
- (全381)

No.5 *Bacillus Thuringiensis*

(Bt : チューリンジエンシス菌)

Common name: *Bacillus Thuringiensis*

このドキュメントでは Bt (*Bacillus thuringiensis*), Bc (*Bacillus cereus*), など10種類の *Bacillus* について述べている。

Bt は、芽胞に隣接して特徴的な結晶を形成する条件依存型嫌気性生物、グラム陽性菌である。ほとんどの Bt は、一つ以上のパラ胞子結晶を合成することが可能である。Bt はコウチュウ目、ハエ目、チョウ目、に有害であるため、Bc (*Bacillus cereus* セレウス菌) と区別される。

殺虫性結晶タンパク (ICP) を伴って胞子が形成された Bt, あるいは胞子と結晶タンパクとの混合物が、感受性の強い昆虫の幼生によって摂取される。ICP の効果は、昆

虫の中腸内での ICP の溶解性に依存している。

毎年、有害生物制御のために、Bt がおよそ3,000トン使用されている。施された後、生態系では植物の組織中で徐々に週、月、年の単位で減少していく。しかし、ICP は時間、日の単位で生物学的に分裂し活性がなくなる。

コウチュウ目、ハエ目およびチョウ目に特に強い殺虫性を示す Bt の亜種は、非標的生物にはほとんど直接的な害はないようである。ヒトのマラリアやオンコセルカ症のベクターである蚊や蝇の制御のために、Bt 亜種の *israelensis* (Bti) が使われてきたが、水棲昆虫のいくつかの種類は実験室でも野外でも Bt に弱い。毒物が混入していない Bti は非標的生物の大多数にたいして有害な影響をおよぼさない。

Bt のヒトへの曝露と影響として、Bt を野外で施用するとエアゾールになり、作業者の皮膚への曝露を導き、一方、Bt の農業での使用は、飲料水や食品の Bt 汚染の原因となることが挙げられる。植物細胞、種子および種子結晶性混合物に対する抗体の強さについては、Bt 敷布に従事した労働者に関する報告があるが、有害な健康影響は見られなかった。散布の際の皮膚や眼の刺激による症例報告があるが、これらの影響は長期毒性を与えない。（全104ページ）

No.6 Fluorides and Fluorosis (second edition)

(フッ化物とフッ素 (沈着) 症)

このドキュメントでは人、動物、およびその他の生物への、無機起源のフッ化物の曝露とその影響について焦点が合わせられた。フッ化水素、フッ化カルシウム、フッ化ナトリウムおよび 6 フッ化硫黄は、基本的な無機フッ素化合物であるので、環境放出量、環境濃度あるいは生物に対する毒性に関して、これらの物質のデータを重視している。フッ化水素は無色で、刺激性があり、有機溶媒および水によく溶け、フッ化水素酸となる液体あるいは气体である。フッ化カルシウムは水や希酸、希塩基に溶けにくい無色の個体、フッ化ナトリウムは無色から白色の水にやや溶ける個体である。6 フッ化硫黄は水にすこし溶け、エタノールや塩基に容易に溶ける不活性ガスである。

フッ化物は自然界で鉱物の風化、火山からの噴火、海洋のエアロゾルによって環境に放出される。人為的には、煙霧の放出、水処理、鉄鋼業、アルミニウム、銅およびニッケルの精練、リン鉱石や肥料の製造、などからも放出される。また、飲料水のフッ素化と同様に、フッ素を含んだ農薬の使用が人工起源フッ化物の放出に関わっている。

表層水の環境レベルは一般に0.01~0.3 mg/l である (フッ化物はフッ化物の遊離イオン, F⁻ として定量している。以下同様)。海水は淡水より多く含んでおり、1.4~1.5 mg/l である。地熱や火山のある地域では、温泉や間欠泉水中に25~50 mg/l の濃度がしばしばみられる。

通常、飲料水中のフッ化物濃度は 2.0 mg/l ぐらいまでであるが、環境濃度に準じて、飲料水中にもフッ化物が含まれ、およそ $3\text{ mg/l} \sim 20\text{ mg/l}$ までの報告がある。虫歯予防のためにフッ素添加された飲料水は、通常 $0.7 \sim 1.2\text{ mg/l}$ の範囲である。

ほとんどの食品中にフッ化物は痕跡程度含まれる。お茶の葉と魚類には高い濃度が存在する。カナダでの109の食品の検査によれば、日常食品中に $0.01 \sim 0.8\text{ }\mu\text{g/g}$ 、穀物 $0.012 \sim 1.02\text{ }\mu\text{g/g}$ 、果物 $0.01 \sim 0.58\text{ }\mu\text{g/g}$ 、肉類・魚類・卵 $0.04 \sim 4.57\text{ }\mu\text{g/g}$ 等となっている。大気中には通常は $0.1\text{ }\mu\text{g/m}^3$ 以下で、中国ではフッ化物に富んだ石炭を使う地域で $6\text{ }\mu\text{g/m}^3$ 、室内で $155\text{ }\mu\text{g/m}^3$ の報告がある。土壤中には $20 \sim 1,000\text{ }\mu\text{g/g}$ 検出される。

骨の無機質化や形成の阻害、骨折後の治癒の遅れ、骨の量やコラーゲン合成の減少、等の骨格への影響は、フッ化物を経口により3～5週間与えられたラットの研究により示されている。また、ウサギでは 2.3 mg/kg 体重/日以上のフッ化物の投与による100日間の実験で、生物学的および組織学的な影響が多くの組織で見られた。

培養されたマウスやヒトのリンパ芽球細胞では、フッ化物はしばしば変異原性を示すが、原核生物細胞中では変異原性を示さない。フッ化物は沢山のタイプの細胞で染色体異常が示されている。しかし、染色体異常を引き起こすパターンは、DNAの合成/修復の阻害を含む染色体異常誘発のメカニズムと一致しているが、フッ化物とDNAの間の直接の作用と言うよりはむしろ、DNAの合成/修復に関連する蛋白質の合成に影響を及ぼすためである。

ヒトへの影響は、骨への影響がフッ化ナトリウムを投与された骨粗しょう症の臨床研究で見られた。 $40 \sim 60\text{ mg/day}$ 、18ヶ月間与えられた女性の骨粗しょう症の患者にステージ1の骨格フッ素沈着症が現われた。フッ化ナトリウム 40 mg/day 以上の投与では、骨が無機化する現象が現われる。

フッ化ナトリウムを 60 mg/day 、5年間与えられた患者では、肝臓と腎臓への影響が観察された。（全176ページ）

No.7 Disinfectants and Disinfectant By-Products

(殺菌剤と殺菌剤副生成物)(ドラフトにはサマリーが未収載)

水の殺菌には塩素が利用されているが、これが微量の有機化合物と反応し、有害な塩素化合物を飲料水中に生成する可能性がある、という理由で、塩素殺菌の問題が白日の下に曝されてきている。国の飲料水基準を満足する水供給システムを確保するために、一般的な臨機応变措置として、殺菌剤による副生成物前駆体を取り除くこと、別の初期殺菌方法を用いること、および副生成物の除去システムを確保することが考えられる。必須の殺菌には、塩素、次亜塩素酸、塩素酸、臭素化合物、クロラミンおよびオゾンなど

が使用される。

WHOは、飲料水中の亜塩素酸および亜臭素酸濃度の暫定ガイドライン値を、それぞれ $200\text{ }\mu\text{g/l}$ と $25\text{ }\mu\text{g/l}$ と勧告している。米国における飲料水中のトリハロメタン(THM)の平均は $40\text{ }\mu\text{g/l}$ である。

無機物の殺菌剤副生成物(DBP)として、 HN_2Cl 、 HOBr 、 ClO_2 、 ClO_3 、 BrO_3 の挙動、物性などについても述べている。

殺菌剤について

塩素による有機ハロゲンのDBPの生成では、トリハロメタン(THM)、ハロアセタート(HA)、ハロ酢酸(HAA)、ハロアセトニトリル(HAN)、ハロケトン(HK)、クロルピクリン(CP)、および抱水クロラール(CH)を取り上げている。非トリハロメタンのハロゲン化有機物の主なものはHAAである。その他の重要なDBPはHANとHKである。その他には、3-クロロ-4-ジクロロメチル-5-ヒドロキシ2(5H)-フラノン(MX)がある。

二酸化塩素(ClO_2)による生成物は、THMに加え、塩素によって同様に生成されるTOX(全有機ハロゲン)が1～15%があると言われている。水処理には塩素より ClO_2 が使われる理由として、有機塩素化合物の生成が少なく、クロロホルムが生成されないことが挙げられる。それに加え、pHやアンモニウムの存在に関わりなく殺菌が効果的であり、臭素を酸化しない。

オゾンによる、飲料水に含まれている臭素イオンの処理では、プロモホルム、MBAA(モノプロモアセタート)、DBAA、DBAN(ジプロモアセトニトリル)、臭化シアンなどの臭化有機ハロゲンを生成する。臭素の多い水からはプロモヒドリンという新しいグループの物質が見つかっている。ハロアルデヒド、臭化シアン、ハロ酢酸、ケト酸が塩素殺菌の場合より生成されやすい。

副生成物について

トリハロメタン類は飲料水の殺菌の副生成物として最も良く知られている。実験動物では、高用量の短期・長期暴露で、様々な非腫瘍性毒性を示す。4種類の最も一般的なトリハロメタンでは、高用量の慢性毒性試験でげっし類に発がん性が見られた。

ハロアセトアルデヒド類は、DNAとの関連で研究されており、変異原性反応が観察されるとされている。また、多くのハロケトン類は変異原性があると評価されている。

ハロアセトニトリル類は毒性情報が限られている。マウスでの経口 LD_{50} は、DCAN(ジクロロアセトニトリル)では 270 (雄)と 279 (雌) mg/kg 体重であり、DBAN(ジプロムアセトニトリル)では 289 (雄)と 303 (雌) mg/kg 体重であった。ラットによる14から90日の強制経口試験では、 33 mgDCAN/kg 体重および 45 mgDBCN/kg 体重で、死亡率が増加した。生殖毒性試験では、ラットに

よる7から21日の強制経口試験でDCANとTCAN(トリクロロアセトニトリル)のどちらも55mg/kg体重で、雌の分娩による新生児の数が著しく減少した。

亜塩素酸塩では、ラットによる塩素酸ナトリウム80mg/kg体重の13週間の強制経口試験で、多数の動物が死亡した。また、生殖毒性試験では14日間の強制経口で、濃度が100と500mg/lの場合、異常精子の顕著な増加と、精子のアクティブな動きが減少した。

塩素酸塩は、イヌによる高用量の1または2g/kg体重の急性毒性試験でメトヘモグロビン血症を誘発した。アフリカミドリザルでは、400mg/lまでを8週間投与して、血清中に酸化による損傷や甲状腺ホルモン濃度の影響はなかったと報告されている。

疫学的には、塩素化された飲料水とヒトのがんとの関連は、長期にわたって飲用すれば結腸がんと膀胱がんのリスクがわずかに増加すると言われ、直腸がんのリスクも疑われている。

まとめの中で、殺菌剤の使用を取り巻く健康問題は複雑である、と前置きして、この最近の20年間に膨大なデータが作成された、と述べている。飲料水を供給する際に、飲料水を媒介とする伝染病とその殺菌のために化学的に誘発される病気の双方の可能性を如何に少なくするか、ということが課題である。この問題はしばしば、微生物リスクと化学物質リスクのトレードオフとして単純化しそうる提案

になる場合がある、と危惧している。

(全337ページ)

この1年間に出版されたEHCおよびHSG(安全衛生ガイド)

EHC

No.188 Nitrogen Oxides (Second Edition)

No.189 Di-n-butyl Phthalate

No.190 Xylenes

No.191 Acryl Acid

No.192 Flame Retardants: A General Information

No.193 Phosgene

No.194 Aluminium

No.195 Hexachlorobenzene

No.196 Methanol

No.197 Demeton-S-methyl

No.198 Diazinon

No.199 Chlordimeform

HSG

No.104 Acrylic Acid

No.105 Methanol

No.106 Phosgene

No.107 Hexachlorobenzene

総合化学物質安全性研究費；
安全性試験法開発等研究費による研究報告(平成7～9年度)

研究課題名：担当者

BrdU と近紫外線照射を用いた鋭敏な幹細胞毒性障害検知システムの開発：毒性部長 井上達
トキシコキネティクスを用いた化学物質の毒性評価に関する基礎研究：薬理部長 大野泰雄
神経毒性検出のための病理学的評価手法の確立に関する研究：病理部長 高橋道人
マウスリンゴーマ細胞を用いた突然変異と染色体異常の検出に関する研究：変異遺伝部長
祖父尼俊雄
構造活性相関による毒性の予測に関する研究：総合評価研究室長 中館正弘
研究統括者：安全性生物試験研究センター 黒川雄二

From FY1990, studies aimed at development and improvement of toxicity guidelines have been conducted at the Biological Safety Research Center, in collaboration with the Environmental Health Bureau. To date, researches have focused on acute toxicity, antigenicity, reproductive toxicity, immunotoxicity, etc. In this report, brief summary of studies on cytotoxicity, toxicokinetics, neurotoxicity, genetic toxicity and structure-activity relationship performed during FY1995-97, is presented.

平成2年度より、当所の研究費として総合化学物質安全性研究費があり、①安全性点検体制支援システム経費、②安全性試験法開発等研究費、③生活環境暴露評価基礎研究費とからなる。このうち、②の研究費によって、主として生活衛生局と安全性生物試験研究センターの協力の下に、OECD をはじめとする国内外の毒性試験ガイドラインの改良及び開発に資する研究が行われてきた。これまでに、急性毒性・感作性・生殖毒性・免疫毒性試験法等における手法の開発・改良を行って来たところであるが、本報では最近3年間の細胞毒性、トキシコキネティクス、神経毒性、遺伝毒性、構造活性相関に関する安全性生物試験研究センターでの研究成果について概略する。

BrdU と近紫外線照射を用いた鋭敏な幹細胞毒性障害検知システムの開発（毒性部）

本研究は、造血幹細胞の数量的・機能的評価を行うことによる造血・免疫毒性に対する評価系を樹立することを目的としている。種々の血球やリンパ球に対する薬物障害が前臨床試験段階で検出できず、臨床試験段階になって明らかとなることが少なくない。このため、新たな評価系を樹立する必要性が亢まり、昨年欧州連合や米国医薬品局(FDA)が主体となって国際血液毒性学会が発足した。このような造血・免疫毒性の新たな評価系を樹立する試みとして、昨年6月の第一回国際造血毒性シンポジウムでは、ヒト培養性造血前駆細胞の毒性研究への応用が提唱された。

他方、本研究において示した *in vivo* と *in vitro* とでは造血幹細胞の性質が大きく異なるという結果から、齧歯類を用いたモデル実験の必要性もあらためて認識されつつある。これまで、正常並びに種々の状態における造血幹細胞の性質を明らかにし、また、*in vivo* での造血幹細胞動態解析法として、プロモデオキシユリジンを取り込んだ細胞が紫外線高感受性になる性質を利用した、これまでにない全く新しい方法を樹立しつつある。本法は造血幹細胞の造血幹細胞動態の認識を一新し、引いては、諸々の幹細胞動態の理解を大きく進展させる意義を持つものである。すでに予備実験にて示唆的に得られたモデルの検証に努め、細胞動態に関与すると考えられる生理病理的負荷条件下（加齢、カロリー制限等）や、細胞動態に変化の期待される遺伝子改変マウス（c-myc, c-Ha-ras, p53など）における造血幹細胞動態解析を進め一定の成果を得ることが出来た。なお、本検出系は、これまで脾コロニー形成単位(CFU-S)で観察しているが、培養性造血前駆細胞でも測定できるよう、系の樹立を進めてきた。現在、CFU-S と培養性造血前駆細胞とで、紫外線感受性が異なることが判明するなど、測定条件変更の足がかりを得ることが出来、これを基にさらなる開発を進めると共に、今後は、参考化学物質として、造血障害や遺伝毒性の有無などにより、カテゴリカルに参考化学物質を選定し、これらの投与下での経時的な幹細胞動態解析を進め、今後の医薬品の有効性・安全性の評価に資する基礎データを得るべく努める。

トキシコキネティクスを用いた化学物質の毒性評価に関する基礎研究（薬理部）

ゴムの老化防止剤として使用されている2-Mercapto-benzimidazole(MBI)及び2-mercaptomethylbenzimidazole(MMBI, 4MeMBIと5MeMBIの1:1混合物)は、ともにLD50値は約300mg/kgと同等であるが、ラットへの28日間反復経口投与においてMBIは著しい甲状腺毒性を誘発するのに対して、MMBIではその作用は極めて軽微である。この甲状腺毒性の顕著な差を明らかにする目的で両物質をラットへ単回及び15日間反復投与し、そのトキシコキネティクスを比較検討した。方法として、Wistar系雄ラット(5W)に絶食下で両物質を2~250mg/kg(B.W.コーン油に懸濁)単回経口投与し、症状観察、採血、採尿及び解剖を行なった。さらに、Wistar系雄ラットに両物質0.3mmole/kg(B.W.)を15日間反復強制経口投与し、症状観察、体重測定、摂餌・飲水量測定、並びに投与1・15日目には採血、採尿及び解剖(臓器重量測定)を行なった。生体試料中の未変化体及び代謝物濃度はHPLCを用いて測定した。また、血清中甲状腺ホルモン量を測定した。その結果、両物質とも用量・血中濃度関係は線形性を示し、明確なADMEの飽和は認められなかった。単回投与実験では血中未変化体濃度に依存して四肢麻痺、流涙、腹・横臥、昏睡、死亡が観察された。反復投与では、MBI群で甲状腺が著しく肥大し(対照群の7倍)且つホルモン量が変動したのに対して、MMBI群(0.6mmole/kg用量においても)では有意な変化は認められず、両物質の甲状腺毒性の差が顕著に現れた。両物質投与群の血中未変化体濃度は投与1日目においてMBI群でCmax(μg/ml)が8.2, AUC₀₋₂₄(μg·hr/ml)が101.1, MMBI群ではそれぞれ4.2, 21.4とAUCに4.7倍の差が見られた。一方、投与15日目においてMBI群ではそれぞれ15.0, 269.4, MMBI群で2.3, 27.8とAUCの差は9.7倍と反復投与により更に増大した。一方、尿中では未変化体の他に脱硫黄代謝物を検出した。MBI群では反復投与により尿中未変化体排泄量(μg/day)が523から1832に増加、脱硫代謝物(BI)排泄量(μg/ml)は379から検出不能になったことから反復投与による代謝経路の変化または阻害が推測された。これに対してMMBI群では未変化体排泄量(μg/day)が188から275になり、脱硫代謝物(4Me-BI及び5Me-BI)排泄量(μg/day)は814から1015へと増加傾向を示したが、その排泄パターンは変動しなかった。MBI及びMMBI共にペルオキシダーゼ活性阻害能を有していることから、両物質とも甲状腺におけるホルモン合成阻害能が推測されるのにもかかわらず、MBIの反復投与によってのみ著しい甲状腺毒性を示すのは、反復投与によってMBIではAUCが増大する一方、

MMBIでは逆に減少することからそれぞれの未変化体に対する全身的暴露の差の増大に起因すると説明された。本チオウレア化合物の毒性評価においてトキシコキネティクスを用いた解析は極めて有用であると結論された。

神経毒性検出のための病理学的評価手法の確立に関する研究（病理部）

化学物質の毒性を特徴づけるため、通常、単回投与毒性試験がまず最初に実施される。この試験の高用量群において歩行異常や後軸失調などの神経症状が発現する場合がある。しかし、これらの殆どの場合、病理組織学的検査では異常は神経・筋組織に認められない。これは、神経末端の運動終板やその近傍部、筋紡錘および自律神経等が光学顕微鏡検査では観察が困難であることに起因するものである。特に、神經筋接合部は種々の神経毒性物質によるdistal axonopathy(遠位軸索障害)が生ずる可能性が高いところであるが、通常の光顕観察では発現した神経障害を見逃している可能性が高い。本研究では、陽性対照として、神經筋接合部に障害を誘発することが明らかにされている2,4-dithiobiuret(DTB)をラットに投与し、虫様筋の運動終板を超微形態学的に検索した。また、短期投与により神経症状は発現するが、光顕的には神経病変が認められないとされているdiethyl dithiocarbamate(DDC)および2,5-di(tert-butyl)-1,4-hydroquinone(DTBHQ:酸化防止剤)を投与し、以下の成績を得た。DTB1mg/kgを2~3日に1回腹腔内投与したところ、2回目の投与後から後肢運動失調や麻痺を示すラットが出現した。運動終板では、軸索終末の腫脹が頻繁にみられ、萎縮から崩壊を示すものも認められた。腫脹した軸索終末においては、大小不同的シナプス小胞の増加、神經細線維や神經微小管の増加がみられた。麻痺が持続した動物では、筋線維の萎縮、アクチンやミオシンフィラメントの配列の乱れおよびZ線のstreaming等の変性が認められた。DDC1500mg/kgを毎日1回強制経口投与したところ、投与4週頃より、軽度の歩行異常を示すラットが認められた。これらの動物における運動終板では、DTB投与ラット程強くはなかったが、シナプス小胞や小管構造物の増加による軸索終末の腫脹がみられた。その他、軸索終末内にグリコーゲン顆粒の蓄積が観察された。虫様筋には異常はみられなかった。DTBHQ80mg/kgを毎日1回強制経口投与したところ、2回目の投与後から下痢、流涙、筋脱力等が発現し、4回目以後では後肢運動失調を示すラットが発生した。これらの動物の運動終板では、シナプス小胞やミトコンドリアの消失が認められ、軸索終末の変性・萎縮がみられた。以上の結果から、DDCやDTBHQによって神経障害が誘発されるが、その障害初発部位が運動神経終末部であることが示され、これらの部位における障害の解析は通常の光顕観

察では困難であり、超微形態学的解析が不可欠であることが強く示唆された。

マウスリンフォーマ細胞を用いた突然変異と染色体異常の検出に関する研究（変異遺伝部）

マウスリンフォーマ試験（MLA）はチミジンキナーゼ遺伝子（tk）を指標とした遺伝子突然変異検出系であるが、遺伝子突然変異を誘発する物質に加えて染色体異常を誘発する物質も検出できるという特徴がある。しかしながら、染色体異常試験との比較を行った国際共同研究の結果から、通常の短時間（3～4時間）処理を用いた場合には十分に染色体異常誘発物質を検出できないことが明らかになった。MLAで検出できない染色体異常の多くは、短時間処理ではなく、長時間の連続処理（24時間など）で陽性となっていることから、MLAに24時間の連続処理を取り入れることにより、染色体異常試験との一致性が高まることが期待される。本研究では、MLA国際共同研究で陰性あるいは非常に弱い反応が得られた15物質について、24時間処理法を用いて試験を行った。15物質のうち11物質が24時間処理で陽性となった。これらにはヌクレオチド類似物質（2'-deoxycoformycin, dideoxycytidine）、塩基類似物質（1,3-dimethylxanthine）および紡錘体阻害剤（colchicine, vinblastine sulfate, thiabendazole）が含まれていた。これらは直接DNAに障害を与えるものではなく、DNA合成の阻害や細胞分裂障害によって遺伝子毒性が誘起されるものである。これらDNAを直接標的としない物質の作用は細胞周期に依存することから、長時間処理が有効になるものと考えられる。24時間処理で細胞毒性が高まると共に明らかな陽性反応を示したもの（dideoxycytidine, 1,3-dimethylxanthine, phenacetine, thiabendazole）もあるが、短時間処理と同様の細胞毒性を示しながら、陽性となったもの（p-tertbutylphenol, 2'-deoxycoformycin, isopholone, zearalenone）があることから、細胞毒性とは関連なく24時間処理が有効となる物質のあることが明らかになった。MLAに24時間連続処理法を併用することによって、染色体異常物質のおよそ90%が検出可能となったことから、24時間連続処理法を組み入れることによりMLAが染色体異常試験の代替となりうる結論することができた。

構造活性相関による毒性の予測に関する研究（総合評価研究室）

化学物質の有害性評価やリスク評価においては、各種毒性に関する充分な試験データが必要となるが、新規に開発される化学物質については化審法においてもスクリーニング毒性と称される2種の変異原性試験と28日間反復投与毒性試験のみが要求されている。したがって、これらスクリーニング毒性試験からヒトへの有害性を評価するのは、か

なりの困難が伴っている。この困難さを解消するための一つの解決策として、既存のデータ及び情報を有効利用し、また、これらの情報を基とした毒性の予測が重要である。本研究においては、既存情報の有効利用を図るためにデータベース開発とこれを用いた28日間反復投与毒性試験での神経毒性および精巣毒性など化学構造と毒性の相関からの毒性予測について検討した。

データベースの開発については、すでに本研究費により新規化学物質データベースシステムを開発したが、さらに改良を加えた。特に本研究においては、化学構造の表示機能と検索機能の充実化を図りつつ構造活性相関の検討を行った。現在まで、約1,000物質の試験結果に関する情報を蓄積し、利用している。

神経毒性の指標となる流涎については、検索総数706化合物中、その23.1%（153物質）に流涎が報告され、流涎と同時に観察された一般状態について検索した結果、33物質に自発運動の減少等の一般症状の変化が観察されている。構造活性相関については、triazoleにdichlorophenyl基が結合した化合物とpyrimidineが基本骨格中に存在する化合物の場合、化合物投与により流涎が見られる可能性が高いことが判明した。したがって、新規化学物質がtriazoleにdichlorophenylが結合している化合物、pyrimidine骨格を有している化合物や文献的に神経毒性、特に副交感神経刺激又は交感神経抑制作用を示す物質に類似する場合には、真性コリンエステラーゼ活性の測定や流涎の発現匹数や頻度等の一般状態観察を詳細に行う必要性が示唆された。

さらに、精巣毒性については、これまで20の化合物に、精巣重量減少または組織学的变化が見られている。これらの化合物について、文献等を参考にしてその構造的特徴を検討した結果、精巣毒性を発現させる化学構造として、ビスフェノールA類縁化合物、アゾ化合物、フェニルエーテル化合物、アミド化合物、ニトロ化合物、脂肪族ハロゲン化合物、脂肪族アミン化合物、フタル酸エステル化合物が特徴的であることが判明した。

次に、コレステロールの変化について検討した結果、データベースに入力されている970化合物中189の届出物質にCHOの変化がみられ、このうち、142化合物にCHO値の増加が、残り45化合物にCHO値の減少が観察された。CHO値の増減の原因と成りうる肝毒性との関係については、CHO値が増加した化合物では、97化合物で肝重量と組織学的検査に変化が報告され、21化合物ではどちらか一方に変化が報告されている。CHO値の減少が観察された化合物では、25物質に肝重量、組織学的变化とともに見られた。さらに、内分泌障害物質として知られるビスフェノールAで代表されるジフェニルメタン誘導体を基本骨格に持つ多くの化合物にCHOの減少が主として見られた。

これらジフェニルメタン誘導体については、精巣重量や

組織学的所見に変化が見られなくとも、CHOが明確に低下する場合は、ビスフェノールAと同様な評価をするとの必要が示唆された。また、構造類推の観点から内分泌搅乱物質と云われている化学物質の構造を有している届出物質の場合は、精巣や卵巣等の生殖器ばかりでなく甲状腺

やその他の内分泌を含めた総合的な検査を実施する必要性が示唆された。今後、この様な既存のデータを利用した毒性予測手法は、試験法の改良や有害性評価等に大いに役立つことが期待される。

平成9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・外海泰秀・柴田 正

Estimated Production by the Official Inspection of Coal-Tar Dyes (including Dye Aluminum Lakes) in 1997.

Susumu Ishimitsu[#], Ikuko Mishima, Sumiko Tsuji,
Yasuhide Tonogai and Tadashi Shibata

The number of official inspection of coal-tar dyes and their lakes from April in 1997 till March in 1998 were 571 in total.

The quantity which passed inspection amounted to 160.3 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 39.8 % in this period.

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

わが国では食用タール色素として、赤色2号、3号、40号、102号、104号、105号、106号、黄色4号、5号、緑色3号、青色1号、2号の12品目と、赤色2号、3号、40号、黄色4号、5号、緑色3号、青色1号、2号のアルミニウムレーキ8品目が食品衛生法施行規則別表第2の食品添加物として指定されており、その販売等に当たって製品検査が必要とされている。

わが国における食用タール色素の製品検査は、平成2年4月1日より大阪支所食品試験部ですべての検査を行っている。従って、食用タール色素の需要の状況は製品検査申請書に記載されている申請数量（300 Kgまでを1件とする）より、明確に把握してきた。これら製品検査に申請されたタール色素の用途として食用に用いられる色素は減少する可能性が高いが、医薬品、化粧品および幼児玩具等法的に定められた以外の用途、例えばサインペン、インクジエットプリンター用インク、トイレの洗浄剤等、多方面に使用していくものと思われる。

一方、米国においては Food and Drug Administration (FDA)において検定制度が行われているため、FDAにおける食用タール色素に関して平成2年4月より平成9年3月までの検定数量を調査し、日本および米国における生産量の比較を行ったところ、米国の生産量は日本と比較し

てはるかに多く、平成2年度は約17倍、また、平成8年度では約33倍と年々差が開いていることが明らかとなった¹⁾。

製品検査に関して平成7年度までは全て国内の製造メーカーのものであったが、平成8年度（前年度）²⁾からイギリスで製造された色素が申請されている。今年度は新たにフランスで製造された黄色4号アルミニウムレーキ、黄色5号アルミニウムレーキおよび青色2号アルミニウムレーキが製造量は少ないが、それぞれ1検体製造メーカー以外の企業から申請された。

平成9年4月1日から平成10年3月31日までに申請された571検体について、各色素別に月別および製造社別の許可量統計を作成した。尚、検体の内訳は、赤色2号；7、赤色3号；32、赤色40号；4、赤色102号；129、赤色104号；12、赤色105号；2、赤色106号；20、黄色4号；215、黄色5号；83、青色1号；32、青色2号；6、赤色3号レーキ；4、赤色40号レーキ；1、黄色4号レーキ；10、黄色5号レーキ；6、青色1号レーキ；5、青色2号レーキ；3検体であった。

タール色素およびタール色素レーキは、第六版食品添加物公定書³⁾において含量、性状、確認試験、純度試験（水不溶物、塩化物および硫酸塩、重金属、ヒ素、他の色素）および乾燥減量の規格値が定められているが、申請された赤色102号129検体のうち2社3検体に塩化物および乾燥減量で規格値に近い結果が得られた。

各色素の月別許可量を表1に、また各色素の製造社別許

[#] To whom correspondence should be addressed: Susumu Ishimitsu; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-941-0803; Fax: 06-942-0716; E-mail: ishimits@nihs.go.jp

Table. 1 平成9年度 食用タール色素製造社別許可量

(単位: Kg)

食用色素名	申請月	平成9年						平成10年						平成9年度						平成8年度							
		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計	色素別比率(%)	合計	色素別比率(%)	合計	色素別比率(%)	合計	色素別比率(%)	合計	色素別比率(%)	合計	色素別比率(%)		
赤色2号	180	355	300	---	730	---	---	---	---	---	---	---	---	1565	0.98	2469.875	1.50	---	---	---	---	---	---	---	---		
赤色3号	600	1204.9	1740	300	900	---	1300	300	380	450	900	350	8374.9	5.22	10230	6.22	---	---	---	---	---	---	---	---	---		
赤色40号	5	---	225	---	---	---	---	---	300	2400	2900	2400	3300	37960	23.67	32779.75	19.93	310	0.19	200	0.12	4648	2.83	1500	0.92	23821	14.48
赤色102号	2100	4500	3000	3600	860	3300	3900	2400	2900	4200	3300	37960	23.67	32779.75	19.93	310	0.19	200	0.12	4648	2.83	1500	0.92	23821	14.48		
赤色104号	900	750	300	600	300	---	200	200	300	410	300	500	4544.9	2.83	4544.9	2.83	50	0.16	250	0.16	71349	43.37	1500	0.92	23821	14.48	
赤色105号	---	---	200	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---		
赤色106号	200	784.9	50	1000	---	200	500	300	300	410	300	500	4544.9	2.83	4544.9	2.83	50	0.16	250	0.16	71349	43.37	1500	0.92	23821	14.48	
黄色4号	5322.875	5688	5076	6840	6600	2363	7500	4800	3558	6188	3300	6500	63765.875	39.77	63765.875	39.77	6500	0.99	3350	2.09	1500	0.92	23821	14.48			
黄色5号	1800	3300	2350	1800	1400	1200	1550	3300	1860	2880	1550	1125	24055	15.00	24055	15.00	1125	0.71	1125	0.71	1150	0.70	1150	0.70	23821	14.48	
綠色3号	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---		
青色1号	365	1200	1250	300	300	450	506	900	300	600	380	800	7351	4.58	7351	4.58	800	0	0	0	0	0	0	0	0		
青色2号	---	304.925	---	50	300	---	300	180	180	300	180	180	1134.925	0.71	1134.925	0.71	180	0	0	0	0	0	0	0	0		
赤色2号レーキ	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	0	0	0	0	0	0	0		
赤色3号レーキ	300	---	---	300	---	---	600	---	---	---	---	---	1200	0.75	1200	0.75	600	0.36	600	0.36	600	0.36	600	0.36	2700	1.64	
赤色40号レーキ	---	---	30	---	---	---	---	---	---	---	---	---	30	0.02	30	0.02	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
黄色4号レーキ	600	---	---	300	---	---	610	300	300	300	300	300	2710	1.69	2710	1.69	300	0.11	300	0.11	1510	0.94	3604.9	2.19			
黄色5号レーキ	---	---	300	---	300	---	310	---	---	300	---	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300		
綠色3号レーキ	---	---	---	300	---	300	---	300	---	300	---	300	---	300	---	300	---	0	0	0	0	0	0	0	0		
青色1号レーキ	300	---	---	300	---	300	---	110	---	110	---	110	---	1500	0.94	1504.875	0.92	410	0.26	410	0.26	300	0.18	300	0.18		
青色2号レーキ	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---			
合計	12672.875	18087.725	14866	15045	15630	5073	16286	14300	9368	14628	10860	13515	160331.6	---	160331.6	---	160331.6	---	160331.6	---	164494.725	---	164494.725	---			
月別比率(%)	7.91	11.28	9.27	9.38	9.75	3.17	10.16	8.92	5.84	9.12	6.77	8.43	---	100.00	---	100.00	---	100.00	---	100.00	---	100.00	---	100.00	---		
前年度合計	8040	11759	12962.825	13899.875	8774.775	19048	14928	11328	16332.5	13688	11328	22405.75	---	---	---	---	---	---	---	---	164494.725	---	164494.725	---			
月別比率(%)	4.89	7.15	7.88	8.45	5.33	11.58	9.08	6.88	9.93	8.32	6.89	13.62	---	---	---	---	---	---	---	---	100.00	---	100.00	---			

Table.2 平成9年度 食用タール色素製品社別許可量

(単位:Kg)

食用色素名	製造社名												
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
赤色2号	1015	300	---	---	---	250	---	---	---	4.9	---	---	---
赤色3号	3570	1800	300	1500	---	900	300	---	---	5	---	---	---
赤色40号	225	300	90	---	---	1200	1800	---	---	260	---	---	---
赤色102号	11000	18300	5100	300	---	300	750	---	---	---	---	---	---
赤色104号	---	1800	300	200	---	200	---	---	---	---	---	---	---
赤色105号	---	---	50	---	---	550	50	---	4.9	---	---	---	---
赤色106号	1540	1500	600	300	---	1200	1500	---	500	9.875	---	240	---
黄色4号	24016	28200	7800	300	---	300	300	---	300	215	---	---	---
黄色5号	10255	8400	1800	3000	---	300	300	---	300	4.925	---	---	---
緑色3号	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
青色1号	3236	2700	600	---	---	300	---	---	---	---	---	---	---
青色2号	230	300	300	---	---	300	---	---	---	---	---	---	---
赤色2号レーキ	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
赤色3号レーキ	1200	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
赤色40号レーキ	30	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
黄色4号レーキ	2100	600	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	10
黄色5号レーキ	1500	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	10
緑色3号レーキ	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
青色1号レーキ	1200	---	300	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
青色2号レーキ	100	300	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	10
合 計	61217	64500	17240	5600	0	5300	4900	300	715	29.6	0	260	240
製造社別比率(%)	38.18	40.23	10.75	3.49	0	3.30	3.06	0.19	0.45	0.02	0	0.16	0.15
前年度合計	68313	48660	17190	6640	16920	4350	1382.25	600	295	44.475	100	0	0
製造社別比率(%)	41.53	29.58	10.45	4.04	10.29	2.64	0.84	0.36	0.18	0.03	0.06	0	0

可量を表2に示した。

総量は166.4トン(平成7年度)⁴⁾、164.5トン(平成8年度)、平成9年度は160.3トンと大幅な減少はなくほぼ横這いである。

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。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71.3トン(色素別比率43.4%)から63.8トン(39.8%)と減少したのに対して、第2位の食用赤色102号は32.8トン(19.9%)から38.0トン(23.7%)と増加した。第3位の食用黄色5号は23.8トン(14.5%)から24.1トン(15.0%)とほぼ同量であった。上位5色素の製造量合計は141.5トンで総製造量の88.3%であった。

製造社別では製造量の多い順にB、A、C、D、F、G社であり、前年度の順位からB社とA社に入れかわるとともに、前年度4位のE社は製造を中止した。また、昨年度申請製造社は11社であったが、本年度は12社に増加した。

製造量に関してはB社が64.5トン(製造社別比率40.2%)と最も多く、ついでA社が61.2トン(38.2%)、C社17.2

トン(10.8%)、D社5.6トン(3.5%)であった。

現在国内外において規制緩和が呼ばれているが、食用タール色素の規制緩和に関しては、「規制緩和推進計画の再改訂について」(平成9年3月28日の閣議決定)において、「タール色素の製品検査におけるロットを形成する最大量の見直しを行う」とされていたが、平成10年3月26日厚生省令第30号において食品衛生法施行規則の一部改正が行われ、「タール色素の製品検査におけるロットを形成する最大量については、これまで300kgとされていたが、この最大量を撤廃することとした」に改められ、平成10年4月1日から施行された。

文 献

- 1) 石光 進、三島郁子、辻 澄子、柴田 正：日本および米国における食用タール色素の生産量の比較。食品衛生研究, **48**, 33-40 (1998)
- 2) 石光 進、三島郁子、辻 澄子、柴田 正：平成8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。国立衛研報告, **115**, 171-174 (1997)
- 3) 厚生省：“第六版食品添加物公定書” p.29-38 (1992)
- 4) 石光 進、三島郁子、辻 澄子、柴田 正：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。衛生試報, **114**, 102-105 (1996)

HPLC 及び GC による青果物中残留農薬の一斉分析とその検出例

土屋 錠^{*1}・前田憲二^{*1}・関口幸弘^{*2}・平原嘉親^{*2}
渡辺芳則^{*2}・外海泰秀[#]

Simultaneous Analysis and Detection of Pesticides in Fresh Fruits and Vegetables By HPLC and GC

Tetsu Tsuchiya^{*1}, Kenji Maeda^{*1}, Yukihiko Sekiguchi^{*2}, Yoshichika Hirahara^{*2},
Yoshinori Watanabe^{*2} and Yasuhide Tonogai[#]

A method was established for simultaneous determination of pesticide residue in fresh fruits and vegetables by HPLC and GC. CH₃CN extraction /NaCl partition method was used in order to recover hydrophilic pesticide such as acephate, methamidophos. Dimethoate and methamidophos from okra and DDVP from strawberry were detected by GC. On the otherhand confirmation method by GC and GC/MS was studied for peaks detected by HPLC with UV and/or FL detector. OPP, TBZ, imazalil, chlorpyrifos etc. in citrus fruits were detected by the proposed method.

Keywords: HPLC, GC, GC/MS, pesticide, Fresh fruit

緒 言

著者らは既報¹⁾で HPLC による青果物中残留農薬の一斉分析法を作成し、その際に親水性農薬をも対象とするためアセトニトリル抽出、食塩水分配法を採用した。親水性農薬にはアセフェート、メタミドホス等 HPLC の紫外 (UV) 並びに蛍光 (FL) 検出器では検出不能でも、GC で検出可能な農薬もあり、既報ではこれらが同時に抽出されてくると考えられる。本報ではアセフェート、ジメトエート、メタミドホス、モノクロトホス、オキサミル、DDVP の既報への適用性について検討するとともに、実際の輸入検体から農薬の検出例について調べた。

実験方法

1. 試 料

輸入の野菜・果実

2. 試薬及び試液

各農薬標準品：DDVP、アセフェート、ジメトエート、メタミドホス、モノクロトホス、オキサミルは和光純薬工業(株)製のそれぞれ農薬標準品を用いた。その他の標準品は

既報¹⁾の通り。

各農薬標準原液：各農薬標準品10 mg をはかり、酢酸エチル100 mL に溶かした (100 μg/mL)。

農薬標準混液：各農薬標準原液それぞれ1 mL をとり、アセトンで100 mL にした (1 μg/mL)。

各種有機溶媒：アセトン、n-ヘキサン、酢酸エチルは和光純薬工業(株)製の残留農薬分析用を、アセトニトリルはメルク社製の HPLC 用を使用した。

Bond Elut^R SAX, PSA: Varian 社製, 100 mg/1.0 mL型
Sep-pak^R フロリジル: Waters 社製, プラス型

3. 装 置

高速液体クロマトグラフ：島津製作所(株)製, LC-10A

検出器：島津製作所(株)製, RF-10A (蛍光) 及び
SPD-M10A (フォトダイオードアレイ)

ガスクロマトグラフ：ヒューレットパッカード社製,
5890 II (GC-FPD, NPD)

ガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS)：
ヒューレットパッカード社製, 5971 Series II

4. 分析操作法

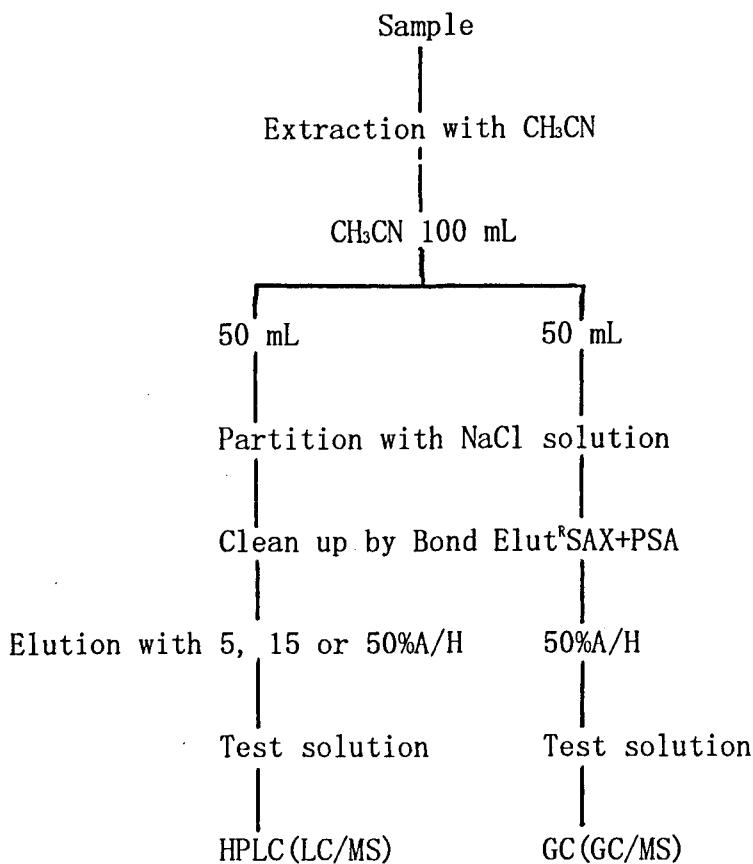
1) 試験溶液の調整法

既報¹⁾に従って得た抽出液をアセトニトリルで100 mL の定容とし、その50 mL は既報に従って操作し HPLC 用の試験溶液とした。残りの50 mL は既報の Method II に従って操作し、GC 用の試験溶液とした。以上の分析操作法の概略並びに既報¹⁾との関係を Scheme 1 に示した。

*1 横浜検疫所 輸入食品・検疫検査センター

*2 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

To whom correspondence should be addressed: Yasuhide Tonogai; 1-1-43, Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan;
Tel: 06-941-1533; Fax: 06-942-0716; E-mail: tonogai@nihs.go.jp



Scheme 1. Outline for multiresidue analysis of pesticides in agricultural products by HPLC and GC

2) 定性・定量

各試験溶液20 μl をHPLCに、また2 μl をGCに注入し、ピークの保持時間とピーク面積から農薬を定性・定量した。

3) 確認試験

試料からHPLCで検出された農薬ピークについてはフォトダイオードアレイ検出器(Photo-D)を用いて吸収スペクトルを測定し、標準溶液と比較した。またGCで検出された農薬ピークについてはGC/MSで確認した。

5. HPLC測定条件

既報¹⁾と同じ

6. GC測定条件

カラム: J & W Scientific 社製, DB-1701 (0.25 mm i.d. X 30 m, 膜厚0.25 μm)

カラム温度: 60°C (2 min) – 10°C/min – 270°C (7 min)

注入口及び検出部温度: 270°C

7. GC/MS測定条件

カラム: J&W Scientific 社製, DB-1701 (0.25 mm i.d. X 30 m, 膜厚0.25 μm)

カラム温度: 60°C (2 min) – 10°C/min – 270°C (7 min)

注入口, セパレーター及びイオン化室温度: 270°C

イオン化電圧: 70 eV, イオン化方法: EI

結果及び考察

1. GCによる親水性農薬の分析

カラムとして中極性のDB-1701を用い、検出器としてNPD及びFPDを使用し、昇温により6種農薬の一斉分析を行った。オキサミルはGC-NPDにのみ分解物が検出された。その他については両検出器で良好に検出され、GC-FPDの方が約1.5倍高感度に測定できた。

アセトニトリル/食塩水分配法では親水性農薬をいかに高収率でアセトニトリル層に残すかが問題となる。既報¹⁾ではアルカリ性の飽和リン酸水素二ナトリウムを用いることにより、青果物の色素等を水層へ除去し良好な結果を得た。本報の対象農薬についても水層に飽和リン酸水素二ナトリウムを用いた場合とCDFA原法²⁾の1Mリン酸緩衝液(pH 7)を使用した場合の抽出率の比較を行った。なお使用食塩量はそれぞれ5 gと15 gで比較し、それらの結果をTable 1に示した。

DDVP, メタミドホス, アセフェートの回収率はおおよそ40–60%程度と低く、他の3種は良好に回収された(DDVPの低回収率は濃縮時の損失によると考えられた)。いずれの場合についても6種農薬の抽出率に大差は認めら

Table 1. Recoveries of pesticide standard by partition between CH_3CN /NaCl solution

Pesticide*	Recovery \pm SD (%), n=3			
	1M Phosphate buffer		${}^{\text{sat}}$ Na ₂ HPO ₄ solution	
NaCl	5g	15g	5g	15g
DDVP	53.6 \pm 19.5	47.3 \pm 15.8	37.2 \pm 14.9	39.0 \pm 18.0
Methamidophos	44.6 \pm 11.6	41.6 \pm 9.1	44.8 \pm 10.3	42.6 \pm 12.0
Acephate	56.7 \pm 13.0	49.6 \pm 10.9	55.9 \pm 11.2	56.6 \pm 14.4
Monocrotophos	93.2 \pm 6.4	94.4 \pm 8.0	94.0 \pm 5.5	91.8 \pm 6.9
Dimethoate	90.5 \pm 5.7	89.1 \pm 7.2	91.9 \pm 8.0	92.9 \pm 6.3
Oxamyl	80.0 \pm 10.2	82.5 \pm 11.5	85.8 \pm 9.8	92.4 \pm 10.5

* Two $\mu\ell$ of each pesticide was added to 10 $\text{m}\ell$ of 1M phosphate buffer (pH 7) or ${}^{\text{sat}}$ Na₂HPO₄ solution (pH 8) + NaCl 5 or 15 g, and shaken with 50 $\text{m}\ell$ of CH_3CN .

れなかったので、分析操作を統一するため本操作は既報¹⁾と同様にすることとした。

GC 法においては HPLC 法に比して食品成分由来の妨害の影響が少ないので、クリーンアップには Bond Elut^R SAX + PSA を用い、50 % A/H の一画分溶出で十分であった。本法を用いて 6 種農薬のいちご、トマト、バナナ(以上0.2 ppm 添加)、オレンジ(0.5 ppm 添加)からの添加回収率を測定したところ、Table 1 における標準系と類似の値が得られ、ガスクロマトグラム上における妨害の影響もほとんど認められなかった。

2. GC による農薬の検出例

本法により輸入青果物のうちタイ産オクラからジメトエート0.14 ppm 及びメタミドホス0.01 ppm を、また韓国産いちごから DDVP 0.03 ppm を検出したので、その GC-NPD 及び FPD によるガスクロマトグラムを Fig. 1, 2 に示した。ジメトエート及びメタミドホスについては GC/MS でマススペクトル (MS) を測定できたが、DDVP については濃度が低いため MS は測定できず、選択イオン検出 (SIM) 法で確認した。

3. HPLC による農薬の検出例とその確認法

輸入青果物について既報¹⁾の HPLC 法による農薬の検出例とその確認法について検討した。レモン、オレンジ、グレープフルーツ、バナナについての結果を Table 2 に示した。柑橘類からは OPP, TBZ, イマザリル, クロルピリホスを、バナナからはビテルタノール、イプロジオンを検出した。いずれも最大残留基準値 (MRL) 以下であった。

Table 2 の検体について、HPLC で検出された農薬ピークを Photo-D, GC(FPD, NPD) 及び GC/MS(SIM) で確認した結果を Table 3 に示した。

Photo-D による確認においてイマザリル、イプロジオン、ビテルタノールは UV 域に特徴的な極大吸収を持たないので、確認手段にはならなかった。また OPP の UV 吸収は弱く、クロルピリホスも 0.01 ppm 程度では Photo-D での確認は困難なことが多かった。GC-NPD によるイプロジオン、ビテルタノールの感度は低いので本検体についての確認はできなかった。

結語

HPLC 及び GC を用いた青果物中残留農薬の一斉分析法を作製し、本法を輸入野菜・果実に適用して、検出されたピークの確認法の検討を行った。

従来の通知法³⁾では親水性農薬をも回収するためケイ藻土カラムを用いたりする必要があったが、本法ではアセトニトリル抽出/食塩水分配法を採用して操作を簡易にできた。ただし、本法によるアセフェート、メタミドホス、DDVP の回収率は約40-60%程度なので、検出された場合の値にはその点を考慮する必要がある。

また、UV 及び FL 同時検出 HPLC 法並びに GC 及び GC/MS 法を併用することにより、検出ピークの確認をより容易にした。ただし、イマザリル、ビテルタノール、イプロジオン等は UV 域に特徴的な極大吸収を持たないため Photo-D が決め手とならず、将来的には高速液体クロマトグラフ/質量分析計 (LC/MS) の導入が必要と考えられた。

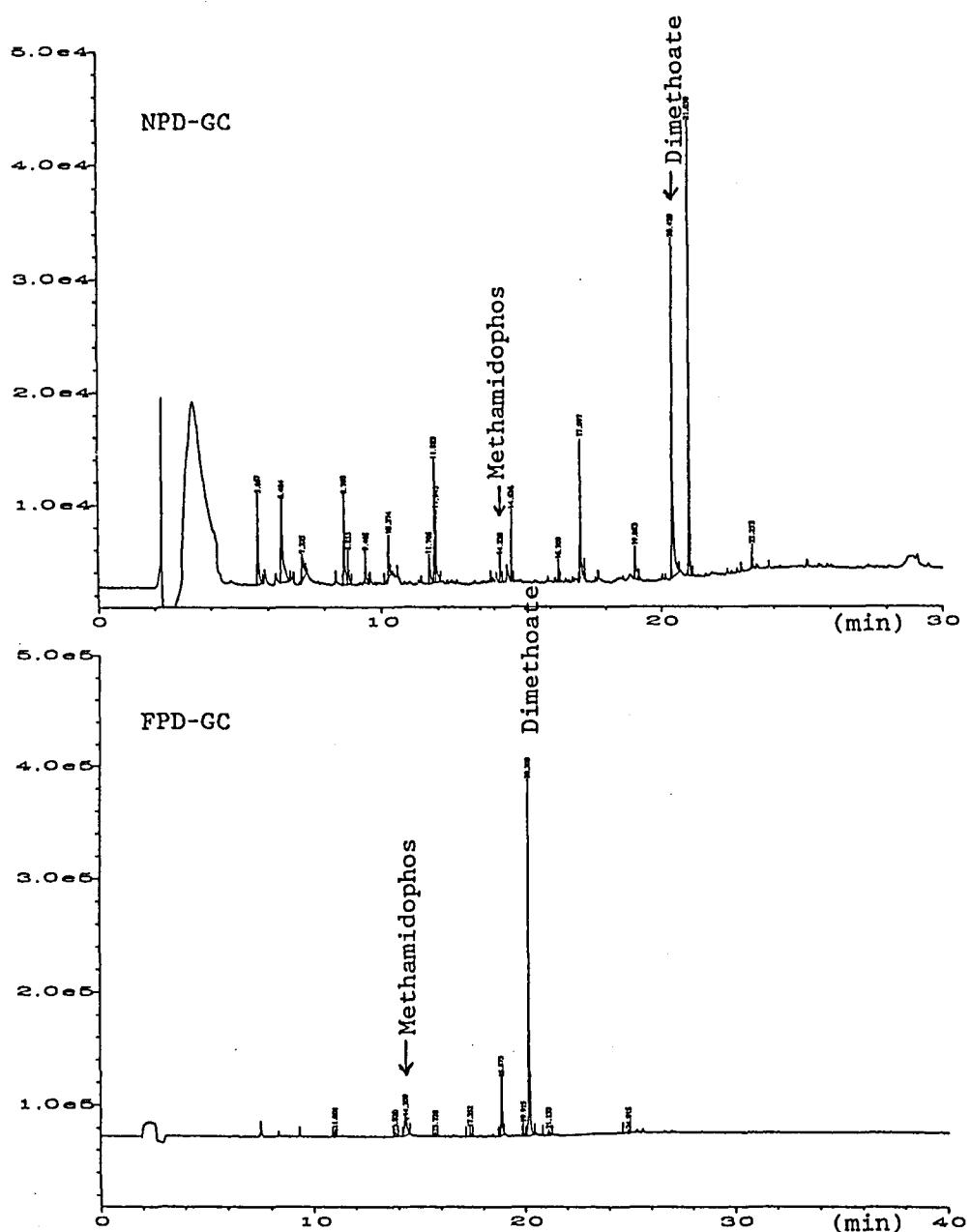


Fig. 1. Gas chromatograms for methamidophos and dimethoate in okra extract by NPD and FPD-GC

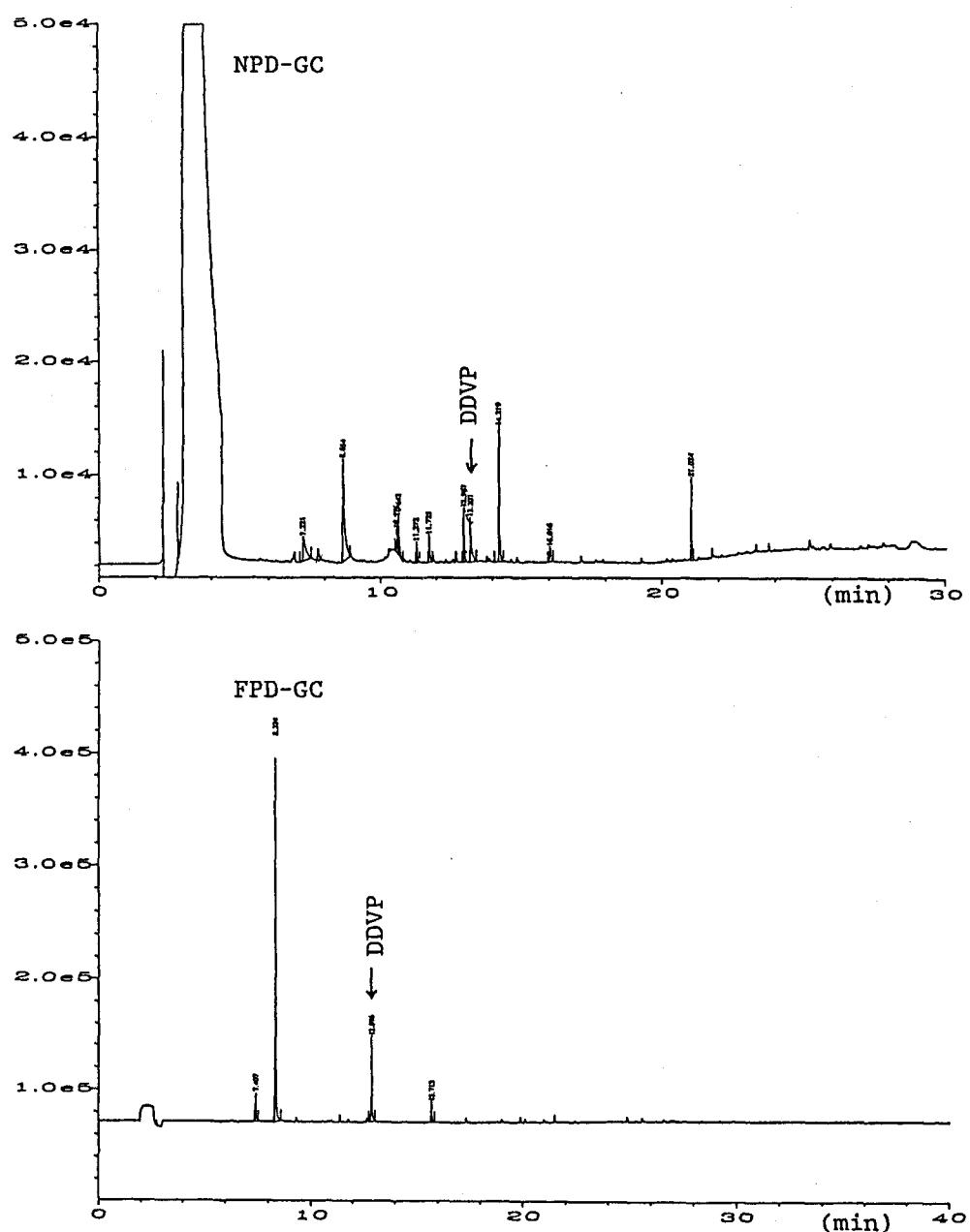


Fig. 2. Gas chromatograms for DDVP in strawberry extract by NPD and FPD-GC

Table 2. Pesticide residues detected in imported fruits

No.	Sample	Country	Pesticide	Detected (ppm)	MRL (ppm)
1	Lemon A	U.S.A.	Chlorpyrifos	0.01	0.3
			Imazalil	1.02	5
2	Lemon B	U.S.A.	OPP	0.87	10
			TBZ	0.46	10
			Imazalil	0.36	5
3	Orange A	U.S.A.	Chlorpyrifos	0.01	0.3
			TBZ	0.42	10
			Imazalil	0.90	5
4	Orange B	U.S.A.	Chlorpyrifos	0.01	0.3
			OPP	0.38	10
			Imazalil	0.84	5
5	Grapefruit A	U.S.A.	Chlorpyrifos	0.01	0.3
			TBZ	0.30	10
6	Grapefruit B	Israel	Chlorpyrifos	0.01	0.3
7	Banana	Philippine	Bitertanol	0.49	0.5
			Iprodione	0.75	10

Table 3. A list of pesticides detected by HPLC and confirmed by photo-D*, GC (FPD, NPD) and GC/MS (SIM)

Method	Pesticide in Table 2
UV-HPLC	OPP, TBZ, Imazalil, Chlorpyrifos, Iprodion
FL-HPLC	OPP, TBZ, Bitertanol
Photo-D	OPP, TBZ, Chlorpyrifos
GC-FPD	Chlorpyrifos
GC-NPD	TBZ, Imazalil, Chlorpyrifos
GC/MS(SIM)	OPP, TBZ, Imazalil, Chlorpyroflos, Iprodion, Bitertanol

* photo-D: photodiode-array detector

文 献

1) 外海泰秀, 津村ゆかり, 中村優美子, 柴田 正: 食衛誌, 39, 13-25 (1998)

2) Lee, S. M., Papathakis, M. L., Feng, H. C., Hunter, G. F., Carr, J. E., Fresenius, J.: Anal. Chem., 339, 376-383 (1991)

3) 残留農薬簡易分析法開発検討委員会: 食品衛生研究, 47(5), 27-41 (1997), 47(6), 27-41 (1997)

国立医薬品食品衛生研究所ショ糖オクタ硫酸エステルカリウム標準品 (Control 961)

北島 文・岩田美保・前川京子・斎藤博幸
谷本 剛・岡田敏史[#]

Potassium Sucrose Octa Sulfate Reference Standard (Control 961) of
National Institute of Health Sciences

Aya Kitajima, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito,
Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada[#]

The raw material of potassium sucrose octa sulfate was examined for the preparation of the "Potassium Sucrose Octa Sulfate Reference Standard (Control 961)". Analytical data obtained were as follows : infrared spectrum, the same as that of the Potassium Sucrose Octa Sulfate Reference Standard (Control 901); high-performance liquid chromatography, one impurity was detected; water content, 8.1%; assay of sucrose octa sulfate, 99.6%.

Based on the above results, the raw material was authorized to be the Potassium Sucrose Octa Sulfate Reference Standard of the National Institute of Health Sciences.

Keywords: potassium sucrose octa sulfate, quality evaluation, authorization, NIHS Reference Standard

第十三改正日本薬局方「スクラルファート」の定量試験に用いられる国立医薬品食品衛生研究所“ショ糖オクタ硫酸エステルカリウム標準品 (Control 961)”(日本薬局方標準品)を製造したので報告する。

1. 標準品原料

標準品原料は中外製薬株式会社より入手した。同社による試験成績は次のとおりである。HPLCによる純度試験：純度 99.8%，水分：7.5%，定量：100.5%。

2. 参照物質および試薬

日本薬局方ショ糖オクタ硫酸エステルカリウム標準品 (Control 901；日局標準品と略称)¹⁾を対照物質とした。試薬及び溶媒は、特級品又は特級相当品を用いた。

3. 装 置

本標準品原料の品質評価試験にあたり、下記の測定装置を用いた。

赤外分光光度計：日本分光、FT-IR VALOR-III。

微量水分測定装置：平沼産業、AQ-6型。

液体クロマトグラフ装置：東ソー製のポンプ CCPD，検出器，RI-8012 及び島津製作所製 C-R6A 型データ処理装置。

4. 試験方法

特に記すもののほかは第十三改正日本薬局方の一般試験法に従った。

1) 液体クロマトグラフ法による純度試験：標準品原料約 0.50 g を精密に量り、移動相に溶かして正確に 10 mL とし、試料溶液とする。この液 50 μL につき、次の条件で液体クロマトグラフ法により純度試験を行う。

操作条件

検出器：示差屈折計

カラム：Unisil Q NH₂ (5 μm, 4.6 × 150 mm)

移動相：硫酸アンモニウム 48 g を水 1 L に溶かし、リン酸を用いて pH を 3.5 に調整した。

流量：0.8 mL /min

カラム温度：30°C

検出感度：標準溶液 1 mL を正確に量り、移動相を加えて正確に 100 mL とした液 50 μL から得たショ糖オクタ硫酸エステルカリウムの高さが記録紙のフルスケールの約 10% の高さになるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整する。更に、標準溶液 1 mL を正確に量り、移動相を加えて正確に 2,000 mL とした液 50 μL から得たショ糖オクタ硫酸エステルカリウムのピーク面積が自動積分法で測定される分析パラメーターを設定する。

面積測定範囲：溶媒ピークの後、ショ糖オクタ硫酸エステルの保持時間の 2 倍の範囲。

* To whom correspondence should be addressed: Satoshi Okada; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-941-1533; Fax: 06-942-0716; E-mail:okada@nihs.go.jp

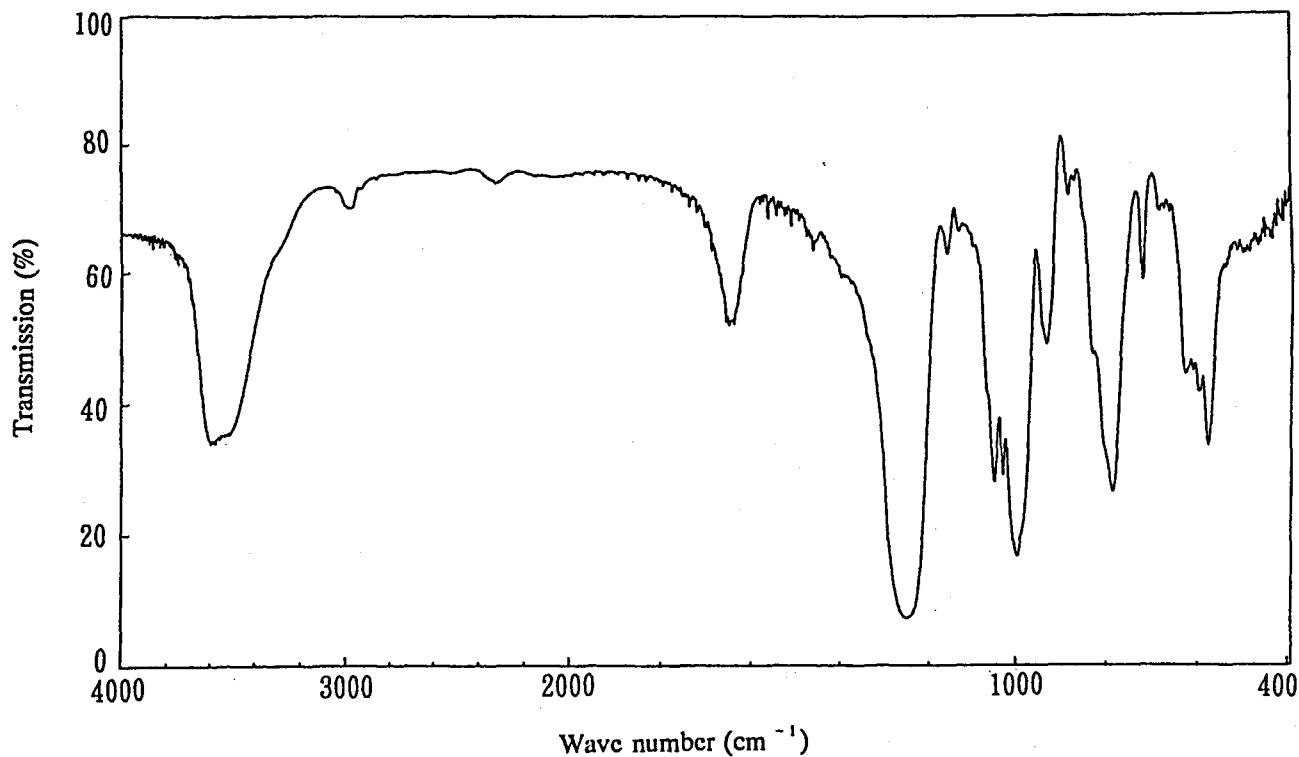


Fig. 1 Infrared absorption spectrum of the raw material for Potassium Sucrose Octa Sulfate Reference Standard

2) ショ糖オクタ硫酸エステルの定量：標準品原料約0.2gを精密に量り、水3mlに溶かす。この液を強酸性イオン交換樹脂（アンバーライト120B）を用いて調製したカラム（内径約10mm、樹脂層約100mm）に流し込み、液が樹脂層に流入した後、少量の水で洗い、更に水で溶離し、流出液50mlを、あらじめ0.1N水酸化ナトリウム液30mlを正確に入れた容器に集める。5ml/minとする。流出液につき、過量の水酸化ナトリウムを0.1N塩酸で滴定する（電位差滴定法）。同様の方法で空試験を行い補正する。

5. 試験成績

1) 性状

白色の結晶性の粉末で、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、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) 液体クロマトグラフによる純度試験

液体クロマトグラムの一例を Fig. 2 に示す。面積百分率法で0.05%以上の不純物ピークが1個検出され、その量は0.07%と推定された。

4) 水分

8.1% (0.02g, 電量滴定法)

8) 定量: 99.6%

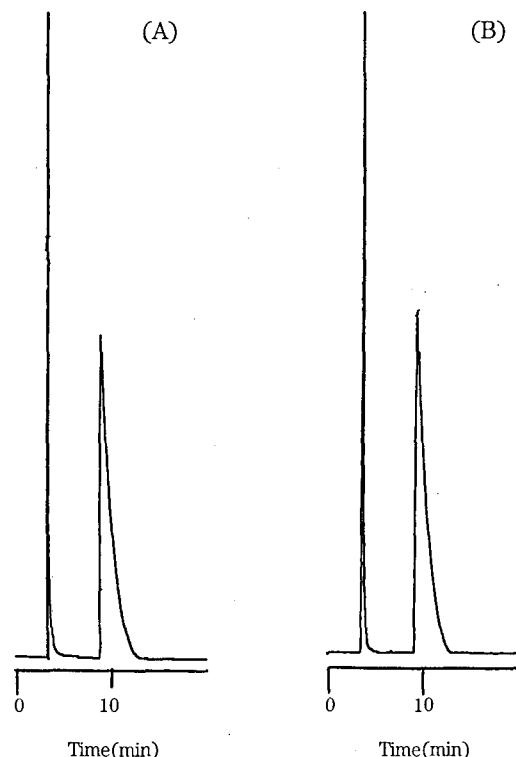


Fig. 2 High-performance liquid chromatograms of the raw material for Potassium Sucrose Octa Sulfate Reference Standard

(A) : Raw material

(B) : Potassium Sucrose Octa Sulfate Reference Standard
(Control 901)

結論

ショ糖オクタ硫酸エステルカリウム標準品原料につき、
日局標準品を対照に比較検討した結果、国立医薬品食品衛
生研究所標準品（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 961 として製造・配布を開始
した。

文献

- 1) 村井真美・筧 華子・小松裕明・石光 進・岡田敏史
：衛生試報, 109, 171 (1991)

国立医薬品食品衛生研究所トロンビン標準品 (Control 961)

北島 文・岩田美保・前川京子・斎藤博幸
谷本 剛[#]・岡田敏史

Thrombin Reference Standard (Control 961) of National Institute of Health Sciences

Aya Kitajima, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito,
Tsuyoshi Tanimoto[#] and Satoshi Okada

The "Thrombin Reference Standard (Control 961)" of National Institute of Health Sciences was prepared. The precision of filling into ampoule was about 1% as C.V. The content of a-thrombin was about 87%. The thrombin potency of the standard material was assayed against the Thrombin Reference Standard (Control 8710) according to the method of JP XIII and the potency was 1033 ± 59 unit/ampoule. From the results, the potency of the proposed material for Thrombin Reference Standard was defined as 1,030 units per ampoule.

Keywords: thrombin, NIHS Reference Standard, potency

1962年に国立衛生試験所トロンビン標準品が新規に設定され、その後数次にわたるロット更新が行われてきたが、現行の標準品 (Control 871 シリーズ) の在庫が僅少となつたため、新ロットの標準品を製造することになった。以下、新ロット製造の結果を報告する。

実験方法

1. 標準品

国立医薬品食品衛生研究所トロンビン標準品 (Control 8710) (610 単位/アンプル) を使用した。

2. トロンビン標準品用原料

トロンビン標準品用原料は、ウシの血液から得たプロトロンビンにカルシウムイオンの存在下でトロンボプラスチンを作用させて製したトロンビンを精製した後、トロンビン溶液 1,000,000 単位当たりウシ血清アルブミン 1 g 及び乳糖 10 g を加え、1 アンプル中にトロンビン約 1,000 単位ずつ分注し、凍結乾燥したものであり、持田製薬株式会社に依頼して調製した。

3. 充てん精度

標準品用原料の製造工程における充てん精度を知るために、10 アンプルを用いて重量偏差試験及びたん白質含量の測定を行った。重量偏差試験は日局 12 重量偏差試験法に準じて試験した。たん白質量はウシ血清アルブミンを標

準にして Lowry 法¹⁾で測定した。

4. ゲル電気泳動

Laemmli の方法²⁾に従って試料溶液を調製した。すなわち、標準品用原料 1 アンプルの内容物をサンプルバッファー 0.5 ml に溶かし、沸騰水浴中で 15 分間加熱し、試料溶液とした。試料溶液 1 μl を用いて、SDS-PAGE 用 12.5 % ゲルで電気泳動した。電気泳動装置は PhastSystem を用いた。泳動帯の量比は画像解析で算出した。

5. 力価測定法

日局トロンビン定量法を一部改良した方法³⁾で試験した。ただし、検液は濃度の異なる 2 種を製してそれぞれの凝固時間からその単位を求めた。

結果とまとめ

標準品用原料の重量偏差試験及びたん白質量の試験結果はそれぞれ 12.93 ± 0.168 mg (CV : 1.30 %) 及び 1.92 ± 0.0178 mg (CV : 0.93 %) であり、製造工程での充てん量はよく管理されていた (Table 1)。トロンビンは製造工程中に自己消化によって一部低分子化するが、本標準品用原料の低分子化生成物 (β -トロンビン) の電気泳動で求めた含量は約 13 % であった (Fig. 1)。29 回の繰り返し測定で得られた標準品用原料 1 アンプルの平均含有力価は $1,033.2 \pm 58.8$ 単位であった (Table 2)。

以上の結果から、本標準品原料は 1 アンプル中に 1,030 単位のトロンビンを含むものと認定し、国立医薬品食品衛生研究所トロンビン標準品 (Control 961) (日本薬局方標

[#] To whom correspondence should be addressed: Tsuyoshi Tanimoto; Hoenzaka 1-1-43, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-941-4419; Fax: 06-942-0716; E-mail: tanimoto@nihs.go.jp

Table 1. Weight variation test and content of protein of the material prepared for "Thrombin Reference Standard"

Sample No.	Weigh variation test (mg)	Content of protein (mg)
1	12.84	1.93
2	12.77	1.93
3	12.60	1.95
4	12.81	1.93
5	13.08	1.94
6	12.94	1.93
7	13.00	1.93
8	12.99	1.90
9	13.08	1.90
10	13.14	1.90
Mean ± S.D. (C.V.)	12.93 ± 0.168 (1.30%)	1.92 ± 0.0178 (0.927%)

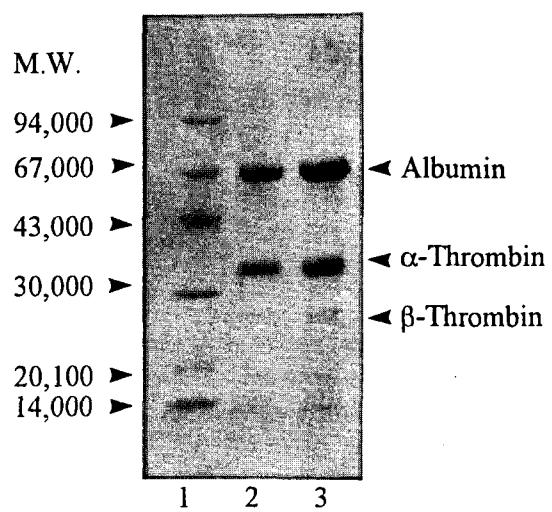


Fig. 1. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of the material prepared for "Thrombin Reference Standard"

1: Standard protein for molecular weight: phosphorylase b (M.W.: 94,000), bovine serum albumin (M.W.: 67,000), ovalbumin (M.W.: 43,000), carbonic anhydrase (M.W.: 30,000), trypsin inhibitor (M.W.: 20,100), α -lactalbumin (M.W.: 14,400)
2: Sample (Ca. 1 mg of thrombin/mL)
3: Sample (Ca. 2 mg of thrombin/mL)

Table 2. Potency of the material prepared for "Thrombin Reference Standard"

Potency (unit/ampoule)											Mean ± S.D.
1035	1118	1005	935	1173	1019	1096	1035	1055	1044		1033.2 ± 58.8
985	1030	1043	1076	973	1142	907	981	1086	1097		
1047	1005	1003	1033	1033	997	978	1003	1005			

準品）として配布することにした。

文 献

1) Lowry, O.H., Rowebrough, N.J., Farr, A.L. and

Randall, R.J.: J. Biol. Chem., **193**, 265 (1951)

2) Laemmli, U.K.: Nature, **227**, 680 (1970)

3) 谷本 剛, 横田椅江, 早川堯夫: 医薬品研究, **25**, 988 (1994)

国立医薬品食品衛生研究所カリジノゲナーゼ標準品 (Control 971)

岩田美保・北島 文・前川京子・斎藤博幸
谷本 剛[#]・岡田敏史

Kallidinogenase Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences

Miho Iwata, Aya Kitajima, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito,
Tsuyoshi Tanimoto[#] and Satoshi Okada

The "Kallidinogenase Reference Standard (Control 971)" of National Institute of Health Sciences was prepared. The kallidinogenase potency of the standard material was assayed against the 2nd Kallidinogenase Reference Standard (Control 854) by the enzyme assay method using H-D-valyl-L-leucyl-L-arginine-*p*-nitro-anilide as the substrate. The potency of the Kallidinogenase Reference Standard material thus obtained was defined as 119 unit per ampoule.

Keywords: kallidinogenase, NIH Reference Standard, potency

1982年に国立衛生試験所カリジノゲナーゼ標準品を新規に設定し¹⁾、1984年にロットの更新を行い2回目の同標準品を製造した²⁾。今回、現行標準品の在庫が少なくなったので、3回目の標準品を製造し、ロットの更新を行った。以下、その結果を報告する。なお、カリジノゲナーゼが第十三改正日本薬局方第一追補に収載されたことに伴い、本標準品は日本薬局方標準品となった。

実験方法

1. 標準品

国立医薬品食品衛生研究所カリジノゲナーゼ標準品 (Control 854) (115単位/アンプル) を使用した。

2. カリジノゲナーゼ標準品用原料

カリジノゲナーゼ標準品用原料はブタ脾臓から精製したカリジノゲナーゼ（アイソザイムA及びBを含む）を乳糖とともに水に溶かした後、アンプルに注入し、凍結乾燥したものであり、バイエル社(ドイツ)に依頼して調製した。同社の試験成績では、1アンプル中の乳糖含量は4.8 mg、カリジノゲナーゼ力価は118.5単位であり、製造工程での充てん精度は変動係数0.1% (n=113) で管理されていた。

3. 力価測定法

カリジノゲナーゼの力価測定は、ペプチド合成基質(D-パリル-ロイシル-アルギニン-*p*-ニトロアニリド[S-2266]; Chromogenix AB社)を用いた酵素活性測定法¹⁾により行

Table 1. Potency of the material prepared for "Kallidinogenase Reference Standard"

Ampoule No.	Unit/ampoule	Mean
1	120.9 121.6 122.9	121.8
2	118.9 119.6 121.5	120.0
3	121.2 120.1 119.4	120.2
4	120.1 116.4 107.4	114.6
5	112.8 118.2 117.9	116.3
6	117.7 119.2 119.4	118.8
7	121.2 120.1 118.3	119.9
8	117.9 118.7 117.3	118.0
Mean ± S.D.		118.7 ± 2.33

* To whom correspondence should be addressed: Tsuyoshi Tanimoto; Hoenzaka 1-1-43, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-941-4419; Fax: 06-942-0716; E-mail: tanimoto@nihs.go.jp

い、その操作は日局の方法^{③)}に準じた。

結果とまとめ

標準品用原料8アンプルについて、カリジノゲナーゼ標準品 (Control 854) を標準にしてそれぞれ3回ずつ力価を測定し、アンプルごとの平均含有力価を求めた。ここで求めた各アンプルの含有力価の平均値は 118.7 ± 2.33 単位であった (Table 1)。充てん誤差、測定誤差を含めた測定値の変動係数は1.96%であり、充てん量や測定値に大きな変動はなかった。

以上の結果から、本標準品原料は1アンプル中に119単位のカリジノゲナーゼを含むものと認定し、国立医薬品食品衛生研究所カリジノゲナーゼ標準品 (Control 971) (日本薬局方標準品) として配布することにした。

文 献

- 1) 谷本 剛, 福田秀男, 木村俊夫, 川村次良:衛生試報, **101**, 128-131 (1983)
- 2) 谷本 剛, 福田秀男, 木村俊夫, 山羽 力:衛生試報, **103**, 116-118 (1985)
- 3) 第十三改正日本薬局方第一追補, 厚生省, pp. 25-26 (1997)

国立医薬品食品衛生研究所酢酸レチノール標準品(Control 971)及び
パルミチン酸レチノール標準品 (Control 971)

谷本 剛[#]・岩田美保・北島 文・前川京子
斎藤博幸・岡田敏史

Retinol Acetate Reference Standard (Control 971) and Retinol Palmitate Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences

Tsuyoshi Tanimoto[#], Miho Iwata, Aya Kitajima, Keiko Maekawa,
Hiroyuki Saito and Satoshi Okada

The "Retinol Acetate Reference Standard (Control 971)" and "Retinol Palmitate Reference Standard (Control 971)" of National Institute of Health Sciences using the assay of vitamine A ester were prepared. The proposed materials were evaluated in collaboration with four laboratories. Analytical data obtained were as follows. 1) The purities of retinol acetate and retinol palmitate measured by HPLC were $99.9 \pm 0.06\%$ and $94.5 \pm 0.06\%$, respectively. 2) ultraviolet spectrum of retinol acetate and retinol palmitate showed the λ_{max} at 326~327 nm. 3) The difference in relative extinction of retinol acetate and retinol palmitate at 300 nm, 310 nm, 320 nm, 330 nm, 340 nm and 350 nm are within the range provided in JPXIII. 4) The contents of retinol acetate and retinol palmitate were 52,000 IU/g and 52,200 IU/g, respectively. Based on the above results, these proposed materials were authorized to be the Reference Standards of the National Institute of Health Sciences.

Keywords: retinol acetate, retinol palmitate, quality evaluation, NIHS Reference Standard

日局一般試験法ビタミンA定量法の改正の必要性が指摘され¹⁾、現行のビタミンA定量法にHPLC法による定量操作法を追加する方向で検討されている。HPLC法は酢酸レチノール、パルミチン酸レチノールのエステル型ビタミンA及びこれらを含有する製剤のビタミンA含量測定に応用されると予想されるが、この方法を設定する際にはその前提としてビタミンA含量の明らかな標準品が必須となる。現在、ビタミンA関連の標準品としては「薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール標準品」及び「薄層クロマトグラフ用パルミチン酸レチノール標準品」が日本薬局方標準品として設定されているが、これらは薄層クロマトグラフ法による確認試験で用いる標準品である。そこで、平成8年度の国立衛生試験所標準品委員会において、日局一般試験法ビタミンA定量法の改正を円滑に進めるために、エステル型ビタミンAのHPLC法による定量法に使用することを目的とした酢酸レチノール及びパルミチン酸レチノール標準品を平成9年度に設定することが決定された。

そこで、当該標準品の候補品を調製し、この品質評価を

国立医薬品食品衛生研究所、日本ロッシュ(株)、理研ビタミン(株)及び日清製粉(株)の4機関での共同検定によって行った。以下、その結果を報告する。

実験方法

1. 標準品候補品の調製

標準品調製用の酢酸レチノール原体は Hoffmann-Roche 社で、パルミチン酸レチノール原体は理研ビタミン(株)で製造、精製したものを使用した。この両原体を理研ビタミン(株)において、トウモロコシ油により窒素気流中で約5万IU/gとなるように希釈した。なお、この際に抗酸化剤としてBHA及びBHTを1g当たり5μgずつ添加した。トウモロコシ油で希釈した酢酸レチノール油及びパルミチン酸レチノール油は日清製粉(株)においてソフトカプセルに1カプセル当たり約220mgずつ充てんし、これを標準品候補品とした。

2. 試験方法

(1) HPLC法による純度試験

各標準品候補品1アンプルの内容物の適量を精密に量り、1mlに約100IUを含むように2-プロパノールを加えて溶かし、試料溶液とする。試料溶液10μlにつき次の条件で

* To whom correspondence should be addressed: Tsuyoshi Tanimoto; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-941-4419; Fax: 06-942-0716; E-mail: tanimoto@nihs.go.jp

液体クロマトグラフ法により試験を行う。

操作条件

検出器：紫外吸光度計（測定波長：326 nm）

カラム：Inertsil ODS-3 (4.6 mm ϕ × 150 mm)

移動相：メタノール

流 量：酢酸レチノール又はパルミチン酸レチノールの保持時間が、それぞれ約5分又は17分になるように調整する。

面積測定範囲：溶媒ピークの後から、酢酸レチノールの保持時間の約7倍の範囲又はパルミチン酸レチノールの保持時間の約2倍の範囲。

(2) 定量法

標準品候補品のカプセルの内容物を用いて、第十三改正日本薬局方一般試験法「ビタミンA定量法」の第1法²⁾に従って試験した。

結果と考察

1. 性 状

酢酸レチノール及びパルミチン酸レチノール標準品の候補品はそれぞれ淡黄色不透明及び淡赤色不透明の楕円形ソフトカプセルに充てんしたものである。

2. HPLC 法による純度試験

酢酸レチノール及びパルミチン酸レチノールのクロマトグラムをFig. 1に示す。酢酸レチノールは約5分に左右対

称の鋭い1本のピークとして溶出され、面積百分率法で0.05%以上の不純物ピークは認められず、純度は99.9±0.06% (n=3) であった。一方、パルミチン酸レチノールでは約17分に左右対称の主ピークが溶出したが、約10分、13分及び25分に不純物ピークが認められ、特に約25分に溶出するピークの含量は面積百分率法で約4.5%であった。これらのことから、パルミチン酸レチノールの面積百分率法で求めた純度は94.5±0.06%であった。パルミチン酸レチノールの精製は現在の製造技術ではこれ以上は困難であると考えられている。ビタミンAの含量を質量に基づいて表す場合、本候補品の現在の純度では標準品としての位置づけは困難であるが、日局では単位（国際単位）でその含量が表記されることになっており、この場合には標準品に含まれる単位数が厳密に規定されれば今回調製した候補品の純度でも十分標準品として使用できると考えられた。

3. 定 量

標準品候補品のカプセル内容物の適量を精密に量り、「ビタミンA定量法」第1法に従って調製した試料溶液の紫外吸収スペクトルを Fig. 2 に示す。酢酸レチノール及びパルミチン酸レチノールとともに波長326~327 nm に吸収の極大を示した。また、波長326 nm の吸光度を1.000としたときの波長300 nm, 310 nm, 320 nm, 330 nm, 340 nm 及び350における吸光度の比はそれぞれ「ビタミンA定量法」に規定されている値の±0.030の範囲にあった (Table 1)。

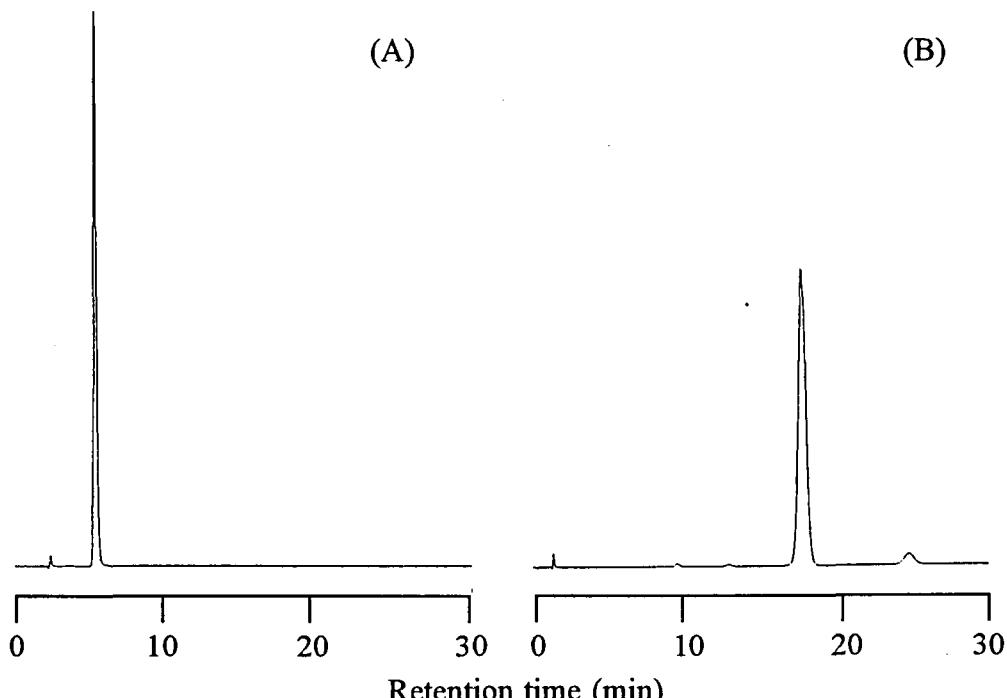


Fig. 1. High-performance liquid chromatograms of the proposed material for Retinol Acetate and Retinol Palmitate Reference Standards

A) : The proposed material for Retinol Acetate Reference Standard

B) : The proposed material for Retinol Palmitate Reference Standard

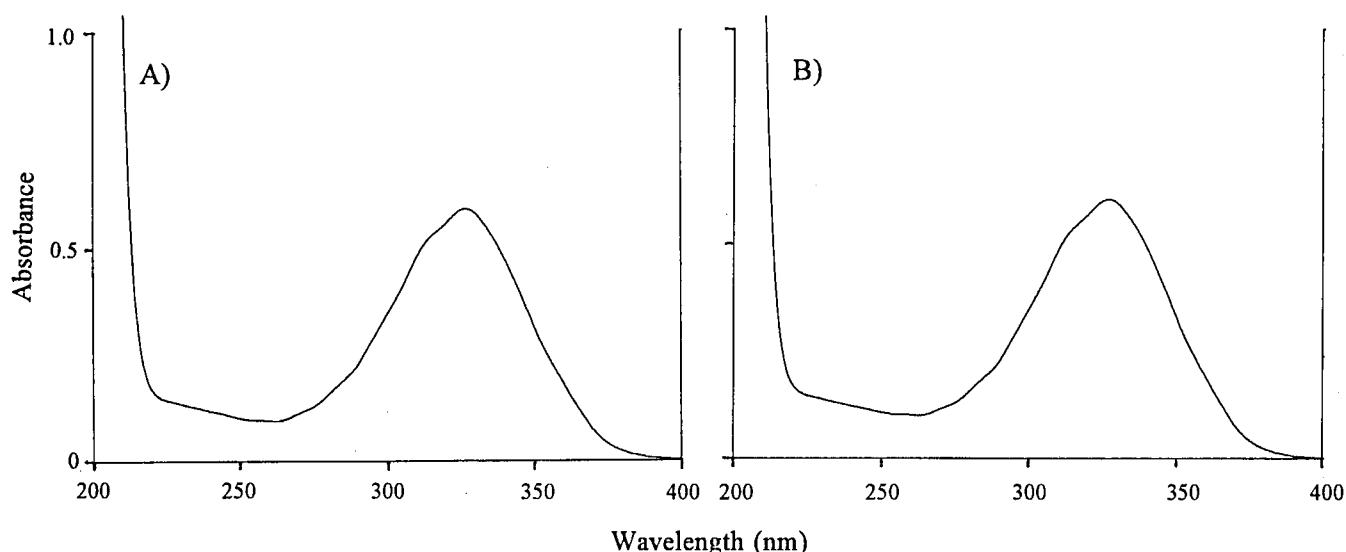


Fig. 2. Ultraviolet absorption spectra of the proposed material for Retinol Acetate and Retinol Palmitate Reference Standards

- A) : The proposed material for Retinol Acetate Reference Standard
 B) : The proposed material for Retinol Palmitate Reference Standard

Table 1. Relative extinctions of "Retinol Acetate Reference Standard" and "Retinol Palmitate Reference Standard" materials

λ (nm)	Retinol acetate			Retinol palmitate		
	A	B	$\Delta(A - B)$	A	B	$\Delta(A - B)$
300	0.582	0.578	+ 0.004	0.576	0.590	- 0.014
310	0.814	0.815	- 0.001	0.807	0.825	- 0.018
320	0.947	0.948	- 0.001	0.944	0.950	- 0.006
326	1.000	1.000		1.000	1.000	
330	0.979	0.972	+ 0.006	0.983	0.981	+ 0.002
340	0.795	0.786	+ 0.009	0.804	0.795	+ 0.009
350	0.528	0.523	+ 0.005	0.541	0.527	+ 0.014

A: relative extinction of standard material.

B: value provided in JP X III

Table 2. Potency of the material prepared for "Retinol Acetate Reference Standard"

Lab.	Potency (IU/g)						Mean \pm S.D.
	1	2	3	4	5	6	
A	51880	51360	52080	51430	51840	52200	51800 \pm 340
B	52610	51910	51950	52270	51780	51830	52060 \pm 320
C	51820	51720	51790	51890	51890	51800	51820 \pm 65
D	52440	52610	52000	52250	52310	52140	52290 \pm 216
Mean \pm S.D. (n=24)						51990 \pm 317	

Table 3. Potency of the material prepared for "Retinol Palmitate Reference Standard"

Lab.	Potency (IU/g)						Mean ± S.D.
	1	2	3	4	5	6	
A	52270	52330	52510	52280	52450	52050	52320 ± 161
B	52230	52920	52140	52540	52080	52310	52370 ± 314
C	51570	51600	51880	51840	51960	51800	51780 ± 157
D	52040	52800	52100	52350	52590	52230	52350 ± 294
Mean ± S.D. (n=24)							52200 ± 340

このことは本候補品の定量に「ビタミン A 定量法」第 1 法の適用が可能であることを示しているので、326 nm における吸光度より両標準品候補品の 1g 当たりのビタミン A 単位を求めた。その結果、酢酸レチノール標準品候補品は 1g 当たり 52,000 ± 317 単位 (Table 2)、パルミチン酸レチノール標準品候補品は 1g 当たり 52,200 ± 340 単位 (Table 3) を含有していた。

ま と め

高度に精製した酢酸レチノール及びパルミチン酸レチノールをソフトカプセルに充填した酢酸レチノール及びパルミチン酸レチノール標準品候補品の品質を 4 機関での共同検定で試験した。その結果、本品は日局一般試験法「ビタミン A 定量法」第 1 法の適用が可能な純度をもっていることが示され、同定量法によって酢酸レチノール標準品候

補品は 1g 当たり 52,000 ± 317 単位、パルミチン酸レチノール標準品候補品は 1g 当たり 52,200 ± 340 単位を含有していることが明らかになった。そこで、本候補品をそれぞれ初回の酢酸レチノール標準品 (1g 中 52,000 単位含有) (Control 971) 及びパルミチン酸レチノール標準品 (1g 中 52,200 単位含有) (Control 971) として配布することにした。

終りに、本標準品原料の製造及び品質評価にあたりご協力いただきました日本ロッシュ(株)、理研ビタミン(株)及び日清製粉(株)の各社に深謝いたします。

文 献

- 岡田敏史、北島 文、谷本 剛：医薬品研究, **28**, 795-799 (1997)
- 第十三改正日本薬局方：pp.89-91 (1996)

国立医薬品食品衛生研究所コレカルシフェロール標準品 (Control 971)

岩田美保・北島 文・前川京子・斎藤博幸
谷本 剛・岡田敏史[#]

Cholecalciferol Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences

Miho Iwata, Aya Kitajima, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito,
Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada[#]

The raw material for cholecalciferol was examined for preparation of the "Cholecalciferol Reference Standard (Control 971)". Analytical data obtained were as follows: melting point, 83.8°C; UV and infrared spectra, the same as those for JP Cholecalciferol Reference Standard (Control 945), respectively; specific absorbance at 265 nm, $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 485$; optical rotation, $[\alpha]_D^{20} = +107.4^\circ$; thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography (HPLC), no impurity was detected; assay, 98.9 % by HPLC.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Cholecalciferol Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences.

Keywords: cholecalciferol, quality evaluation, authorization, NIHS Reference Standard

第十三改正日本薬局方「コレカルシフェロール」の確認試験及び定量法に用いられる国立医薬品食品衛生研究所コレカルシフェロール標準品 (Control 971) を製造したので報告する。

1. 標準品原料

標準品原料は Duphar 社(オランダ)より入手した。本標準品原料は、高純度のコレカルシフェロール約100 mg をアンプルに小分け・充填し、窒素置換した後、溶封されたものである。

2. 参照物質および試薬

日本薬局方コレカルシフェロール標準品(Control 945; 日局標準品と略称)^①を対照に試験を行った。試薬は特級品又は特級相当品を用いた。

3. 装 置

本標準品原料の品質評価試験にあたり、下記の測定装置を用いた。

セミミクロ上皿電子天秤：メトラー、AE-240型。

自記分光光度計：島津製作所、UV-2500(PC)S型。

赤外分光光度計：日本分光、FT-IR VALOR-III。

旋光計：日本分光、DIP-370型。

融点測定器：宮本理研、PA-20S型。

液体クロマトグラフ装置：日本分光の TRI PAR-VI 型

[#] To whom correspondence should be addressed: Satoshi Okada; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-941-1533; Fax: 06-942-0716; E-mail: okada@nihs.go.jp

ポンプ、UVIDEC-100-VI型検出器、資生堂製データ処理装置 S-MC 及び恒温水槽(東洋科学、TE-104S型)。

4. 試験方法

特に記すものほかは、第十三改正日本薬局方の一般試験法および医薬品各条「コレカルシフェロール」の試験法を準用した。

(1) 薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験

薄層板：メルク社製プレコートド薄層板シリカゲル 60F₂₅₄ (厚さ、0.25 mm)。

展開溶媒：シクロヘキサン/ジエチルエーテル混液(1:1)。

試料溶液及び標準溶液：標準品原料及び日局標準品約 10 mg を精密に量り、それぞれにクロロホルム 1 ml を正確に加えて溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。

操作法及び検出法：試料溶液及び標準溶液の 5~10 μl (コレカルシフェロール 50~100 μg 相当量) をシリカゲル薄層板に窒素ガスを吹きつけながらスポットし、暗所で約 15 cm 展開した後、風乾する。薄層板に濃硫酸を均等に噴霧した後、100°Cで 5 分間加熱し、直ちに肉眼で観察する。

(2) 液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験

標準品原料及び日局標準品約 5 mg ずつを精密に量り、それぞれにイソオクタン 4 ml を正確に加えて溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。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により試験を行う。

操作条件

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長： 254 nm)

カラム：Chemcosorb 5Si (4.0 mm ϕ × 150 mm)
 移動相：ヘキサン/n-アミルアルコール混液 (997:3)
 流量：2.0 mL/min
 カラム温度：20°C

カラムの選定：日局「コレカルシフェロール」の定量法におけるカラムの選定を準用する。

検出感度：標準溶液 1 mL を正確に量り、イソオクタンを加えて正確に 100 mL とした液 10 μ L から得たコレカルシフェロールの高さが記録紙のフルスケールの約 10% の高さになるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整する。更に、標準溶液 1 mL を正確に量り、イソオクタンを加えて正確に 2,000 mL とした液 10 μ L から得たコレカルシフェロールのピーク面積が自動積分法で測定されるように装置の分析パラメーターを設定する。

面積測定範囲：溶媒ピークの後、コレカルシフェロールの保持時間の 2 倍の範囲。

5. 試験結果

- (1) 性状：白色の結晶で、においはない。
- (2) 融点：83.8°C
- (3) 紫外吸収スペクトル及び比吸光度：標準品原料のエタノール溶液の紫外吸収スペクトルを測定するとき、波長 265 nm に吸収の極大が認められた (Fig. 1)。この波長における比吸光度 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (265 nm) は 485 であった。日局「コレカルシフェロール」の比吸光度の規格は、同一条件で 450~490 であることから、本標準品原料の比吸光度 485 は

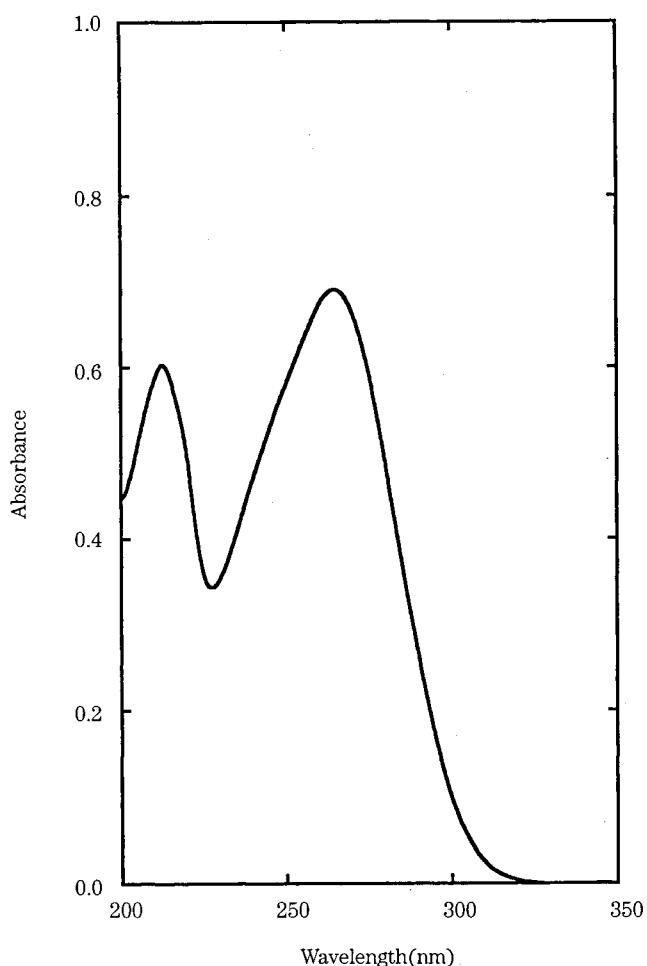


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Cholecalciferol Reference Standard

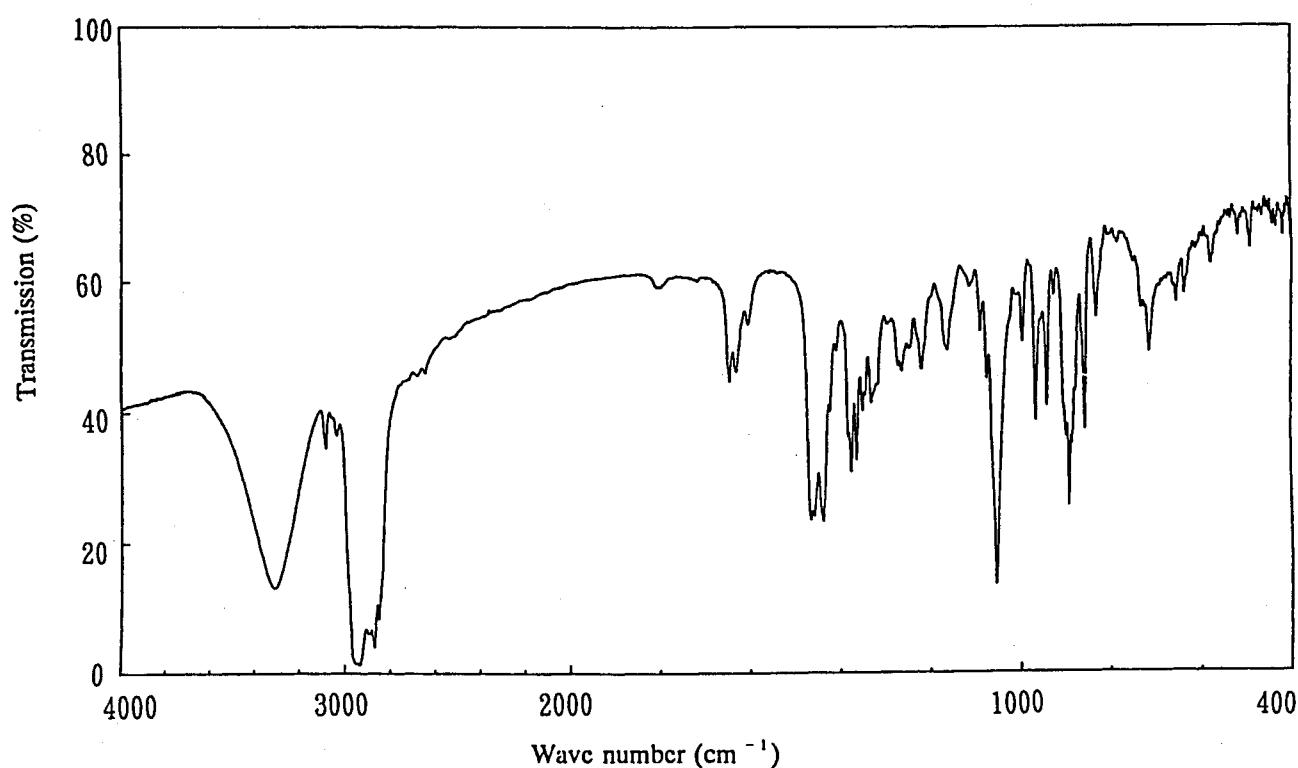


Fig. 2. Infrared absorption spectrum of the raw material for Cholecalciferol Reference Standard

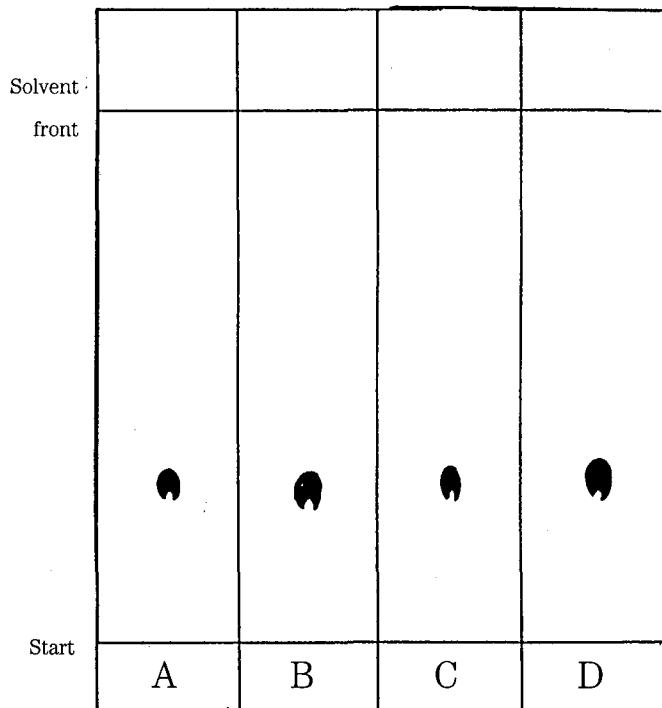


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of the raw material for Cholecalciferol Reference Standard

Solvent: cyclohexane/diethylether (1:1)

Spot: A and B are 50 μg and 100 μg of the raw material, respectively.

C and D are 50 μg and 100 μg of the Cholecalciferol Reference Standard, respectively.

日局規格に適合した。

(4) 赤外吸収スペクトル：標準品原料及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)。

(5) 旋光度： $[\alpha]_{D}^{20} = +107.4^\circ$ (0.05 g, エタノール, 1,000 mL)。日局「コレカルシフェロール」の旋光度規格は、同一条件下で $+103 \sim +112^\circ$ であり、標準品原料の旋光度は日局規格に適合した。

(6) 純度試験

(a) TLC 法：標準品原料及び日局標準品の薄層クロマトグラムを Fig. 3 に示す。標準品原料及び日局標準品とも 100 μg のスポット量まで不純物スポットは認められなかった。なお、本法によるコレカルシフェロールの検出限界は 0.1 μg であった。

(b) HPLC 法：標準品原料及び日局標準品の液体クロマトグラムの一例を Fig. 4 に示す。標準品原料及び日局

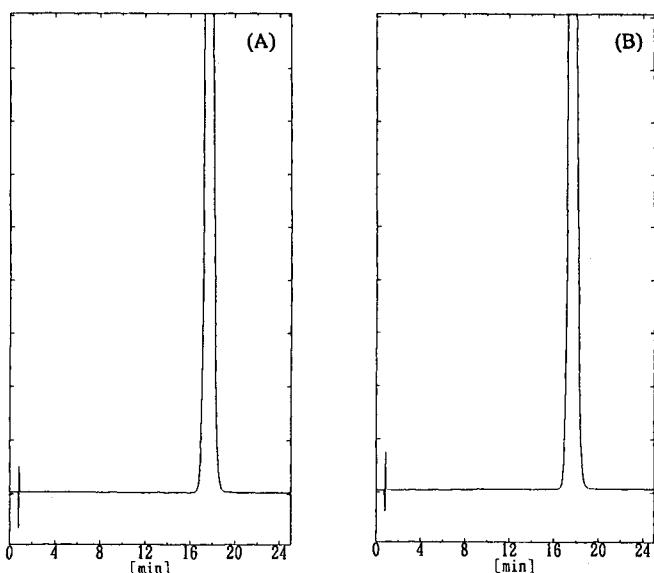


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms of the raw material for Cholecalciferol Reference Standard

(A): Raw material

(B): Cholecalciferol Reference Standard (Control 945)

標準品とともに面積百分率法で 0.05% 以上の不純物は検出されず、本標準品原料は極めて高純度に精製されたものであることが明らかとなった。

(7) 定量：日局「コレカルシフェロール」の定量法を準用し、日局標準品を対照に液体クロマトグラフ法により試験を行った結果、 $98.9 \pm 0.15\%$ ($n = 3$) の値が得られた。

結論

標準品原料として入手したコレカルシフェロールを日局標準品を対照に比較検討した結果、本標準品原料は、液体クロマトグラフ法による定量法及び赤外吸収スペクトル測定法による確認試験のための標準品として十分な品質を有することが明らかとなったので、国立医薬品食品衛生研究所コレカルシフェロール標準品 (Control 971) (日本薬局方標準品) として製造・配布することとした。

文献

- 1) 北島 文、前川京子、吉井公彦、小松裕明、谷本 剛、岡田敏史：衛生試報, 113, 104 (1995)

国立医薬品食品衛生研究所酢酸トコフェロール標準品(Control 971)

北島 文・岩田美保・前川京子・斎藤博幸

谷本 剛・岡田敏史[#]

Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences

Aya Kitajima, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito,
Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada[#]

The raw material of tocopherol acetate was examined for the preparation of the "Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 971)". Analytical data obtained were as follows: infrared spectrum, the same as that of the Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 941); specific absorbance, $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (284 nm) = 43.0; thin-layer chromatography, no impurities were detected until 50.0 μg of the loaded raw material; high-performance liquid chromatography (HPLC), one impurity was detected and the amount was estimated to be about 0.68%; assay by HPLC, 100.2%.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences.

Keywords: tocopherol acetate, quality evaluation, authorization, NIHS Reference Standard

第十三改正日本薬局方「酢酸トコフェロール」の確認試験及び定量法に用いられる国立医薬品食品衛生研究所“酢酸トコフェロール標準品 (Control 971)”(日本薬局方標準品)を製造したので報告する。

1. 標準品原料

標準品原料はエーザイ株式会社より入手した。同社において、分子蒸留法により精製され、褐色アンプル中に約0.15 g づつ小分け充填し、窒素置換した後、溶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 まで他のスポットを認めない。

液体クロマトグラフ(HPLC)法による純度試験: 不純物量0.8%。

比吸光度 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (284 nm): 42.7.

定量(HPLC法): 99.9%.

2. 参照物質及び試薬

第十三改正日本薬局方酢酸トコフェロール標準品(Control 941; 日局標準品と略称)¹⁾を対照物質とした。試薬及び溶媒は特級品又は特級相当品を用いた。

3. 装 置

本標準品原料の品質評価試験にあたり、下記の測定装置を用いた。

* To whom correspondence should be addressed: Satoshi Okada; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-941-1533; Fax: 06-942-0716; E-mail: okada@nihs.go.jp

自記分光光度計: 島津製作所, UV2500PC.

赤外分光光度計: 日本分光, FT-IR VALOR-III.

液体クロマトグラフ装置: 島津製作所製の LC-6A 型ポンプ, SPD-6A 型検出器, CTO-6A 型カラムオーブン及び資生堂製データ処理装置 S-mc.

4. 試験方法

特に記すもののほかは、日局一般試験法及び「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(TLC)法による純度試験

薄層板: メルク社製プレコーテッド薄層板シリカゲル60(厚さ, 0.25 mm).

展開溶媒: トルエン.

試料溶液及び標準溶液の調製: 標準品原料及び日局標準品0.01 g をとり、ヘキサン2.0 ml を加えて溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。

操作法及び検出法: 試料溶液及び標準溶液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(HPLC)法による純度試験

標準品原料及び日局標準品0.02 g ずつを正確に量り、それぞれを無水エタノール2.5 ml に溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。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により試験を行う。

操作条件

検出器：紫外吸光度計（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：標準溶液1 mLを正確に量り、無水エタノールを加えて正確に100 mLとした液10 μ Lから得た酢酸トコフェロール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、標準溶液1 mLを正確に量り、無水エタノールを加えて正確に2,000 mLとした液10 μ Lから得た酢酸トコフェロールのピーク面積が自動積分法で測定されるように装置の分析パラメーターを設定する。

面積測定範囲：溶媒ピークの後、酢酸トコフェロールの保持時間の2倍の範囲。

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及び比吸光度

日局の方法で調製した標準品原料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、284.6 nm付近に吸収の極大を認めた (Fig. 1)。極大吸収波長における比吸光度 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (284 nm) は43.0であり、日局規格に適合する。(日局: $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (284 nm) = 41.0~45.0)。

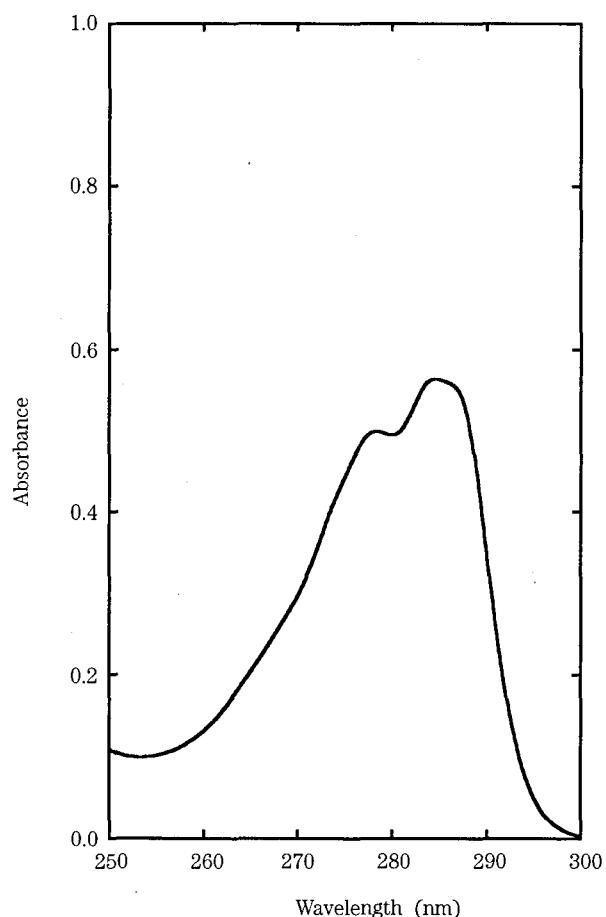


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Tocopherol Acetate Reference Standard

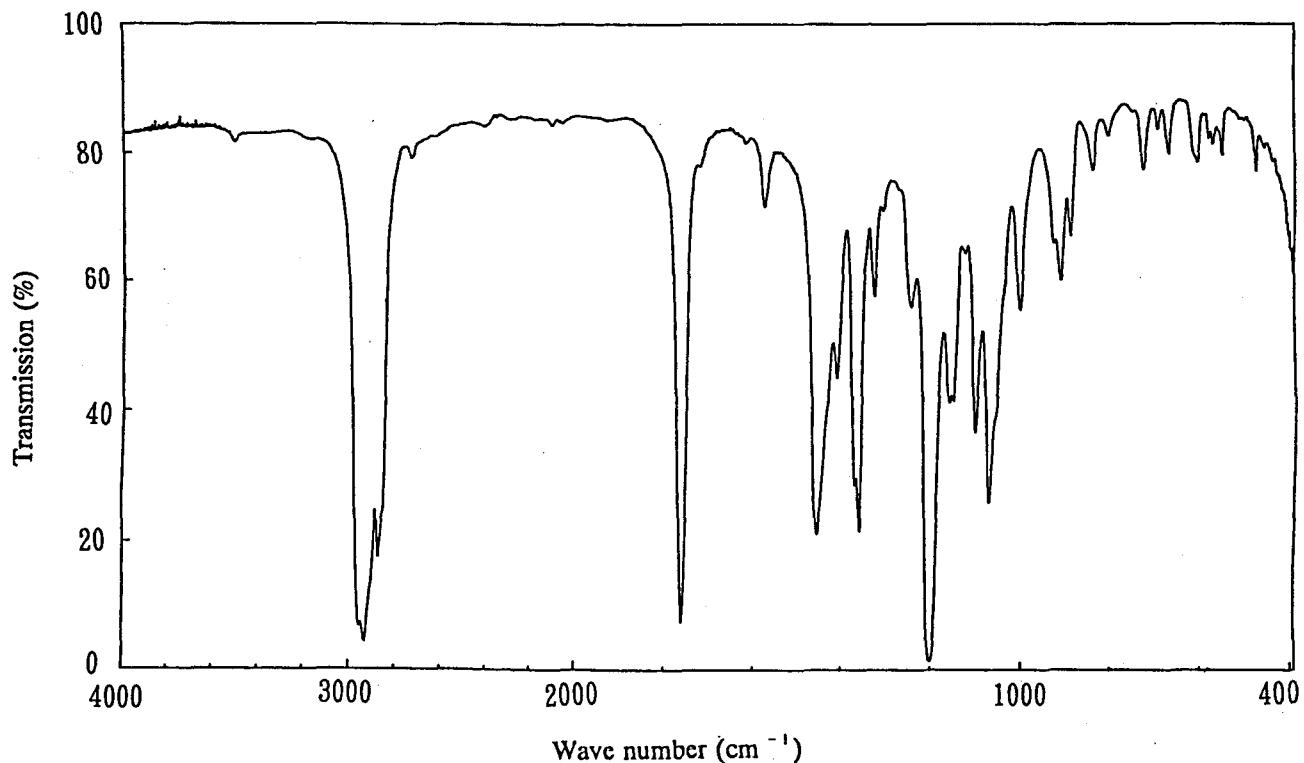


Fig. 2. Infrared absorption spectrum of the raw material for Tocopherol Acetate Reference Standard

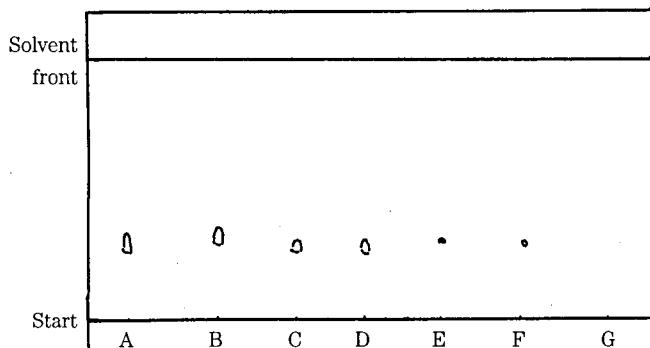


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of the raw material for Tocopherol Acetate Reference Standard

Solvent: toluene

Spot: A is 50 μg of the Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 941).

B to G are 50, 25, 15, 1, 0.5 and 0.25 μg of the raw material, respectively.

3) 赤外吸収スペクトル

標準品原料及び日局標準品の赤外吸収スペクトルを液膜法（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、同一波数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：標準品原料及び日局標準品の薄層クロマトグラムを Fig. 3 に示した。試料溶液及び標準溶液とも、スポット量 50 μg まで異種スポットは認められなかった。また、本法による酢酸トコフェロールの検出限界は 0.5 μg であった。

(b) HPLC 法：標準品原料及び日局標準品の液体クロマトグラムを Fig. 4 に示した。両者とも主ピークの溶出前に複数個の不純物ピークが検出され、それらのピークの位置と形状から、標準品原料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、標準品原料で 0.7 ± 0.05%，日局標準品で 0.9 ± 0.02% と推定された。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

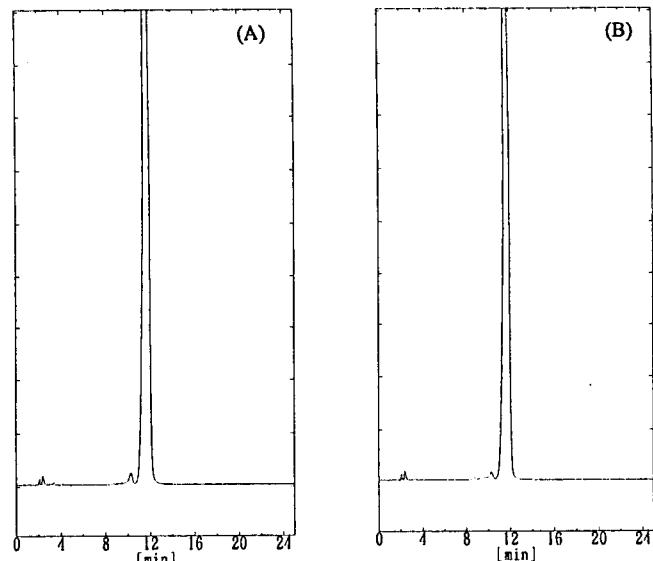


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms of the raw material for Tocopherol Acetate Reference Standard

(A) : Raw material

(B) : Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 941)

力な評価手段であることが明らかとなった。

5) 定量

標準品原料の液体クロマトグラフ法による定量試験を日局標準品を対照にして行った結果, 100.2 ± 0.86% (n = 5) 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、日局「酢酸トコフェロール」の定量法を準用した。

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、国立医薬品食品衛生研究所標準品（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 971 として製造・配布を開始した。

文献

- 1) 北島 文・前川京子・吉井公彦・小松裕明・谷本 剛・岡田敏史：衛生試報, 114, 119 (1996)
- 2) 勝井五一郎、大前雅彦、江沢敏一、江沢 総：医薬品研究, 16, 506 (1985)

国立医薬品食品衛生研究所エルゴカルシフェロール標準品(Control 971)

岩田美保・北島文・前川京子・斎藤博幸
谷本剛・岡田敏史[#]

Ergocalciferol Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences

Miho Iwata, Aya Kitajima, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito,
Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada[#]

The raw material for ergocalciferol was examined for preparation of the "Ergocalciferol Reference Standard (Control 971)". Analytical data obtained were as follows: melting point, 116.7°C; UV and infrared spectra, the same as those for JP Cholecalciferol Reference Standard; specific absorbance, $E_{\text{cm}}^{1\%} = 461(265 \text{ nm})$; optical rotation, $[\alpha]_D^{20} = +102.5^\circ$; thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography (HPLC), no impurity was detected; assay, 102.4% by HPLC.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Ergocalciferol Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences.

Keywords: ergocalciferol, quality evaluation, authorization, NIHS Reference Standard

第十三改正日本薬局方「エルゴカルシフェロール」の確認試験および定量法に用いられる国立医薬品食品衛生研究所エルゴカルシフェロール標準品 (Control 971) を製造したので報告する。

1. 標準品原料

標準品原料は Duphar 社(オランダ)より入手した。本標準品原料は、高純度のエルゴカルシフェロール約100 mgをアンプルに小分け・充填し、窒素置換した後、溶封されたものである。

2. 参照物質および試薬

日本薬局方エルゴカルシフェロール標準品 (Control 943; 日局標準品と略称)¹⁾を対照に試験を行った。試薬は特級品又は特級相当品を用いた。

3. 装 置

標準品原料の品質評価試験にあたり、下記の測定装置を用いた。

セミミクロ上皿電子天秤：メトラー、AE-240型。

自記分光光度計：鳥津製作所、UV-2500(PC)S型。

赤外分光光度計：日本分光、FT-IR VALOR-III。

旋光計：日本分光、DIP-370型。

融点測定器：宮本理研、PA-20S型。

液体クロマトグラフ装置：日本分光の TRI PAR-VI 型

ポンプ、UVIDEC-100-VI 型検出器、資生堂製データ処理装置 S-MC 及び恒温水槽(東洋科学、TE-104S型)。

4. 試験方法

特に記すもののほかは、第十三改正日本薬局方の一般試験法および医薬品各条「エルゴカルシフェロール」の試験法を準用した。

(1) 薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験

薄層板：メルク社製プレコーテッド薄層板シリカゲル60 F₂₅₄ (厚さ、0.25 mm)。

展開溶媒：シクロヘキサン/ジエチルエーテル混液(1:1)。

試料溶液及び標準溶液：標準品原料及び日局標準品約10 mgを精密に量り、それぞれにクロロホルム 1 mLを正確に加えて溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。

操作法及び検出法：試料溶液及び標準溶液の 5~10 μl (エルゴカルシフェロール50~100 μg 相当量)をシリカゲル薄層板に窒素ガスを吹きつけながらスポットし、暗所で約15 cm 展開した後、風乾する。薄層板に濃硫酸を均等に噴霧した後、100°Cで5分間加熱し、直ちに肉眼で観察する。

(2) 液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験

標準品原料及び日局標準品約5 mgずつを精密に量り、それぞれにイソオクタン 4 mLを正確に加えて溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。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により試験を行う。

操作条件

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長： 254 nm)

[#] To whom correspondence should be addressed: Satoshi Okada; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-941-1533; Fax: 06-942-0716; E-mail: okada@nihs.go.jp

カラム：Chemcosorb 5Si (4.0 mm ϕ × 150 mm)

移動相：ヘキサン/n-アミルアルコール混液 (997:3)

流 量：2.0 ml/min

カラム温度：20°C

カラムの選定：日局「エルゴカルシフェロール」の定量法におけるカラムの選定を準用する。

検出感度：標準溶液 1 ml を正確に量り、イソオクタンを加えて正確に 100 ml とした液 10 μ l から得たエルゴカルシフェロールの高さが記録紙のフルスケールの約 10% の高さになるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整する。更に、標準溶液 1 ml を正確に量り、イソオクタンを加えて正確に 2,000 ml とした液 10 μ l から得たエルゴカルシフェロールのピーク面積が自動積分法で測定されるように装置の分析パラメーターを設定する。

面積測定範囲：溶媒ピークの後、エルゴカルシフェロールの保持時間の 2 倍の範囲。

5. 試験結果

(1) 性状：白色の結晶で、においはない。

(2) 融点：116.7°C

(3) 紫外吸収スペクトル及び比吸光度：標準品原料のエタノール溶液の紫外吸収スペクトルを測定するとき、波長 265 nm に吸収の極大が認められた (Fig. 1)。この波長における比吸光度 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (265 nm) は 461 であった。日局「エルゴカルシフェロール」における比吸光度規格は 445~485 であることから、本標準品原料の比吸光度 = 461 は日局規

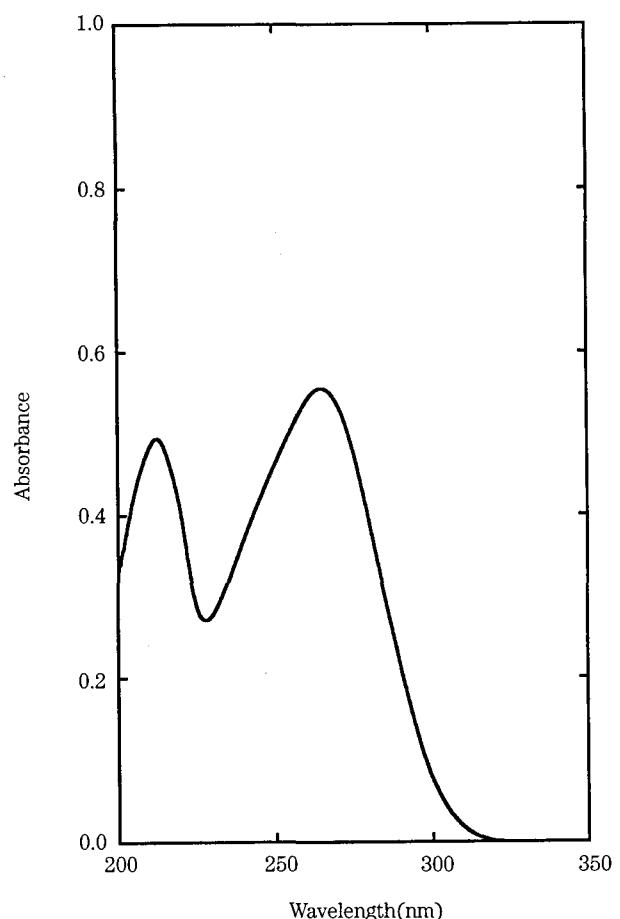


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Ergocalciferol Reference Standard

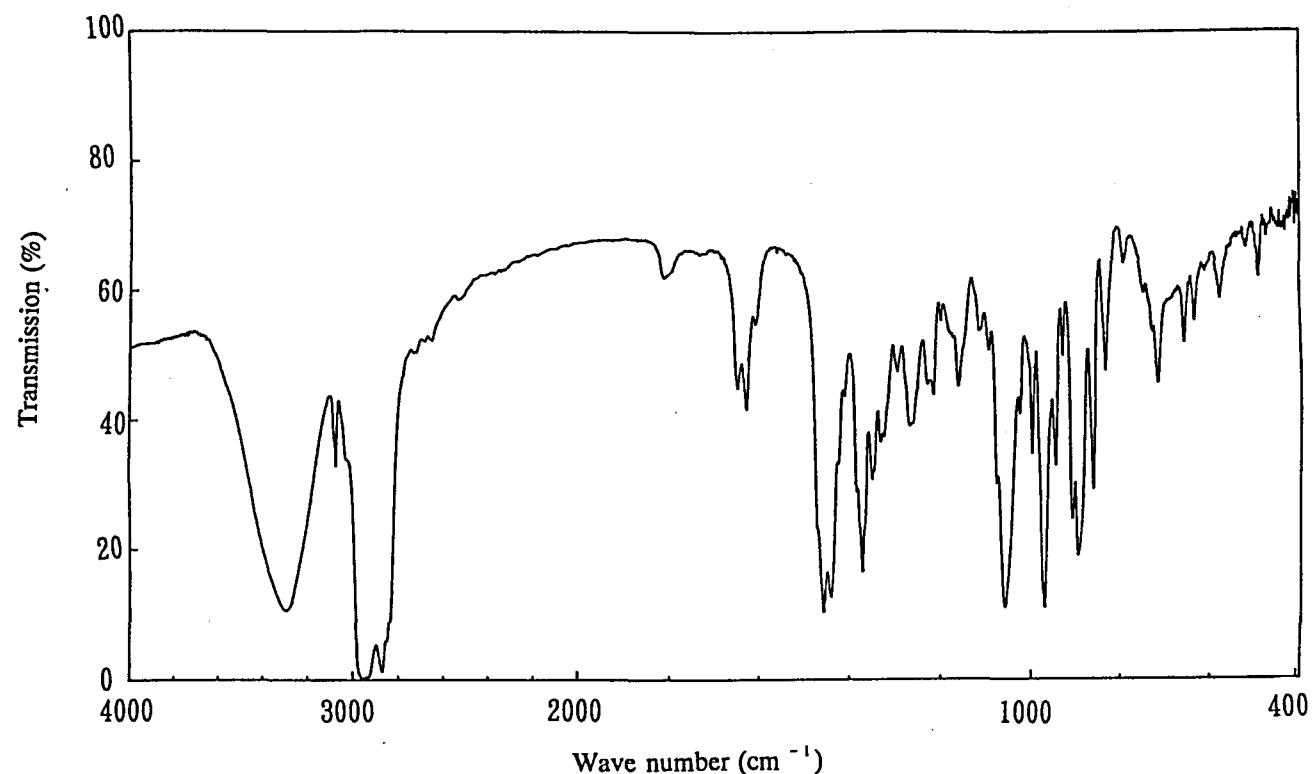


Fig. 2. Infrared absorption spectrum of the raw material for Ergocalciferol Reference Standard

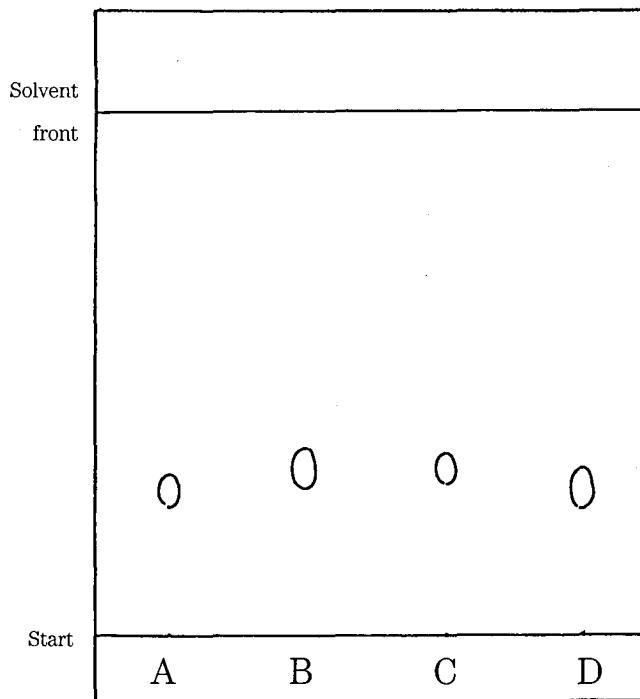


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of the raw material for Ergocalciferol Reference Standard

Solvent: cyclohexane/diethylether (1:1)

Spot: A and B are 50 μg and 100 μg of the raw material, respectively.

C and D are 50 μg and 100 μg of the Ergocalciferol Reference Standard, respectively.

格に適合した。

(4) 赤外吸収スペクトル：標準品原料及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)。

(5) 旋光度： $[\alpha]_D^{20} = +102.5^\circ$ (0.05 g, エタノール, 1,000 mL)。日局「エルゴカルシフェロール」の旋光度規格は、同一条件下で $+102 \sim +107^\circ$ であり、標準品原料の旋光度は日局規格に適合した。

(6) 純度試験

(a) TLC 法：標準品原料と日局標準品について得られた薄層クロマトグラムを Fig. 3 に示す。標準品原料及び日局標準品ともスポット量100 μg まで不純物スポットは観察されなかった。なお、本法によるエルゴカルシフェロールの検出限界は0.08 μg であった。

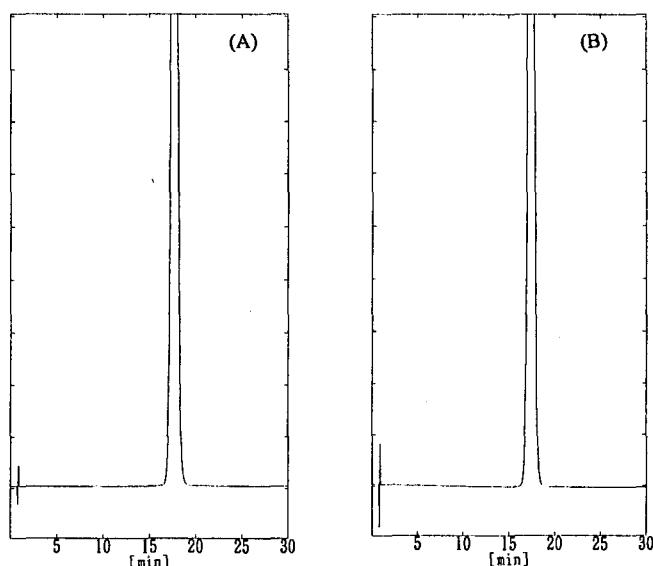


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms of the raw material for Ergocalciferol Reference Standard

(A) : Raw material

(B) : Ergocalciferol Reference Standard (Control 943)

(b) HPLC 法：標準品原料と日局標準品の液体クロマトグラムの一例を Fig. 4 に示す。標準品原料及び日局標準品とも面積百分率法で0.05%を越える不純物は検出されず、本標準品原料は極めて高純度なものであることが確認された。

(7) 定量：日局「エルゴカルシフェロール」の定量法を準用し、日局標準品を対照に HPLC 法により試験を行った結果、 $102.4 \pm 0.56\%$ ($n=3$) の値が得られた。

結論

標準品原料として入手したエルゴカルシフェロールを日局標準品を対照に比較検討した結果、本標準品原料は、液体クロマトグラフ法による定量法及び赤外吸収スペクトル測定法による確認試験のための標準品として十分な品質を有することが明らかとなったので、国立医薬品食品衛生研究所エルゴカルシフェロール標準品 (Control 971) (日本薬局方標準品) として製造・配布することとした。

文献

- 1) 北島 文、前川京子、吉井公彦、小松裕明、谷本 剛、岡田敏史：衛生試報, 113, 101 (1995)

国立医薬品食品衛生研究所塩酸チアミン液標準品 (Control 971)

北島 文・岩田美保・前川京子・斎藤博幸
谷本 剛・岡田敏史[#]

Thiamine Hydrochloride Solution Reference Standard (Control 971)
of National Institute of Health Sciences

Aya Kitajima, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito,
Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada[#]

The raw material of thiamine hydrochloride solution was examined for the preparation of the "Thiamine Hydrochloride Solution Reference Standard (Control 971)". Analytical data obtained were as follows: assay by HPLC, 100.8%; spectrophotometric assay, 99.8%.

Based on the above results, the raw material was authorized to be the Thiamine Hydrochloride Solution Reference Standard of the National Institute of Health Sciences.

Keywords: thiamine hydrochloride solution, quality evaluation, authorization, NIHS Reference Standard

チアミン及びその製剤の定量法に用いられる国立医薬品食品衛生研究所“塩酸チアミン液標準品 (Control 971)”を製造したので報告する。

1. 標準品原料

武田薬品工業株式会社より入手した。同社において、白色アンプルに 2 ml (500 μg/ml) ずつ小分け充填し、密封されたものである。

2. 参照物質及び試薬

参照物質には日本薬局方塩酸チアミン標準品 (Control 932; 日局標準品と略称)¹⁾を用いた。試薬及び溶媒は特級品又は特級相当品を用いた。

3. 装 置

本標準品原料の品質評価試験にあたり、下記の測定装置を用いた。

自記分光光度計：日本分光、U-best 50.

液体クロマトグラフ装置：島津製作所製 LC-6A 型ポンプ、SPD-10A 型検出器、CTO-6A 型カラムオーブン、東ソー製 AS-950-10 型オートサンプラー及び資生堂製データ処理装置 S-mc.

4. 試 験 方 法

1) 液体クロマトグラフ法による定量試験

標準品原料を試料原液とする。別に日局標準品 (別途水

分を測定しておく) 約 0.1 g を精密に量り、0.001 N 塩酸試液に溶かし、正確に 200 ml とし、標準原液とする。試料原液及び標準原液 5 ml ずつを正確に量り、それぞれに内標準溶液 5 ml を正確に加え、試料溶液及び標準溶液とする。この液 10 μl につき、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行い、内標準物質のピーク面積に対するチアミンのピーク面積の比 Q_T 及び Q_S を求める。

内標準溶液：安息香酸メチルのメタノール溶液 (3→10000)

操作条件

検出器：紫外吸光度計 (測定波長：254 nm)

カラム：TSK-GEL ODS-80TS (5 μm, 4.6×150 mm)

移動相：1-オクタンスルホン酸ナトリウム 1.1 g を薄めた冰酢酸 (1→100) 1,000 ml に溶かす。この液 600 ml にメタノール/アセトニトリル混液 (3:2) 400 ml を加える。

流量：0.7 ml/min

カラム温度：30°C

カラムの選定：標準溶液 10 μl につき、上記の条件で操作するとき、チアミン、安息香酸メチルの順序に溶出し、その分離度が 6 以上のものを用いる。

2) 吸光度測定法による定量試験：

標準品原料 2 ml を正確に量り、0.001 N 塩酸試液を加えて正確に 100 ml とし、試料溶液とする。また 4. 1) の標準原液 2 ml を正確に量り、0.001 N 塩酸試液を加えて正

[#] To whom correspondence should be addressed: Satoshi Okada; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-941-1533; Fax: 06-942-0716; E-mail: okada@nihs.go.jp

確に100mℓとし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液につき、0.001N 塩酸試液を対照として吸光度測定法により試験を行い、波長246nmにおける吸光度 A_T 及び A_S を測定する。

5. 試験成績

液体クロマトグラフ法での定量値は、 $100.8 \pm 0.32\%$ (n=3)、吸光度測定法での定量値は $99.8 \pm 0.27\%$ (n=4)であった。

結論

塩酸チアミン液標準品原料につき、日局標準品を対照に比較検討した結果、国立医薬品食品衛生研究所標準品として十分な品質を有することを認め、Control 971として製造・配布を開始した。

文獻

- 1) 北島 文・吉井公彦・小松裕明・石光 進・岡田敏史
:衛生試報, 112, 192 (1992)

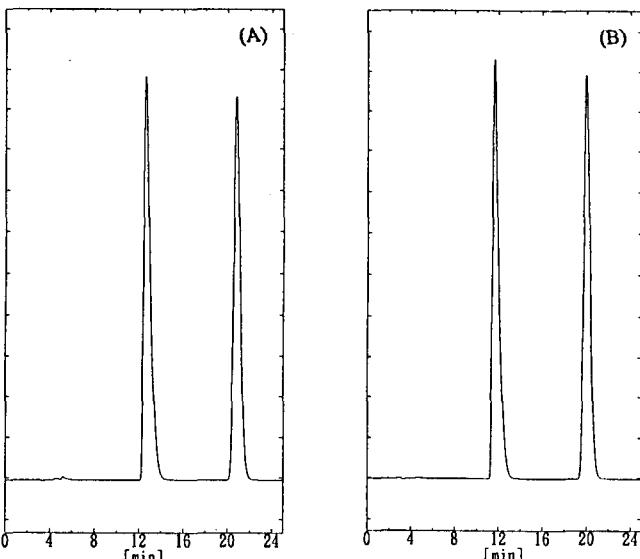


Fig. 1 High-performance liquid chromatograms of the raw material for Thiamine Hydrochloride Reference Standard

(A): Raw material

(B): Thiamine Hydrochloride Reference Standard (Control 932)

国立医薬品食品衛生研究所プレドニゾロン標準品 (Control 971)

北島 文・岩田美保・前川京子・斎藤博幸

谷本 剛・岡田敏史[#]

Prednisolone Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences

Aya Kitajima, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito,
Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada[#]

The raw material of prednisolone was examined for the preparation of the "Prednisolone Reference Standard (Control 971)". Analytical data obtained were as follows: melting point, 238.4 °C (decomposition); infrared spectrum, the same as that of the Prednisolone Reference Standard (Control 911); UV spectrum, $\lambda_{\text{max}} = 243 \text{ nm}$; specific absorbance, $E_{\text{cm}}^{1\%} (243 \text{ nm}) = 414.8$; loss on drying, 0.06 %; thin-layer chromatography, one impurity was detected; high-performance liquid chromatography (HPLC), 4 to 5 impurities were detected and the total amount was estimated to be about 0.51 %; assay by HPLC, 100.6 %.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Prednisolone Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences.

Keywords: prednisolone, quality evaluation, authorization, NIHS Reference Standard

第十三改正日本薬局方「プレドニゾロン」の確認試験及び定量法、「プレドニゾロン錠」の確認試験、溶出試験、含量均一性試験及び定量法に用いられる国立医薬品食品衛生研究所「プレドニゾロン標準品 (Control 971)」(日本薬局方標準品)を製造したので報告する。

1. 標準品原料

標準品原料は三共株式会社より入手した。同社による試験成績は次のとおりである。

赤外吸収スペクトル：日局標準品と一致。

融点：236.3°C。

旋光度： $+97.4^\circ$ 。

薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験：日局標準品と一致。

液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験：不純物量 0.02%。

比吸光度 $E_{\text{cm}}^{1\%} (243 \text{ nm})$: 415.9.

定量 (HPLC 法) : 100.3%.

2. 参照物質及び試薬

第十三改正日本薬局方プレドニゾロン標準品 (Control 911；日局標準品と略称)¹⁾を対照物質とした。TLC による純度試験には国立医薬品食品衛生研究所ヒドロコルチゾ

ン標準品及び酢酸プレドニゾロン標準品を用いた。試薬及び溶媒は特級品又は特級相当品を用いた。

3. 装 置

本標準品原料の品質評価試験にあたり、下記の測定装置を用いた。

自記分光光度計：島津製作所、UV2500PC.

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.

液体クロマトグラフ装置：島津製作所製の LC-6A 型ポンプ、SPD-6A 型検出器、CTO-6A 型カラムオーブン及び資生堂製データ処理装置 S-mc.

4. 試 験 方 法

特に記すもののほかは、日局一般試験法及び「プレドニゾロン」の試験法を準用した。

4. 1. 薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験

薄層板：メルク社製プレコーテッド薄層板シリカゲル 60F₂₅₄ (厚さ, 0.25 mm).

展開溶媒：ジオキサン/シクロヘキサン混液 (4:3).

試料溶液及び標準溶液の調製：標準品原料0.020 g をとり、メタノール/クロロホルム混液 (1:1) 2.0 mL を加えて溶かし、試料溶液とする。別にヒドロコルチゾン標準品 0.020 g 及び酢酸プレドニゾロン標準品 0.010 g をとり、それぞれをメタノール/クロロホルム混液 (1:1) に溶かし、

[#] To whom correspondence should be addressed: Satoshi Okada; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-941-1533; Fax: 06-942-0716; E-mail: okada@nihs.go.jp

正確に100 mlとし、標準溶液(1)及び標準溶液(2)とする。

操作法及び検出法：試料溶液及び標準溶液(1)及び(2)のそれぞれ5 μl を薄層板にスポットし、約15 cm 展開した後、風乾する。これに紫外線(254 nm)を照射し、不純物スポットの有無を確認する。また、アルカリ性ブルーテトラゾリウム試液を噴霧し、不純物スポットの有無を確認する。

4. 2. 液体クロマトグラフ(HPLC)法による純度試験

標準品原料及び日局標準品0.01 gずつを正確に量り、それをクロロホルム/メタノール混液(4:1)10 mlに溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。これらの液5 μl につき、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。

操作条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：254 nm）

カラム：NUCLEOSIL 7-OH(4.6 mm ϕ × 250 mm)

移動相：クロロホルム/メタノール混液(49:1)

流 量：0.9 ml/min

カラム温度：30°C

検出感度：標準溶液1 mlを正確に量り、クロロホルム/メタノール混液(4:1)を加えて正確に100 mlとした液5 μl から得たプレドニゾロン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、標準溶液1 mlを正確に量り、クロロホルム/メタノール混液(4:1)を加えて正確に2,000 mlとした液5 μl から得たプレドニゾロンのピーク面積が自動積分法で測定されるように装置の分析パラメーターを設定する。

面積測定範囲：溶媒ピークの後、プレドニゾロンの保持時間の3倍の範囲。

5. 試験結果

1) 性状

白色の結晶性粉末で、においはない。

2) 紫外吸収スペクトル及び比吸光度

標準品原料のメタノール溶液の紫外吸収スペクトルを測定するとき、波長243 nm付近に吸収の極大が観察され(Fig. 1)，極大吸収波長における比吸光度 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (243 nm)は414.80であった。

3) 赤外吸収スペクトル

標準品原料及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

日局「プレドニゾロン」の旋光度の項の測定条件を準用して試験したとき、その比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$ は+98.4°であった。

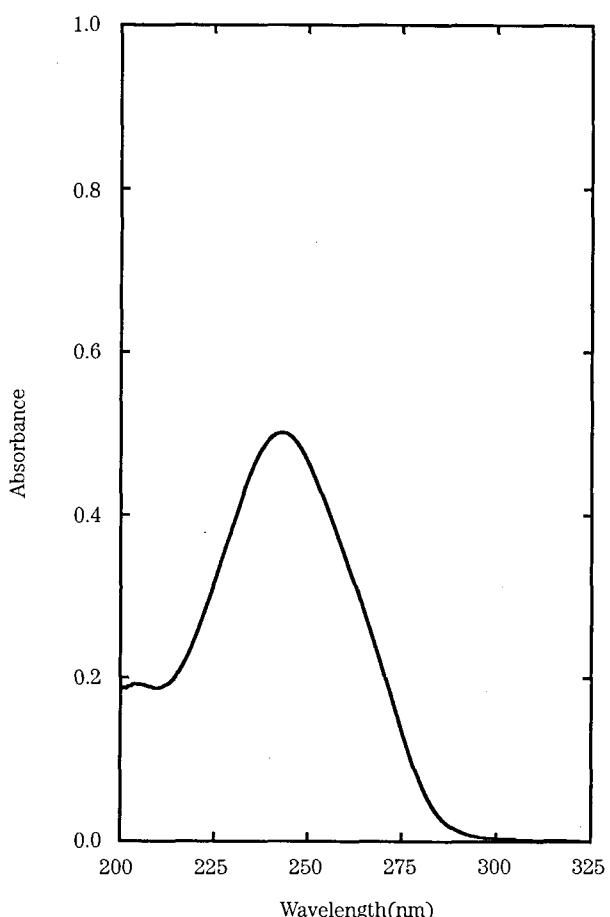


Fig. 1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Prednisolone Reference Standard

5) 融点

標準品原料の融点は238.4°C(分解)であった。

6) 純度試験

(a) TLC法：標準品原料及び日局標準品の薄層クロマトグラムをFig. 3に示した。試料溶液及び標準溶液とも、UV照射で1個の不純スポットが検出されたが、このスポットはRf値より、ヒドロコルチゾンと推定された。しかし、その量は標準溶液(1)のスポットより濃くなかった。

(b) HPLC法：標準品原料及び日局標準品の液体クロマトグラムをFig. 4に示した。標準品原料及び日局標準品とも、微量の不純物ピークが観察された。面積百分率で0.05%以上の不純物ピークの総量は、標準品原料で0.51 ± 0.38%(n=4)、日局標準品で0.34 ± 0.13%(n=4)と推定された。また、その不純物中のヒドロコルチゾン量は、標準品原料で0.03%、日局標準品で0.05%であった。

7) 定量

標準品原料の液体クロマトグラフ法による定量試験を日局標準品を対照にして行った結果、100.6 ± 1.12%(n=9)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、日局「プレドニゾロン」の定量法を準用した。

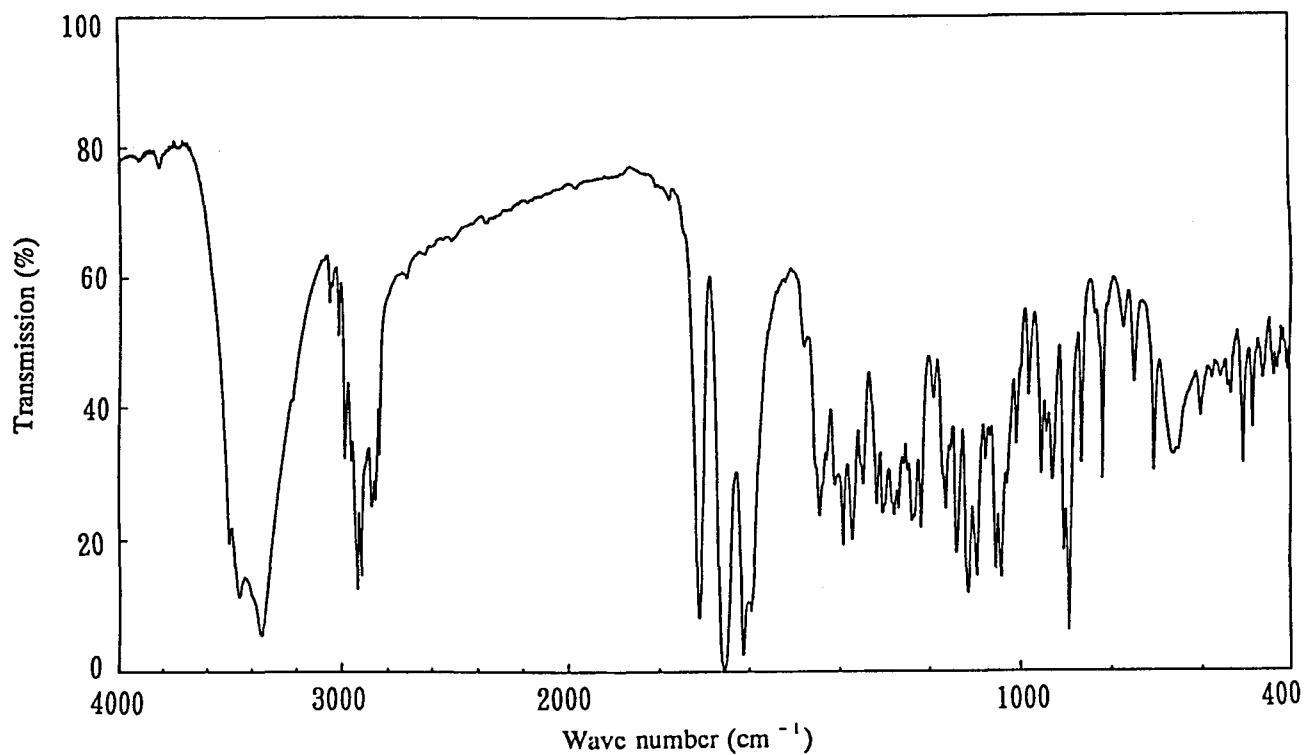


Fig. 2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Prednisolone Reference Standard

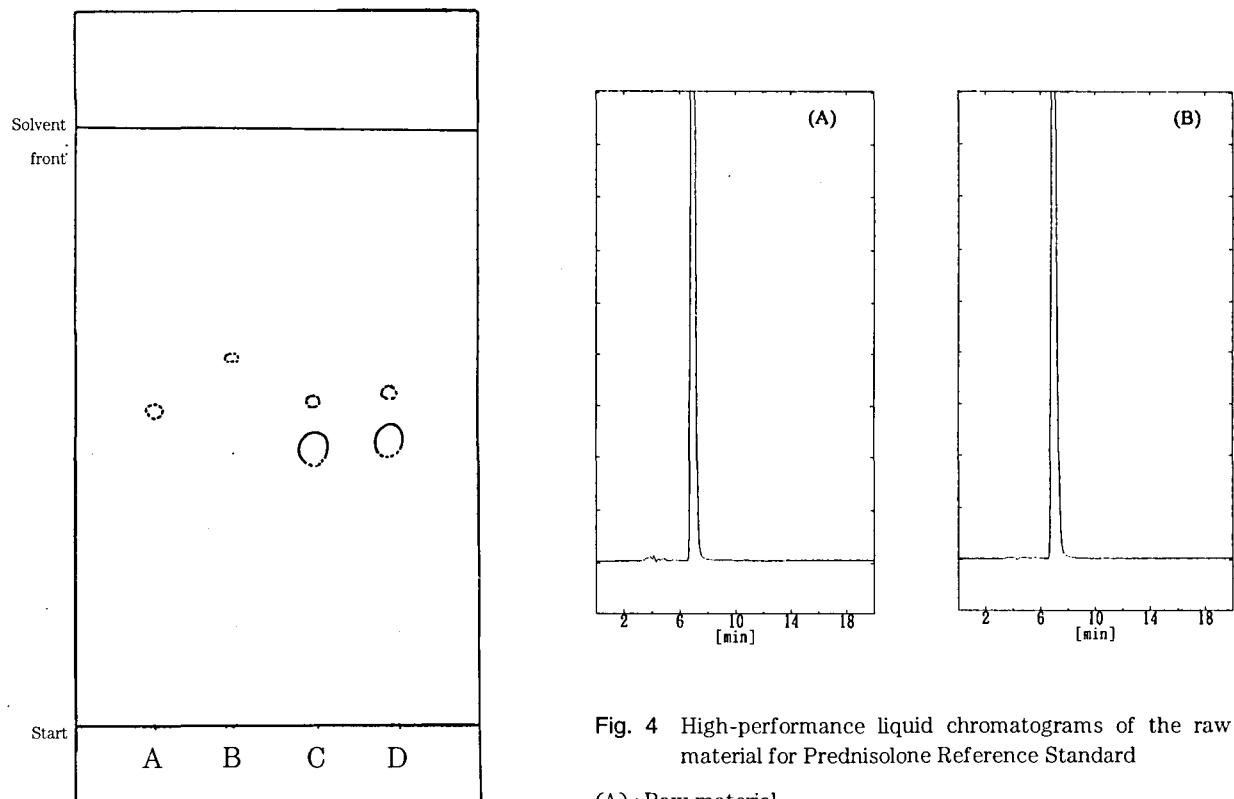


Fig. 3 Thin-layer chromatogram of the raw material for Prednisolone Reference Standard
Solvent:dioxane/cyclohexane(4:3)
Spot: A is 1 μ g of hydrocortisone
B is 0.5 μ g of predonizolone acetate
C is 50 μ g of the raw material
D is 50 μ g of Prednisolone Reference Standard

Fig. 4 High-performance liquid chromatograms of the raw material for Prednisolone Reference Standard
(A) : Raw material
(B) : Prednisolone Reference Standard (Control 911)

結論

文献

プレドニゾロ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、国立医薬品食品衛生研究所（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 971 として製造・配布を開始した。

- 1) 泉 若江・村井真美・小松裕明・石光 進・岡田敏史
:衛生試報, 110, 113 (1992)

溶出試験法のバリデーション：装置の振動レベルの評価

鹿庭なほ子[#], 香取典子, 青柳伸男, 小嶋茂雄, 石亀則子^{*1}, 濑田康生^{*1},
榛葉 徹^{*1}, 藤原和文^{*2}, 中井 亨^{*2}, 小田容三^{*2}

Validation of Dissolution Testing: Evaluation of Vibration Levels of Dissolution Apparatuses

Nahoko Kaniwa[#], Noriko Katori, Nobuo Aoyagi, Shigeo Kojima, Noriko Ishigame^{*1}, Yasuo Seta^{*1},
Tohru Shinba^{*1}, Kazufumi Fujiwara^{*2}, Tohru Nakai^{*2} and Yozo Oda^{*2}

The collaborative study participated by seven laboratories was carried out to develop a dissolution standard for evaluating vibration levels of dissolution apparatuses using enteric-coated granules of cefalexin (EG). Dissolution apparatuses could be divided into two groups according to their vibration levels and the dissolution test results of EG by the rotating basket method at 50 rpm. The critical value of acceleration was about 0.05 m/s^2 . The upper limit of normal dissolution rates of EG was calculated from the results of the rotating basket method at 50 rpm obtained from low vibration apparatuses. All high vibration apparatuses used in this study were distinguished by the limit from low vibration apparatuses, although most of them were not distinguished by current USP calibrators. These results suggest that EG would be useful as a calibrator for detection of apparatuses on high vibration levels.

Keywords: Dissolution Apparatus, Vibration Level, Enteric-coated Granules of Cefalexin, Calibrator, Validation

溶出試験器の振動は医薬品の溶出速度に影響を与えることが知られており、溶出試験を実施するにあたっては振動レベルの低い装置を用いる必要がある。しかし、振動を測定するメカニズムは多様であり、測定メカニズムや振動計が異なると振動の測定結果が異なるために、振動計を用いて溶出試験器の振動レベルの絶対的な評価を行うことができない。このような場合には、検出感度や精度が劣っても、カリブレータを用いて変動要因のレベルを絶対的に評価するのが適切と考えられる。米国薬局方(USP)は、溶出試験器の振動をはじめとする溶出試験における変動要因を評価することを目的として、カリブレータを導入した。¹⁾しかし、最近、抗生物質のセファレキシンを含む腸溶性顆粒(EG)がUSPのカリブレータよりも溶出試験器の振動の変動に対する感受性が高いことが見いだされた。²⁾ EGを溶出試験器の振動レベルを評価するカリブレータとして利用することを目指して、7つの試験室による共同実験に

よりその有用性を検討した。また、溶出試験のカリブレータに対する考察を行った。

方 法

EGの溶出試験は、第13改正日本薬局方溶出試験第1法(回転バスケット法)及び第2法(パドル法)を用いて、毎分50回転で行った。1台の溶出試験器は6個の容器を有するが、EGは1容器につき700 mgを用いた。pH 6.5のクエン酸緩衝液を溶出試験液とし、45 °Cで2時間脱気を行った後に使用した。溶出したセファレキシンを2波長吸光度法で定量した。USPのカリブレータ(サリチル酸錠及びプレドニゾン錠)の溶出試験はUSPに従った。溶出試験器の振動は、Piezo型加速度抵抗式ピックアップを有する振動計、VM-7000(IMV社製)を用いて測定した。

結果及び考察

1. EGの溶出率と溶出試験器の振動レベル

毎分50回転の回転バスケット法による30分間のEGの溶出率は、溶出試験器の振動レベルが高くなると増加した。この結果を基に、振動レベルが 0.05 m/s^2 を境界として、溶出試験器を低振動レベル8台及び高振動レベル5台に分類することにした。高振動レベルのEGの平均溶出率は、低振動レベルのEGの平均溶出率よりも約7.4%高く、

*¹ 東京医薬品工業協会, *² 大阪医薬品協会

To whom correspondence should be addressed: Nahoko Kaniwa; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-8486; Fax: 03-3707-6950; E-mail: nkaniwa@nihs.go.jp

本ステートメントは、日本薬学会第118年会レギュラトリーサイエンス討論会(1998.4)にて発表したものまとめたものである。

この差は Welch の検定により危険率 5 %で有意であった。一方、パドル法では、EG の溶出率の試験室間変動が大きく、EG の溶出率へ及ぼす溶出試験器の振動レベルの影響を明確に観察することはできなかった。

2. 回転バスケット法における EG の溶出率の正常範囲

溶出試験器の振動レベルは、回転バスケット法又はパドル法のいずれを用いても、変わらなかった。このことから、EG を用いて溶出試験器の振動レベルを評価するときには、溶出率が振動の影響を受けやすい回転バスケット法で溶出試験器の振動レベルを評価しておけば、パドル法においてはその評価は必要であると考えてよい。

溶出試験用カリブレータには、その溶出率の正常範囲に関する規格値の設定が必要とされる。USP のカリブレータは、溶出試験器の振動レベルばかりではなく、回転シャフトの垂直性や容器の水平性をも評価することを目的としているために、規格値が個々の容器の溶出率に対して設定されている。しかし、EG は、溶出試験器の振動を評価することを目的にしているので、個々の容器の溶出率に対して規格値を設定する必要はなく、試験器の平均溶出率に対して規格値を設定するので十分と考えられた。

振動は溶出試験器にエネルギーを供給するので、高振動レベルの溶出試験器では溶出率は常に増加する。このことから、EG の溶出率の規格値の設定に当たっては、第 I 種の過誤の上側の危険率のみを考慮すればよい。低振動レベルの溶出試験器を用いた実験によって推定された試験器間再現精度 (inter-apparatuses precision) 及び総平均を用いて、溶出試験器の平均 EG 溶出率の 90 %, 95 % 及び 99 % 信頼上限を計算したところ、それらはそれぞれ、33.8, 34.3 及び 35.2 % であった。

3. EG の溶出試験器の振動レベルの評価能力

本研究では、高振動レベルの溶出試験器 5 台を用いて、1 台を除いては 2 回の EG による溶出試験を行った。これらの試験結果を、前述の低振動レベルの溶出試験器における EG の平均溶出率の正常範囲と比較した。高振動レベル溶出試験器による全ての溶出試験結果は、90 % 信頼上限よりも高かった。一方、95 % 及び 99 % の上限の値と比較した場合には、1 台の溶出試験器の 2 回目の試験の結果を除いては、全て EG によって振動レベルが高いことが検出された。この成績は、EG が溶出試験器振動レベルの高い評価能力を有していることを示している。

4. USP カリブレータの溶出試験器振動レベルの評価能力

USP カリブレータであるプレドニゾン錠及びサリチル酸錠の溶出速度は、パドル法においては、試験器の振動レベルの大きさの影響を全く受けなかった。回転バスケット法では、高振動レベルの試験器においてプレドニゾン錠の溶出速度は少し増加していたが、この差は統計的には有意

ではなかった。また、サリチル酸の回転バスケット法による試験では、多くの試験室で、非崩壊型のサリチル酸錠の上面に大きな気泡が発生したために、結果を正しく評価できなかった。以上から、USP のカリブレータは溶出試験器の振動レベルの変動にはあまり、敏感ではないか、カリブレータとして不適切ということが分かった。また、規格値が設定されていたプレドニゾンの 50 回転のパドル法の結果を用いると、5 台の中では比較的振動レベルの低かった 1 台の溶出試験器のみが異常と検出されたが、これは、振動を検知したと言うより、シャフト据え付けの異常などを検知したと考えられた。また、サリチル酸の 50 回転による回転バスケット法では、気泡発生の事故が多発してもかかわらず、最も振動レベルの高かった溶出試験器が異常と検出された。このことから、回転バスケット法で測定したサリチル酸の溶出率は振動レベルに対して反応するが、その検出限界は EG ほど低くないと言える。

5. 試験液調製の再現精度

EG に関する以上の結果は、同一と見なされる溶出試験液を用いて行われ、各試験間で試験液の pH は同じと見なすことができる。しかし、EG をカリブレータとして用いる場合には、試験液は試験の都度調製される。EG は腸溶性顆粒であることから、その溶出率が試験液の pH に影響されることが懸念されたので、各試験室の 2 人の試験者が独立して試験液を調製し、試験液調製の再現性を確認した。試験液調製の再現性は非常に高いことが確認された。試験液 pH の 99 % 信頼限界は、pH 6.47 と 6.51 であった。この両端の pH で EG の溶出試験を行ったところ、EG の溶出率の範囲は 31.6 ~ 36.0 % であった。また、pH の 95 % 信頼限界での EG の溶出率を内挿法で求めると、33.4 ~ 34.7 % であった。高振動レベルの溶出試験器では EG の溶出率が平均 7.4 % 程増加していたので、仮に試験液の pH が低くめに調製されても、EG の溶出率が正常範囲に含まれることによって、高振動レベルの溶出試験器が正常と見なされる確率はそれほど高くないと考えられたが、溶出の試験液の pH 依存性は、EG の欠点と言える。

6. 溶出試験器のカリブレータに対する考え方

今回の共同実験により、EG は溶出試験器の振動レベルを評価する能力が非常に高く、カリブレータとして有用であることが証明された。しかし、腸溶性製剤で試験液の pH の影響を受けやすいこと、主成分が抗生物質であり、一般的の使用には向きであることから、EG の顆粒の大きさ、比重、膜の疎水性や親水性などの特性を参考にして、新たに EG タイプのカリブレータを開発することが望ましい。

USP は、現行のプレドニゾンの製剤を新しいタイプのものに変更する予定である。新しいタイプのものは、従来 FDA でカリブレータとして用いられていたが、現行のも

のと同様、振動に対しては鈍感であり、一方、脱気、容器や回転軸の垂直性、容器の形状の異常性には非常に敏感であるという。³⁾

溶出試験器のバリデーションにおいては、EG タイプ及び USP プレドニゾン錠タイプの 2 つのカリブレータを用いることにより、振動及び他の変動要因の評価を適切に行なうことができると考えられる。

文 献

- 1) Grady, L. T.: "Biointernational 2" , ed. by Blume, H. H. and Midha, K. K., Medpharm, Stuttgartpp 257 (1995)
- 2) Fujiwara, K., Murashima, K., Iwamoto, K., Nishino, T., Koga, K., Kawatake, S. and Okuda, H.: Influence of equipment vibration on dissolution rates, *Japanese Pharmacopoeial Forum*, **6**, 46-48 (1997)
- 3) Moore, T. W. and Cox, D. C.: Dissolution calibrator tablets: A scaled-up lot of a new calibrator tablet recommended to replace both current USP calibrator tablets, *Pharmacopeial Forum*, **23**, 5352-5359 (1997)

医薬品のロット間、包装間、処方間における安定性の差の評価 —マトリキシングおよびブレーケティング適用の指針—

吉岡澄江[#]、阿曾幸男、小嶋茂雄

Assessment of Stability Variation among Batches, Packaging, and Formulations - Application of Matrixing and Bracketing -

Sumie Yoshioka[#], Yukio Aso and Sigeo Kojima

Assessment of shelf-life equivalence among batches, packaging or formulations of pharmaceutical products, which was based on the range of shelf-life estimates, was proposed as an alternative method to an analysis of variance (ANOVA). The power of this analysis was not significantly affected by assay error, whereas that of ANOVA decreased markedly as assay error increased. Thus, ANOVA exhibits a tendency to overlook the stability variation from stability data of a larger assay error, but this is not the case for the proposed method.

Keywords: stability variation, shelf-life, range, stability equivalence

ICHによる安定性試験ガイドラインにおいては、ロット、包装、あるいは些少な処方が異なる製剤の組み合わせがある場合に、それについて得られた安定性試験データをまとめて一つの有効期間を推定し、その有効期間を組み合せたすべての製剤に適用できることになっている。勿論ここで、ロット間、包装間あるいは処方間で安定性に有意な差がないことが前提になる。ロット間、包装間あるいは処方間での安定性の変動を評価する方法の一つに分散分析(ANOVA)があるが、ANOVAの検出力は定量誤差が大きくなるにしたがって減少するため、誤差の大きい定量法を用いるほど、安定性の変動を検出しにくくなるという欠点がある。そこでANOVAよりも定量誤差による影響を受けずにロット間、包装間あるいは処方間の安定性の変動を評価できる方法として、有効期間の推定値の範囲(レンジ)に基いて安定性の同等性を評価する方法を提案した。この同等性評価法の検出力と定量誤差の関係をANOVAと比較検討し、同等性を判断するためのレンジの基準値の考察を行った。

手 法

有効成分が0.2%/month および0.7%/month のゼロ次

* To whom correspondence should be addressed: Sumie Yoshioka; NIHS, 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel:03-3700-8547; Fax:03-3707-6950; E-mail: yoshioka@nihs.go.jp

本ステートメントは、日本薬学会第118年会レギュラトリーサイエンス討論会(1998.4京都)にて発表した内容をまとめたものである。

分解を示す製剤(有効期間はそれぞれ約3年および1年に相当)について、3ロット(あるいは3種類の包装、あるいは3種類の処方)の中で1ロットが他のロットより10%～25%速い分解を示すと仮定して500組の実験データをモンテカルロ法によって得た(定量誤差は0.5%～2.0%を仮定)。各データからWoolfe式にしたがって推定した有効期間の値を用いて、ANOVAによる方法および同等性評価による方法(推定値の範囲に基いて同等性を評価する方法)のそれについて、安定性の差の検出力を計算した。

結果及び考察

3ロット(あるいは3種類の包装、あるいは3種類の処方)のそれぞれのロットのデータから得られた有効期間の推定値のレンジは、Fig. 1 および Fig. 2 に示すような分布を示した。0.2%/month のゼロ次分解を示す製剤では、ロット間に25%の安定性の差がある場合の分布の20%ポイントは約7ヵ月となり、同等性判定の限界点が最大推定値の約15%であった。すなわち、同等性判定の限界点を最大推定値の約15%にすることによって、25%のロット間の安定性の差を見逃す確率(β 誤差)を20%以下に抑えられることが分かった。0.7%/month の速い分解を示す製剤においても、同等性判定の限界点が最大推定値の15%であれば、 β 誤差は20%以下になることが分かった。

Fig. 3 に示すように、ロット間に安定性の差がない場合に安定性が同等でないと判断してしまう確率(α エラー)は定量誤差が大きくなるに従って高くなるが、 β エラーは定量誤差による影響が小さいことが分かった。

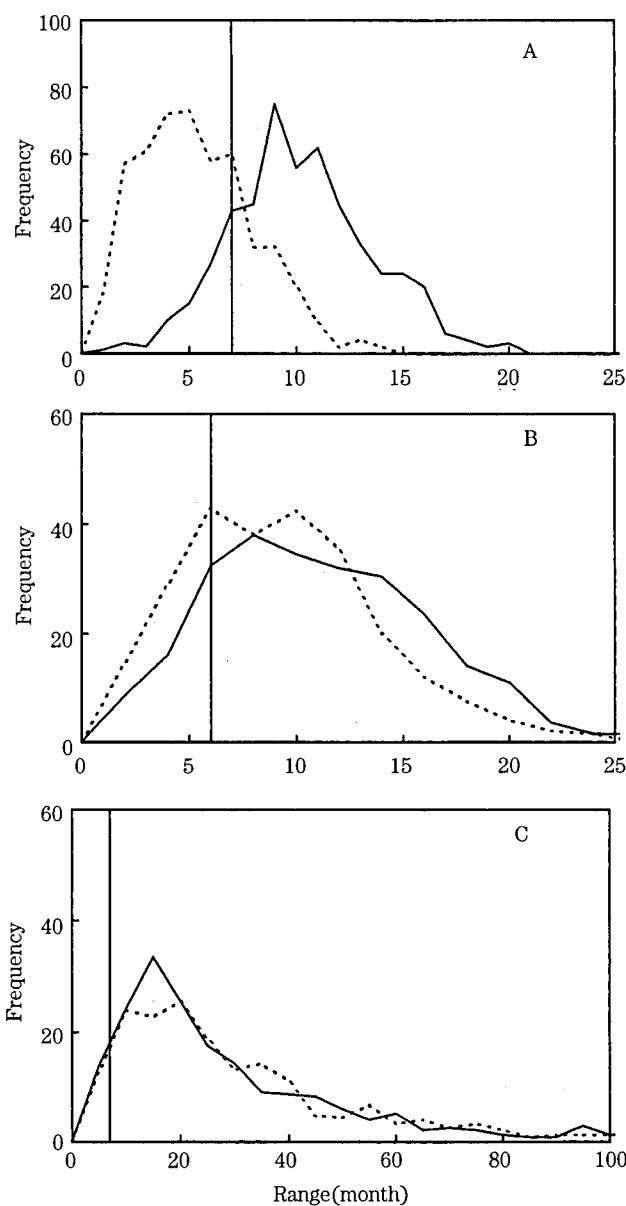


Fig. 1 Distribution of range of t_{90} estimates for 0.2%/month degradation.

Assay error: 0.5 (A), 1.0 (B), and 2.0% (C).

Stability variation: 0% (----) and 25% (—).

Bars represent the 20% point of the distribution for 25% stability variation.

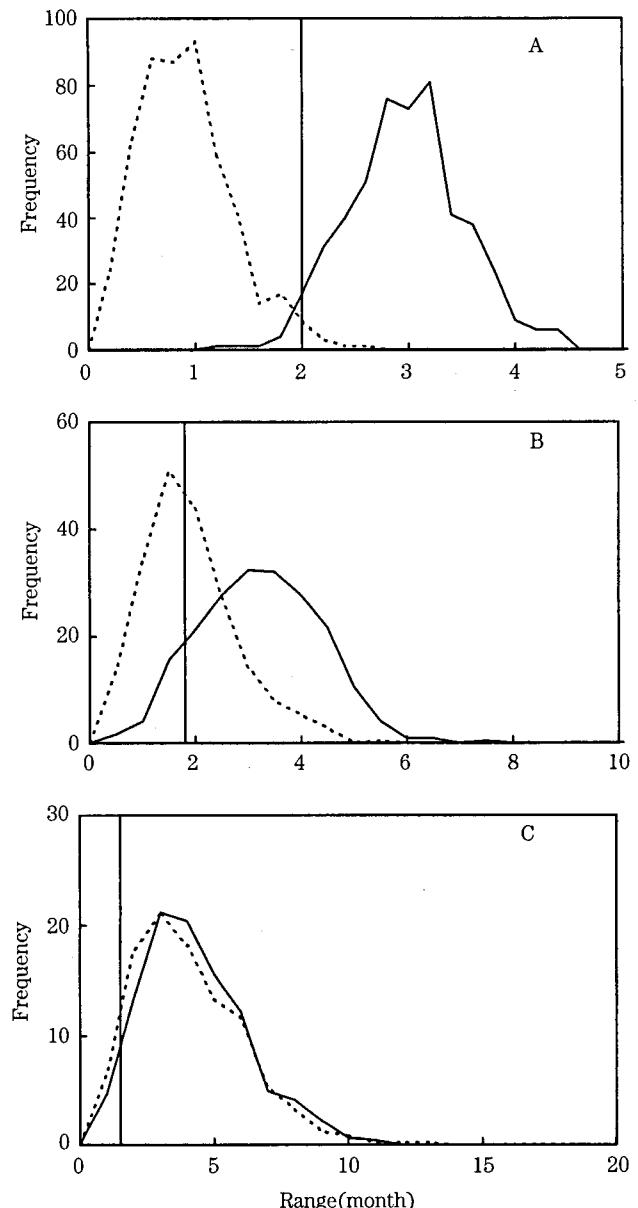


Fig. 2 Distribution of range of t_{90} estimates for 0.7%/month degradation.

Assay error: 0.5 (A), 1.0 (B), and 2.0% (C).

Stability variation: 0% (----) and 25% (—).

Bars represent the 20% point of the distribution for 25% stability variation.

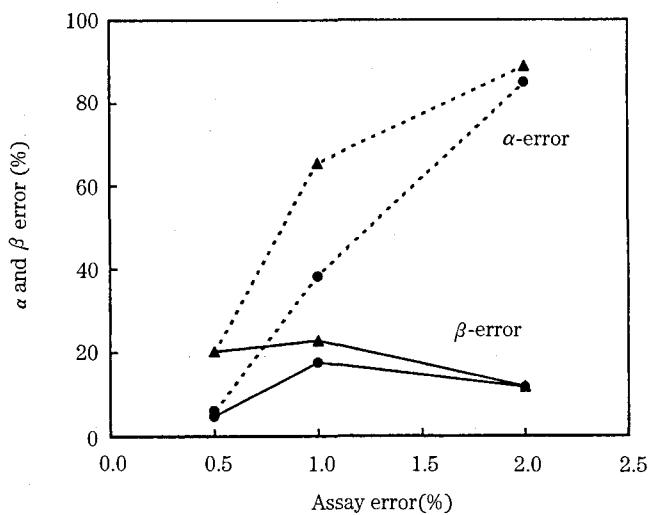


Fig. 3 Effect of assay error on α -(- - -) and β -error (—).
Degradation: 0.2 (▲) and 0.7 (●) %/month.
Stability variation: 25%.
Critical point: 15% of the largest t_{90} estimate.

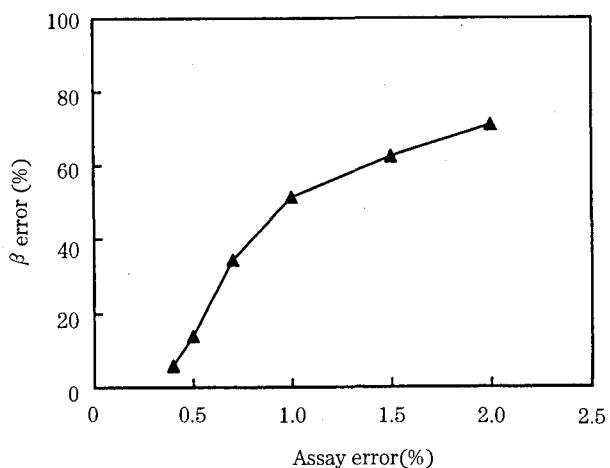


Fig. 4 Effect of assay error on β -error in ANOVA analysis.
Degradation: 0.2 %/month. Stability variation: 25%.
Significance level: 0.25.

一方、25%の安定性の差をANOVAによって評価した場合には、誤差が約0.5%以下の定量法を用いた場合に限って、有意水準が0.25であれば80%以上の確率でその差を検出できる。すなわち β エラーは20%以下にすることができた。しかし、Fig. 4に示すように定量誤差が大きくなるにしたがって β エラーは著しく増大し、検出力が低下することが示された。

以上のように、ANOVAでは誤差の大きい定量法を用いるほど安定性の差を見落とす傾向が大きくなるのに対して、同等性評価による方法では、定量誤差によって大きな影響は受けないことが分かり、ロット間、包装間あるいは処方間の安定性の変動を評価する方法としては、同等性評価による方法がANOVAより有用であると考えられた。さらにその場合に、同等性判断の基準値としては最大推定値の15%が一応の目安として提案できると考えられた。

生薬中の Aristolochic acids について

関田節子[#]・鎌倉浩之・安田一郎*・浜野朋子*・佐竹元吉

Aristolochic acids in Herbal Medicines

Setsuko Sekita[#], Hiroyuki Kamakura, Ichiro Yasuda*, Tomoko Hamano* and Motoyoshi Satake

Aristolochic acids are nitrophenanthrenes with a carboxylic acid function which have been found only among the *Aristolochiaceae*. In 1993, rapidly progressive interstitial renal fibrosis has been reported in women have been on a slimming regimen including Chinese herbal medicines in Belgium. In Japan, at the Kansai district, several cases of Chinese herbs nephropathy have been reported quite recently. In both cases, aristolochic acids was detected in the Chinese herbal medicines taken by the patients. We have *Asiasarum* Root, a species of *Aristolochiaceae*, in Japanese Pharmacopoeia. Therefore, we quantitatively analysed aristolochic acids in these herbal medicines and related plants.

Keywords: Aristolochic Acids, *Asiasarum* Root, *Aristolochiaceae*

1993年にベルギーで痩身療法に用いられた生薬製剤で、配合生薬の取り違いから重篤な腎障害が発生し、誤用された広防己(*Aristolochia fangchi*)の成分 aristolochic acids が原因化合物と推定され chinese herbs nephropathy として注目を浴びた¹⁾。類似した間質性腎炎の報告が1996年～1997年に関西地区で相次ぎ、それらの内の3例は関木通(*Aristolochia manshuriensis*)を配合した中国製生薬製剤に起因するものとみなされ aristolochic acids 15.1 µg/gram powder が検出され²⁾、自主回収された。その後、個人輸入した関木通を配合した健康食品による同様の間質性腎炎が発生し、77 µg/g と高濃度の aristolochic acids が検出されている³⁾。日本薬局方では「ボウイ：防己」の基原植物は *Sinomenium acutum*, 「モクツウ：木通」は *Akebia quinata* 又は *Akebia trifoliata* と規定しており、*Aristolochia* 属の生薬は用いていない。しかし、生薬全体を見直すと、現在、日本薬局方収載品目の中で1種類ではあるが、*Aristolochiaceae*：ウマノスズクサ科に属する生薬として「サイシン：細辛」ウスバサイシン *Asiasarum sieboldii* F. Maekawa 又はケイリンサイシン *Asiasarum heterotropoides* F. Maekawa var. *mandshuricum* F. Maekawa

が存在し、根及び根茎を用いているため、本生薬中の aristolochic acids の定量が必要となった。そこで、aristolochic acids の作用を解説すると共に定量結果を紹介し、今後の局方上の対応について考察する。

aristolochic acids の構造と作用

aristolochic acids は、天然化合物としては珍しくニトロ基を有するフェナンスレンカルボン酸を骨格とする化合物群である。1956年に Pailer らが初めて *A. clematitis* から分離し、3,4-methylenedioxy-8-methoxy-10-nitrophenanthren-1-carboxylic acid と構造決定して以来14種の化合物と、ニトロ基とカルボン酸がラクタムを形成した12種の aristololactams が報告されている。aristolochic という名称は aristos(大変良い)と locheia(分娩)に由来し、古代から同植物が分娩に際して感染による悪露を伴う症例に用いられていたことによる。1961年、Mose が1:100,000の濃度で白血球の活性を高める作用を明らかにし、有効成分として aristolochic acids を同定すると同時に、数グループにより抗腫瘍活性が報告された。これらを根拠として、ドイツでは Madaus 社を先頭に多くのメーカーが製剤化に取り組み、難治性創傷、下腿潰瘍、骨髓炎に有効な治療薬として広く販売した。当初から、高用量での腎毒性⁴⁾と抗受精作用が報告されていたが、20年後に Madaus 社の Mengs により発ガン性が発表され⁵⁾、連邦政府衛生局は禁止措置をとった。同時期に *in vitro*, *in vivo* での変異原性の報告例もある。急性、亜急性試験により、毒性作用（雄ラット : LD₅₀ 203.4 mg/Kg, p.o., 82.5 mg/Kg, i.v., 雌ラット : LD₅₀

* 東京都立衛生研究所

[#]To whom correspondence should be addressed: Setsuko Sekita; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158, Japan; Tel:03-3700-1141 ext.248; Fax:03-3707-6950; E-mail: sekita@nihs.go.jp

本ステートメントは、日本薬学会第118年会レギュラトリーサイエンス討論会（1998. 4. 京都）において発表した内容をまとめたものである。

183.9 mg/kg, p.o., 74.0 mg/kg, i.v., 雄マウス : LD₅₀ 55.9 mg/kg, p.o., 106.1 mg/kg, i.v., 雌マウス : LD₅₀ 38.4 mg/kg, p.o., 70.1 mg/kg, i.v.) の主要な標的器官が腎臓であると認められたことから、より詳細に検討され、10 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg をラットに単回経口投与することにより、10 mg/kg で腎臓の細胞分裂と尿中グルコースの増加が、50 mg/kg で単一の細胞壊死と尿中蛋白の増加が、100 mg/kg で近位尿細管のほぼ完全な壊死が観察されている⁶⁾。

尚、中国では減尿を伴う水腫、湿疹、リューマチ、高血圧、痔痛、湿熱疼痛、口舌疱瘡、鎮咳等に使用している。また、インドでは同属植物の *Aristolochia indica*, *A. bracteolata* を湿疹、駆虫、下剤に用いている。

サイシン及びその関連植物中の aristolochic acids の定量

市販の標品は、aristolochic acid I と aristolochic acid II の混合物(メーカー表示、I : 52%, II : 41%)であるため、今回の定量分析のために新たに *Aristolochia mans-huriensis* から分離精製を行い、それぞれの ¹H-NMR, ¹³C-NMR を測定し構造を確認した。日本漢方生薬製剤協会技術委員会は、単離した化合物を規準とするとの標品は I : 40.0%, II : 46.6% であると実測している。試料は、市場のウスバサイシン(北朝鮮産、産地未詳)、ケイリンサイシン(吉林省産:栽培品)の他に富山県、岐阜県、石川県、長野県の野生のウスバサイシン、北大薬用植物園で栽培したウスバサイシン、名寄薬用植物栽培試験場で栽培したオクエゾサイシン *Asiasarum heterotropoides*、高知県の野生サカワサイシン *Asarum sakuratum*、種子島薬用植物栽培試験場で栽培した台湾由来のウワミカンアオイ *Asarum epigynum*、伊豆薬用植物栽培試験場で栽培したフタバアオイ *Asarum caulescens*、福岡県の野生ウンゼンアオイ、名寄薬用植物栽培試験場で栽培したカナダサイシン *Asarum canadense*、伊豆薬用植物栽培試験場で栽培したランヨウアオイ *Heterotropa blumei*、種子島薬用北物栽培試験場で栽培したクワイバアオイ *Heterotropa kumagaeana* の19試料を用いた。試料は地下部:根と地上部に分け、十分な量のあるものについては地上部をさらに葉柄、葉身、花の各部分に分離しそれぞれについて測定した。

HPLC による定量分析の結果、地下部からは、オクエゾサイシン、ウワミカンアオイの2種類に aristolochic

acid I がそれぞれ 0.010 mg/g, 0.021 mg/g 検出されたのみで、薬用にしているウスバサイシン、ケイリンサイシンからは検出されなかった。これに対して地上部はオクエゾサイシン、葉柄 0.030 mg/g、葉身 0.039 mg/g、ウワミカンアオイ葉柄 0.012 mg/g、葉身 0.400 mg/g のほかに、ウスバサイシン富山県で採取の葉柄 0.032 mg/g、葉身 0.029 mg/g、北大で栽培の葉柄 0.033 mg/g、葉身 0.040 mg/g、花 0.200 mg/g、ケイリンサイシン地上部まとめて 0.023 mg/g、サカワサイシン地上部 0.040 mg/g、ウンゼンアオイ地上部 0.029 mg/g が検出された。同時期に日本漢方生薬製剤協会技術委員会も市場サイシン4検体の分析を行っており、中国産2試料から葉柄 0.032, 0.018 mg/g、葉身 0.039, 0.039 mg/g、花、果実 1.200, 1.180 mg/g、韓国産地上部 0.048 mg/g、北朝鮮産 0.031 mg/g を検出しているが、地下部からはいずれも検出されていない。

一方、関木通は aristolochic acid I 0.410 mg/g, aristolochic acid II 0.100 mg/g、広防已 aristolochic acid I 2.980 mg/g, aristolochic acid II 0.150 mg/g と高い含有量を示している。

サイシンの地下部と葉柄は形態上分け難く、第13改正日本薬局方では純度試験で、「本品は葉及び葉柄などの地上部 10.0% 以上を含まない」と規定している。今後は、形態的な特徴を勘案しながら、規定値を検討することが必要と考えている。

文 献

- 1) Jean-Louis Vanherwegen, Michel Depierreux, Christian Tielemans, Daniel Abramowics, Max Dratwa, Michel Jadoul, Claude Richard, Dominique Vandervelde, Dirk Verbeelen, Renee Vanhaeften-Fastre, Maurice Vanhaeften: *The Lancet*, **341**, 387-391 (1993)
- 2) 田中敬雄、新開五月、糟野健司、前田康司、村田雅弘、瀬田公一、奥田譲治、菅原照、吉田壽幸、西田律夫、桑原隆: 日腎会誌, **39**, 438-440 (1997)
- 3) 田中敬雄、西田律夫、澤井一智、永江徹也、新開五月、石川資章、前田康司、村田雅弘、瀬田公一、奥田譲治、吉田壽幸、菅原照、桑原隆: 日腎会誌, **39**, 794-797 (1997)
- 4) Martincic A. : *Zentralbl Allg Pathol.*, **94**, 402 (1956)
- 5) Mengs U.: *Arch. Toxicol.* **52**, 209-220 (1983)
- 6) U. Mengs and C. D. Stotzem : *Arch. Toxicol.* **67**, 307-311 (1993)

液体クロマトグラフ法における「試験の再現性」について

岩上正蔵*, 山下治夫*, 岡田敏史[#]

On the "System Repeatability" Specified in the Operating Conditions for HPLC Assay in JP Monographs

Shozo Iwagami*, Haruo Yamashita* and Satoshi Okada[#]

The system repeatability tests in the operating conditions for the HPLC assay by absolute calibration method are specified in 9 monographs in JP13 (Part 1). The reasonableness of the specified system repeatability, expressed in relative standard deviation(%), is discussed in consideration with the specified content and also the probability of Type 1 error(α). For simplification, it was assumed that the variance due to the analytical system(σ_s^2) is equal to that due to other error sources(σ_e^2). Based on the above considerations, it was concluded that the present specification of system repeatability(σ_s) in JP monographs is not always reasonable and some of them should be reexamined following to the described considerations in the text.

Keywords: System Repeatability, System Suitability, HPLC Operating Conditions, Japanese Pharmacopoeia

日局医薬品各条の定量法において、液体クロマトグラフ法が適用される品目中、絶対検量線法が用いられる品目について、操作条件中に「試験の再現性」の項が規定されている。これは、試料注入部、送液部、分離部、検出部、データ処理部など、複数のユニットから構成される液体クロマトグラフ装置について、装置の構成部分それぞれについて、その妥当性を検証するのではなく、分析系が全体として正常に稼働しているか日常的に点検する必要があるとの考え方に基づくものであり、USPにおいてはシステム適合性試験 (System Suitability) として、同様な試験が規定されている。

日局においては、従来、「試験の再現性」を規定するにあたって、試料処理を含む全体としての試験精度、製品中の含量の変動及び含量規格などと切り離して、単純にシステムの再現精度を規定してきたきらいがある。日局13で『分析法バリデーション』が参考情報として規定され、今後の日局医薬品各条における規格及び試験法が、これを基準にその妥当性が検証されることになるので、「試験の再現性」についてどう考えるべきか考察を行った。

1. 「試験の再現性」と含量規格

現在、日局第一部には原薬7、製剤2の計9品目の各条医薬品で絶対検量線法による液体クロマトグラフ法が適用されており、その操作条件中に「試験の再現性」が規定されている (Table 1)。Table 1 にみられるように、5回又は6回の繰り返し試験による相対標準偏差は最も厳しいもので0.8%以下 (トコフェロール)、最も緩いもので2.5%以下 (メトトレキサート) と規定されている。このうち、含量規格幅の狭い品目については、規定された相対標準偏差の値が、含量規格幅との関係で統計的に無理があるのではないかと考えられるものもある。

「試験の再現性」で規定される相対標準偏差は、本来、含量の規格幅、製剤含量のバラツキ、生産者危険率（第1種の過誤：分析法のバラツキにより、規格内であるにも拘わらず、規格外と判定されてしまう誤り）をどのように設定するかなどにより決められるべきものと思われる。

以下では、それらの関係について考察した。

2. 試験の再現精度 σ_s の推定

ある試験による分析の確かさを標準偏差 σ_t で表すものとすると、 σ_t は、装置など分析システムに基づくバラツキ σ_s と試料調製法などそれ以外に起因するバラツキ σ_e を用いて、分散の和として表される¹⁾。

$$\sigma_t^2 = \sigma_s^2 + \sigma_e^2 \quad (1)$$

* 大阪府立公衆衛生研究所薬事指導部

[#] To whom correspondence should be addressed: Satoshi Okada; Hoenzaka 1-1-43, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-941-1533; Fax: 06-942-0716; E-mail: okada@nihs.go.jp

本ステートメントは、日本薬学会第118年会レギュラトリーサイエンス討論会（1998.4. 京都）にて発表した内容をまとめたものである。

Table. 1 System Repeatability Specified in the Monographs Listed in the JP XIII (Part I)

Monograph	Specified content (%)	Specification of system repeatability			
		Detection method	Number of measurement	Specified R.S.D. (%)	
Calcium Folinate	95.0 - 102.0 %	UV 254nm	6	Peak Area	≤ 2.0 %
Carbidopa	≥ 98.0 %	UV 280nm	6	Peak Area	≤ 1.0 %
Chlorpropamide Tablets	95 - 105 %	UV 240nm	6	Peak Area	≤ 1.5 %
Methotrexate	94.0 - 102.0 %	UV 302nm	6	Peak Area	≤ 2.5 %
Sodium Iopodate Capsules	93 - 107 %	UV 254nm	6	Peak Area	≤ 1.5 %
Sucralfate	34.0 - 43.0 %	Refractive Index	6	Peak Area	≤ 2.0 %
Tocopherol	96.0 - 102.0 %	UV 292nm	5	Peak Height	≤ 0.8 %
Tocopherol Acetate	96.0 - 102.0 %	UV 284nm	5	Peak Height	≤ 0.8 %
Tocopherol Calcium Succinate	96.0 - 102.0 %	UV 284nm	5	Peak Height	≤ 0.8 %

σ_t は、試料の採取、抽出、ろ過、希釈など一連の前処理操作を経て、機器または装置による測定に至る、試験の全過程に由来するバラツキを意味し、「分析法バリデーション」での「精度」に相当する。一方、 σ_s は、複数のユニットから構成される分析装置に由来するバラツキを意味し、日局で規定される「試験の再現性」に相当する。

では、製品の含量規格が95-105%であるとき、システムの再現精度 σ_t はどの範囲にあればよいのか考えてみる。通常、医薬品の含量規格は表示量に対する相対値(%)で表されるので、標準偏差 σ を相対標準偏差 γ に置き換えて考えてみる。いま、含量中心が100%であり、測定値が正規分布すると仮定すれば、99%信頼限界は、中心値±2.58 γ の範囲内にあるので、

$$\gamma_t = (100 - 95) / 2.58 = 1.94\% \quad (2)$$

と計算される。すなわち、危険率1%で95-105%の含量規格が満足されるためには、含量評価のための試験法の精度 γ_t は、1.94%以下であることが求められる。この場合、バラツキ(標準偏差) σ を相対値(%)で考え、含量規格の中心値X=100%と考えているため、

$$\gamma_t = (\sigma_t / X) \times 100 \quad (3)$$

$$\gamma_t = \sigma_t \quad (4)$$

式(3)及び(4)が成立している。以下では、一般的な表現とするために、標準偏差 σ を用いて議論を進める。

一方、装置又は分析システムに由来するバラツキ σ_s は、前述のように、試験法全体のバラツキ σ_t の一部であり、システム外のバラツキ σ_e との間に式(1)のような関係がある。ここで、 $\sigma_s^2 = \sigma_e^2$ を仮定すると¹⁾、式(1)より

$$\sigma_t^2 = 2 \sigma_s^2 \quad (5)$$

が得られる。したがって、式(2)、(5)より

$$\sigma_s = 1.37\% \quad (6)$$

となる。すなわち、ある製品の含量規格幅を95-105%に設定した場合、含量100%の製品を製造できたとしても、試

験法のバラツキがあるため、良品を不良品と誤って判断してしまう危険がある割合で存在する。この危険率を1%とした場合、試験法全体のバラツキ σ_t は1.94%以下であること、分析システム由来のバラツキ σ_s は1.37%以下であることが要求されることになる。

3. 含量規格と試験の再現精度の妥当性

上記のような考え方を基に、Table 1 中の「クロルプロパミド錠」、「カルビドバ」などで規定されている試験の再現精度が、含量規格との関係で合理的に設定されているか、検証の結果を示した。それによれば、「クロルプロパミド錠」では、ほぼ妥当な値が設定されているが、ロット間変動が考慮されていないこと、「カルビドバ」では、試験の再現精度1.0%以下が規定されているのに対し、 $\sigma_s \leq 0.55\%$ (危険率: 1%)と推定され、非常に厳しいシステム再現性が要求されることになることを示した。

また、上記の議論では、含量規格の中心が100%であると仮定したが、実際には製品のバラツキ、すなわち、ロット間変動を考慮する必要があり、この場合、 σ_s としてより厳しい値が要求されることを具体的に示した²⁾。

以上のように、「試験の再現性」で規定される相対標準偏差の値は、試験法における試料の前処理操作をはじめ、含量のロット間変動、含量規格幅、危険率をどのように設定するかなどにより、考慮されるべきものであることを示した。

文 献

- Debesis E., Boehlert J., Givand T., Sheridan J.: "Submitting HPLC methods to the compendia and regulatory agencies", *Pharm. Tech.*, Sept., 120-137 (1982)
- 岩上正蔵、山下治夫、岡田敏史、医薬品研究, 29, 544-549 (1998)

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（第一次）

(平成 6 年度～平成 8 年度)

世話人 高橋道人

医薬品をはじめとする各種化学物質の生体に対する安全性の確認のために、従来より実験動物を用いた試験法が施行されているが、次のような面で見直しが必要とされている。第一には、多数の動物を用い、長期間にわたる実験が要求され、従ってかかる経費も莫大なものとなる。第二に、ヒトと実験動物との間には化学物質の代謝などにおいて差異がみられることが多く、しばしば実験成績のヒトへの外挿が難しい。第三に、従来の毒性指標の殆どは発現した毒性現象を探知するもの（反応指標）であり、化学物質の曝露を直接的に示す生体指標（曝露指標）は実用化されていない。第四は、動物愛護の問題である。一方、近年の分子生物学、細胞培養技術及びバイオ技術の進歩は、これまでの実験動物による個体レベルおよび臓器レベルでの安全性を、いろいろな指標を導入することによって分子レベルないしは細胞レベルで判定できる可能性を示唆している。本研究の目的は、化学物質による生体内の分子変化や微量反応或いは生理変動の測定方法を確立し、従来の試験法との比較検討によりそのotoxicological有意性を明らかにし、毒性指標として採用することにより、化学物質に対する安全性評価の高度化をめざすことにある。

第一次研究期間においては、*in vitro* ないし *in vivo* の試験系を用い、分子、細胞および組織レベルでの種々の毒性指標の有用性について検討した。毒性部では、正常ラットの血清や肝臓、腎臓などの諸臓器における微量元素（Ca, Cu, Fe, Mg, Mn および Zn）をプラズマ発光分光分析装置（ICP）を用いて測定し、臓器、週齢および性による存在比の特徴があることを明らかにした。療品部では、医用材料の添加剤について、V79 代謝協同阻害試験法を用いて細胞間連絡阻害作用を検索し、いくつかの紫外線吸収剤および色素に阻害活性のあることを確認した。生物薬品部では、四塩化炭素およびフタル酸エステルを投与したラット肝について HPLC-RT-PCR 法を用いて検索し、HGF および β -アクチンの変動が mRNA レベルで測定可能であることを明らかにした。機能生化学部では、アレルギー促進活性の評価法として培養ラットがん細胞を用い、いくつかの小胞体 Ca^{2+} -ATPase 阻害剤が種々のメディエーター遊離を促進することを確認した。薬理部では、代謝的活性化の種差を簡便に予測する方法について

検討し、代謝量と生体高分子への共有結合量との関係は化学物質ごとに異なることを明らかにした。病理部では、4HAQO を投与したラットの諸臓器について免疫組織化学的ならびに電子顕微鏡的に検索し、DNA 付加体形成、微細な核小体変化、p53 蛋白発現、アポトーシスおよび細胞増殖が標的臓器において連続的に起こることを明らかにした。大阪支所生物試験部では、ラット脱落膜反応を用いた発生毒性検出法について検討し、妊娠ラットへの化学物質の投与時期により発生毒性に感受性と発現様式が異なることを明らかにした。

以上、各担当部が行った試験研究の概要について述べたが、その具体的な内容については以下に記す各々の報告書を参照されたい。

なお、本研究プロジェクトは第二次研究期間として平成 9 年度から 3 年間の予定で既に継続中である。次の 3 年間において、細胞間連絡阻害活性やアレルギー原性などの *in vitro* 試験系毒性指標の簡易迅速評価法を確立し、生体高分子付加体などの実験動物における化学物質の曝露指標の検出感度や特異性をさらに検討するとともに、組織内微量元素の変動、成長因子の発現、細胞増殖活性、細胞死、代謝活性および脱落膜反応などの生体反応指標の迅速かつ鋭敏な評価手段としての総合的な有意性を確認することにより、実用化に向けて更に研究を推し進める予定である。

毒性指標としての生体内金属元素の変動

毒 性 部 鈴木幸子・小川幸男・金子豊蔵・井上 達

[目的]

近年、老化、心疾患、脳血管系疾患、肝胆系疾患など内因性疾患と微量元素の機能に深い関係があることが明らかにされ、生体内微量元素への関心が高まっている。こうしたこととは、分析機器ならびに技術の発展に伴い、多元素を同時に短時間で測定が可能となったことと深い関連がある。その結果、生体内には多種多様な元素が様々な濃度で存在して生命機能の維持に重要な役割を担っていることが明らかになっている。現在までは化学物質等の投与による生体への影響を病理組織学的検査と共に、血清生化学検査が生体への影響を調べる判断基準となっているが、血清のみな

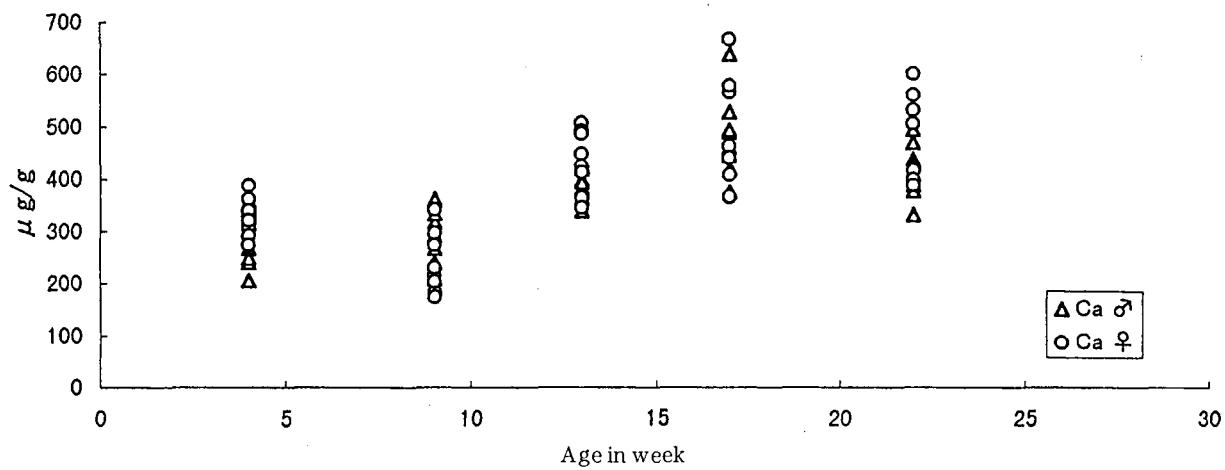


Fig. 1 Changes in Calcium concentrations in the Lung of Slc-Wistar rats along with aging.



Fig. 2 Changes in Iron concentrations in the Lung of Slc-Wistar rats along with aging.

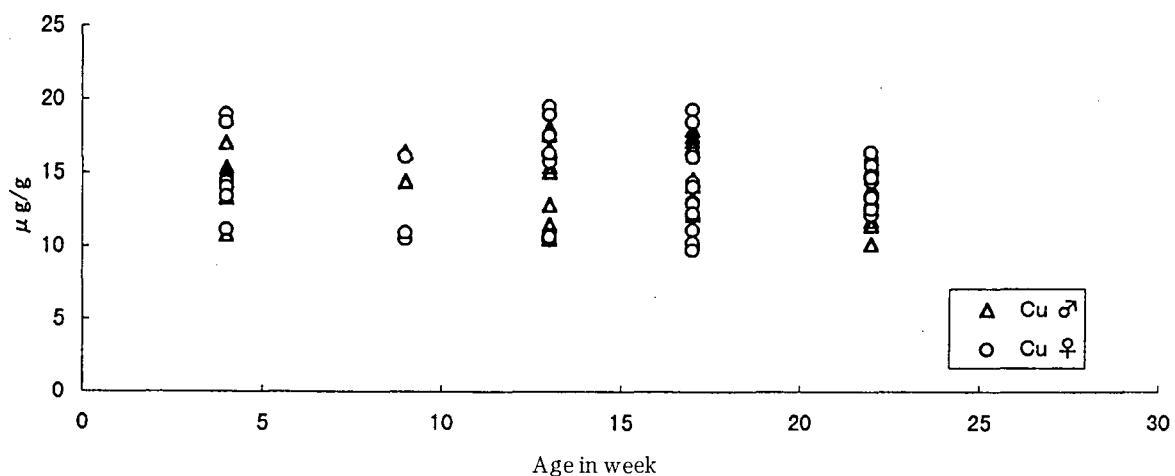


Fig. 3 Changes in Copper concentrations in the Liver of Slc-Wistar rats along with aging.

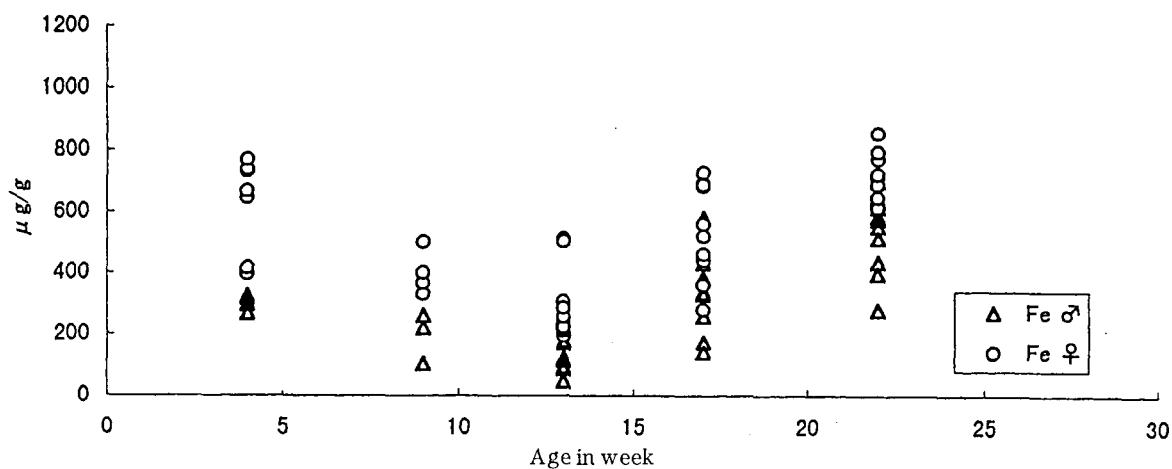


Fig. 4 Changes in Iron concentrations in the Liver of Slc-Wistar rats along with aging.



Fig. 5 Changes in Calcium concentrations in the Kidney of Slc-Wistar rats along with aging.

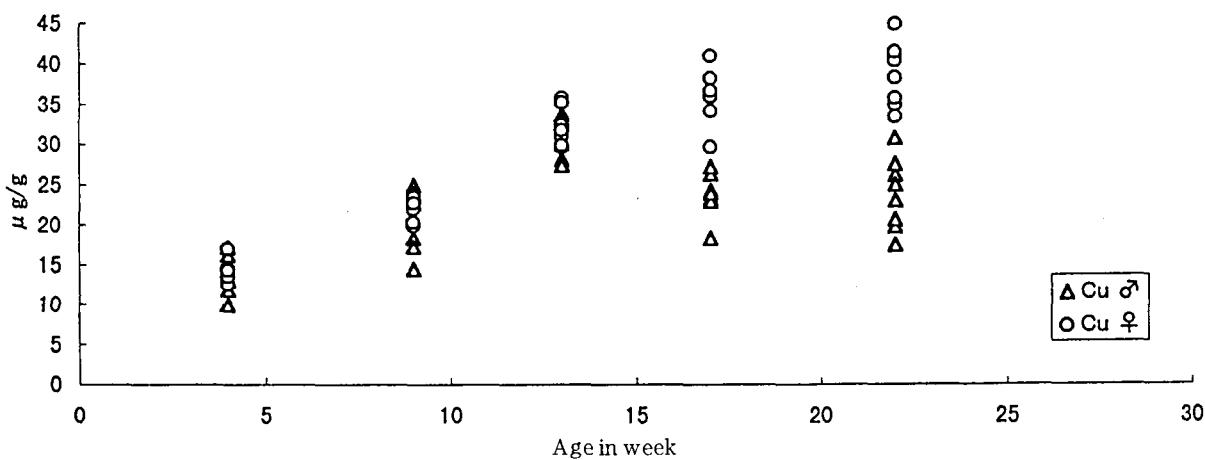


Fig. 6 Changes in Copper concentrations in the Kidney of Slc-Wistar rats along with aging.

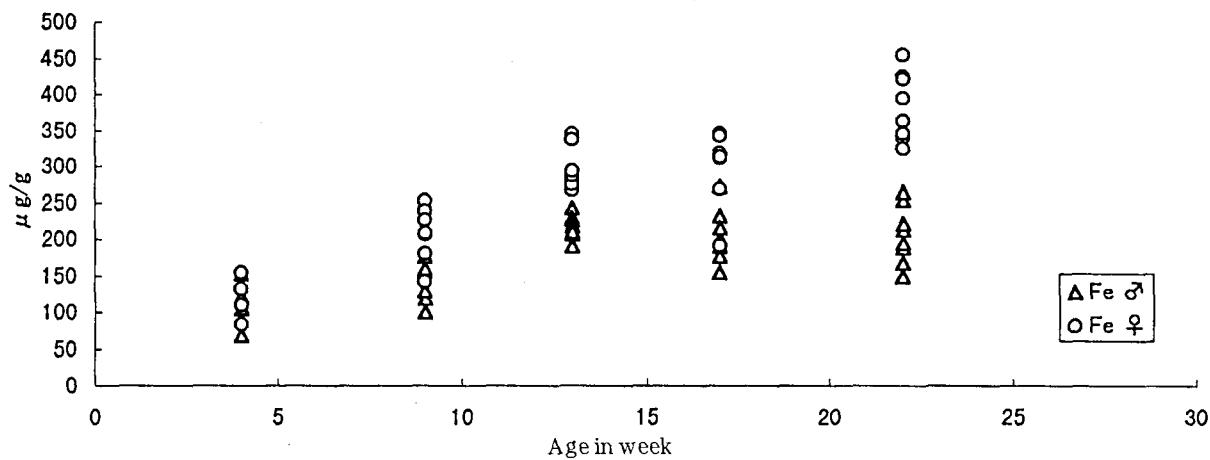


Fig. 7 Changes in Iron concentrations in the Kidney of Slc-Wistar rats along with aging.

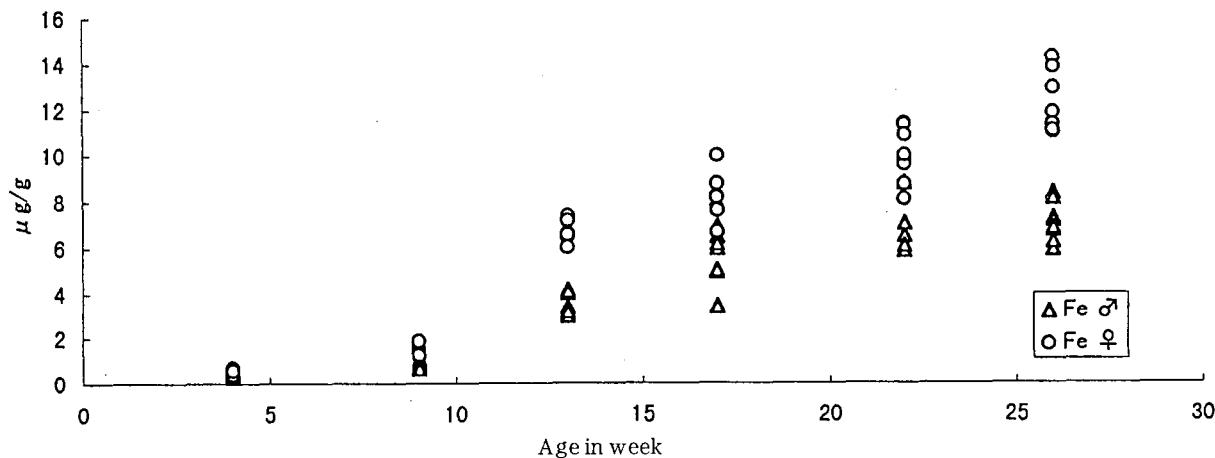


Fig. 8 Changes in Iron concentrations in the Spleen of Slc-Wistar rats along with aging.

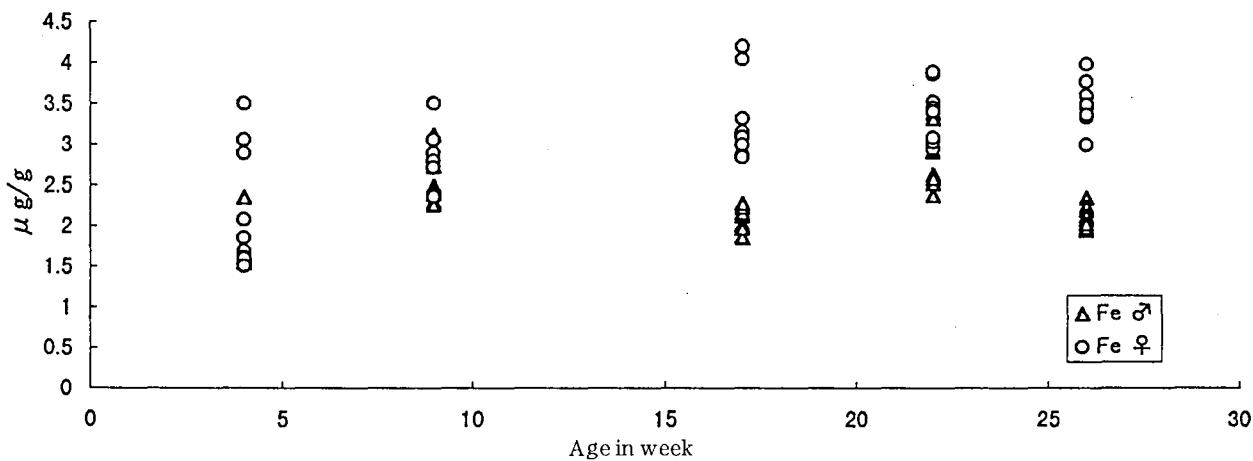


Fig. 9 Changes in Iron concentrations in the Serum of Slc-Wistar rats along with aging.

Table 1. Number of data collected from intact animals (Date: 3/30/98)

らず臓器中の必須元素を測定する事によって、安全性評価のための迅速かつ鋭敏な毒性指標となるものと思われる。

本研究の第一次では基礎実験として、実験動物の生体内必須元素濃度の正常値を把握する目的で、実験に供しない健常と考えられるラット3系統 (Slc Wistar, JCL-Sprague-Dawley, CRJ-F344) の血清、および臓器中の必須元素濃度測定結果を集積している (Table 1)。今回は4, 9, 13, 17, 22, 26週齢の Slc-Wistar 系雌雄ラットの臓器および血清中の必須元素濃度の分析結果を報告する。

[方法]

1. 飼育条件

実験動物は室温 $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、照明12時間のバリアーシステムの動物室で飼育し、ラット飼育用固形飼料 (船橋農場製 F2) と水道水を自由に摂取させた。

2. 臓器および元素

臓器は肺、肝臓、腎臓、脾臓の4臓器および血清、元素はカルシウム (Ca), 銅 (Cu), 鉄 (Fe), マグネシウム (Mg), マンガン (Mn) および亜鉛 (Zn) の6元素について報告する。

3. 装置

真空凍結乾燥器：FTS system 社製 DURA-DRY

誘導結合プラズマ発光分光分析装置 (ICP) : 真空多元素同時分析型 Thermo-Jarrel Ash 社製 ICAP-61

試料分解容器：三愛科学製電子レンジ用試料分解容器

電子レンジ：日立製 MR-M26

4. 分析法

摘出臓器は凍結乾燥後、電子レンジを用いて硝酸・過塩素酸で湿式分解¹⁾した。分解溶液中の Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn 濃度をプラズマ発光分析装置 (ICP) で測定した²⁾。その結果を動物実験におけるデータ処理法³⁾の一部変更したプログラムを作成して系統、週齢、性差、臓器別に分類、蓄積した。

5. 結果

各元素の臓器中濃度の結果のうち変化の認められた元素について Fig. 1~9 に示した。各元素の測定値について週齢変化および性差を臓器別で比較検討した。

週齢に伴って変化の認められた元素は肺のカルシウム濃度が増加傾向、腎臓の銅濃度が増加、肺、肝臓、腎臓および脾臓の鉄濃度の増加が認められた。

性差の変化が認められた元素は腎臓のカルシウム濃度が4週齢では差は認められなかったが、それ以後、雌の値が雄の1.2~1.5倍であった。血清の鉄濃度は雌の値が雄の値の1.2倍~2.0倍の高い値を示した。肝臓、腎臓および脾臓の鉄濃度について、4週齢の脾臓では性差は認められなかったが、その後は雌の値が高かった。マグネシウム、マンガン、亜鉛については週齢、性差による明らかな変化は認められなかった。

以上の結果を Table 2 に纏めた。

Table 2 Summarized changes in metal concentration with aging between both sexes.

	Ca		Cu		Fe	
	aging	sexes	aging	sexes	aging	sexes
Lung	↑				↑	
Liver					↑	♀ > ♂
Kidney		♀ > ♂		↑	↑	♀ > ♂
Spleen					↑	♀ > ♂
Serum						♀ > ♂

文 献

- 1) 鈴木幸子・小川幸男・鎌田栄一・金子豊蔵・黒川雄二：必須元素のラット臓器内濃度に関する研究（第一報），衛生試験所報告，108, 132-135 (1990)
- 2) 鈴木幸子・小川幸男・広瀬明彦・金子豊蔵・黒川雄二：必須元素のラット臓器内濃度に関する研究（第二報），衛生試験所報告，109, 115-118 (1991)
- 3) 鈴木幸子・斎藤 実・中路幸男・戸部満寿夫：動物実験におけるデータ処理法について，衛生試験所報告，100, 204-211 (1982)

細胞間連絡阻害活性の重要性

療 品 部 土屋利江・出川宏規・中村晃忠

[目的]

細胞の重要な生理機能を担うギャップ結合の細胞間連絡阻害活性を指標として、医用材料に添加される各種添加剤を中心に検討し、細胞間連絡阻害活性の安全性評価上での有用性を検討し、迅速かつ鋭敏な試験方法を確立する事を目的とする。

各種添加剤の細胞間連絡阻害作用を迅速に評価するためには、12 well plate を用いた方法を検討した。その結果、我々の代謝協同試験法の感度は、TPA について文献値と比較した結果、高い傾向が認められた。また、従来、陰性結果であった過酸化水素についても阻害活性を検出する事ができた。

医用材料に添加される色素や紫外線吸収剤について検討した結果を中心に報告する。

[方法]

試験化合物：ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤7種、および、ベンゾフェノン系紫外線吸収剤2種を使用した。色素としては、アゾフェニル化合物2種、および、アンスラキノン系色素4種を入手し、試験に用いた。

細胞株：V79 細胞の野生株 (HPGRT+) のおよびその変異株である TG1 細胞 (HPGRT-) は、国立衛研・細胞バンクより入手し、5% FCS-改変 MEM 培地を用いて培養した。

試験方法：代謝協同阻害試験は 12 well plate の各 well に V79 細胞を 8×10^4 個、TG1 細胞を 100 個播種し、細胞毒性試験は、TG1 細胞を各 well に 100 個まいて、各々 5 時間静置した。培地を捨て、種々の濃度の紫外線吸収剤を含む培地を 2 mL 加え、6-thioguanine を最終濃度 $10 \mu\text{g/mL}$ に調製して加えた。7 日間培養後、細胞を固定しギムザ染色を行い、形成されたコロニー数を数えた。コントロール（培地のみの well）でのコロニー数に比較して、試験化合物でのコロニー数が統計的に有意に増加した時を代謝協同阻害活性陽性と判定した。細胞毒性は、コントロールの well に形成されたコロニーの平均値を 100% として、試験物質でのコロニー形成率により細胞毒性を評価した。

2 段階 transformation assay は Balb/3T3 細胞を用いて、角永らの方法に従って行った。6 週間培養した後に固定し、ギムザ溶液で染色後、形成された transformed foci の数により、発癌イニシエーションおよび発癌プロモーション活性を評価した。

[結果および考察]

1. 色素について

色素はコンタクトレンズや人工血管等の医療用具に使用されている。2 種のアンスラキノン系色素について V79 代謝協同阻害試験を行った結果、Quinizarin は阻害活性陰性であった。Purple 201 は $7.5 \mu\text{g/mL}$ から阻害活性を検出した。アゾフェノール系色素である Sudan 1 やアンスラキノン系色素である Purple 201 は、既知発癌プロモーターであるリトコール酸に比べて、より低濃度で細胞間連絡阻害作用を示すことが明らかになった。一方、Quinizarin や Red 225 は本試験法では陰性であった。色素の代謝物が発癌プロモーション作用を示す可能性もあるので、実際に色素を材料に添加する場合には、代謝的活性化の可能性についても慎重に検討する必要がある。

強力な発癌プロモーターである TPA は、Sudan 1 の約 10 万分の 1 の濃度で阻害した。このように阻害濃度には、100 万倍程度の大きな違いがあることが明らかになった。

2. 紫外線吸収剤について

ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤 7 種について試験した結果、5 種の吸収剤で代謝協同阻害が認められた。また、それらの最小阻害濃度は $10 \mu\text{g/mL}$ 以下を示し、既知発癌プロモーターであるリトコール酸に比べて、低濃度で阻害活性を示す事が明らかになった。阻害活性を示さなかったベンゾトリアゾール系吸収剤 2 種は阻害活性を示した化合物に比べ、分子量が大きい傾向が認められた。更に、阻害活性陰性の化合物は、ベンゾトリアゾールに結合しているヒドロキシフェニル基が、アルキル基以外の側鎖で置換されていた。阻害作用を示した 5 種のうち、塩素で置換されていない 4 種について $20 \mu\text{M}$ 濃度での recovery ratio（コロニー增加率：試験群でのコロニー形成率/コントロール

でのコロニー形成率）を計算し、比較した。その結果、メチル基よりも tertiary のオクチル基、また、アルキル基の 1 置換型よりもフェノール環のオルトおよびパラ位に 2 置換されている方が、活性強度が高い傾向が認められた。ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤である HBPBT の代謝協同阻害活性に及ぼす光増強作用について検討した結果、UVA を照射しても活性強度の増加は認められなかった。

次に、HBPBT について 2 段階 transformation assay を行った。細胞播種後 1 日目から 72 時間この化合物を添加して培養しても transformed foci の数は増加しなかったが、細胞を低濃度の 3-MCA で弱くイニシエートした後、培養 7 日目から HBPBT で処理すると明らかに transformed foci の数が増加し、陽性対照（3-MCA + TPA）群の transformed foci の数とほぼ同程度であった。従って、HBPBT には発癌イニシエーション作用を認めなかつたが、発癌プロモーション作用が明らかになった。代謝協同阻害作用を示した濃度域で有意な transformed foci の増加を認めたことから、その機構には gap 結合細胞間連絡阻害作用が関与していることが推定された。一方、ベンゾフェノン系吸収剤について試験した結果、1 種はベンゾトリアゾール系の場合よりも、より高濃度で阻害活性を示し、残りの 1 種は阻害活性陰性であった。

ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤 1 種についてギャップ結合阻害機構を明らかにするために、ギャップ結合構成蛋白であるコネキシンの変化を抗体を用いて解析した。

抗コネキシン抗体を用いてウェスタンプロット法で解析した結果、コネキシンに相当するバンドは化合物濃度が増加するにつれゲルシフトする傾向がみられた。更に、抗磷酸化抗体を用いた免疫沈降法で解析した結果、コネキシンは複数のアミノ酸残基の磷酸化レベルが上昇している事が明らかになった。従って、プロテインキナーゼによるコネキシンの磷酸化修飾により、コネキシンの局在性や安定性等に異常を生じその結果、細胞間連絡機能が阻害されたものと考えられる。

以上の結果より、近年頻繁に使用されているいくつかの色素や紫外線吸収剤が、発癌プロモーション作用を示す可能性が示された。色素については代謝的活性化によって、阻害作用が更に増強される可能性があることに注意する必要がある。紫外線吸収剤は今後ますます使用頻度が増加し、種々の製品内に添加され、また、繰り返し使用される可能性がある化合物である。紫外線の防御効果のみでなく、生物学的安全性を考慮して、慎重に選択する必要があるものと考える。

発表論文

- 1) Tsuchiya, T., Ikarashi, Y., Nakamura, A.: Studies on the tumor-promoting activities of additives in bio-

- materials: Inhibition of Metabolic cooperation by additives such as pigments and phenolic antioxidants. *J. Long-Term Effects of Medical Implants*, 5, 243-252 (1995)
- 2) Tsuchiya, T., Takahara, A., Cooper, S.L., Nakaoka, R., Degawa, H., Nakamura, A.: A new hypothesis: Inhibitory potentials of the gap-junctional intercellular communication play an important role in the tumorigenesis induced by biomaterials. *Proceedings of the fifteenth southern biomedical engineering conference*. 331-332 (1996)
- 3) 土屋利江: 高分子材料の *in vitro* 発癌プロモーション活性, 高分子論文集特集号, 6, 314-322 (1998)

RT-PCR 産物定量法の HPLC を用いた改良及び HPLC-RT-PCR を用いたフタル酸エステルの毒性指標検索に関する基礎的検討

生物薬品部 小林 哲・新見伸吾・福岡正道・早川堯夫

[目的]

文明の発展に伴い環境における化学物質の種類が急速に増加し、その多くは環境汚染物質として大きな社会的問題となっている。たとえば最近問題となっている環境ホルモンはその典型的な例である。今後どのようにして環境汚染物質から人間を守るかは重要な問題であるが、ある化学物質が毒性を及ぼすかどうかについて、あらかじめ毒性発現の要因となる特異的な生体指標の変化がわかっているれば、その変化を調べることにより毒性あるいは安全性を評価することが可能となり有用と考えられる。しかしながら現状ではその指標となる有用な生体内における変化は充分解明されていない。本研究においてはこれらの変化を精度よく検出できる測定系を構築するとともに、その測定系を用いて有用な生体内指標を検索することを目的としている。

このような研究においては生体内指標の検索における候補の選択のみならず、どのような測定系で有用な指標を検索するかが問題となる。変動因子がタンパク質の場合、その検出原理としてはタンパクの変化を検出する方法とそれを規定する mRNA の変化を検出する方法の二種類が考えられる。タンパクの検出には抗体を用いた免疫化学的な方法と、タンパクによっては固有の酵素反応を利用する方法がある。抗体を用いる場合の問題点はその調製並びに測定法の確立が容易ではないことであり、多数の候補の中から有用な指標を検索することは困難である。また、指標となりうるタンパクは酵素とは限らないため酵素反応を測定して検出する方法の適用は限られている。そこで近年注目を浴びているのは RT-PCR 法を用いた測定系で、広く生化学及び分子生物学における研究の分野で生体反応の調

節機構の解明に幅広く用いられている。本法の有用な点は遺伝子構造が解明されていれば塩基対に相補的なプライマーを用いてその mRNA を検出できる点にある。実際この方法が診断用医薬品に応用されて各種ウイルスの感染の有無の判定に用いられている。しかしながら本法を生体内指標の検索に用いる場合、現状ではその定量性及び精度に問題があり、場合によっては指標となる生体内変化を正確に検出できない可能性もあるが、その原因について充分な解明は行われていない。我々はその原因の一つが現行のゲル電気泳動法を用いた測定法にある可能性を考え、それに代わりうる方法として HPLC 法に着目し、その有用性についてゲル電気泳動法と比較検討を行った。

一方、生体内指標を検索する際、どのような指標を候補として選択すべきかが問題となる。一般に生体は、ある化合物等により疾患がひき起こされる場合、その恒常性を維持するためにその疾患を治癒する方向に働き、その際様々な成長因子、サイトカイン等の変動が起きることが予想される。一方、疾患時には標的臓器を構成する細胞において細胞骨格を含む様々な主要構成成分に異常が起きることも予想される。そこでこのような観点から、現在環境ホルモンとして生体に異常を及ぼすことで注目されているフタル酸エステルについて、その毒性を評価しうる有用な生体内指標に関して、RT-PCR を用いて基礎的検討を行った。

[方法]

1. 測定用試料の調製

動物は200-220 g の雄性ウイスター ラットを用いた。四塩化炭素は1.0 ml/kg となるように腹腔内投与して、10時間後に肝臓を摘出した。フタル酸ジブチルは8.6 mmol/kg となるように強制経口投与して、6 時間後に肝臓を摘出するとともに、末梢血をヘパリン採血した。肝臓は Chomczinski らの方法¹⁾に従い、10倍量のソルーション D (4M チオシアニ酸ゲアニジウム、2.5 mM クエン酸ナトリウム pH 7.0, 0.5% N-ラウロイルサルコシン、0.1 M 2-メルカプトエタノール) でホモジナイズし、血液は10倍量のソルーション D と混合して、使用するまで-70°C で保存した。

市販キットを用い、上記処理をした肝臓及び血液から総 RNA を抽出した。RNA 濃度は260 nm における吸光度より定量した。mRNA と総 RNA は最終濃度がそれぞれ 2 μg/ml および0.1 mg/ml になるように DEPC 处理水で希釈した。20 ng の mRNA または3.2 μg の総 RNA から、5'-pd(N)₆ と市販キットを用いて一本鎖 cDNA を合成した。RNA と cDNA は-70°C で保存した。

2. PCR 反応

PCR 溶液 (10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 1.5 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 0.1% (w/v) ゼラチン, 2.5 mM dNTP, 20 pM プライマー, 0.03 U/ml Taq DNA polymerase) 100 μl に15 μl の cDNA を添加し、94°C で 4 分間 DNA の変性を

行った後、20~30サイクルの反応（1サイクル：変性94℃ 60秒、再会合55℃ 90秒、DNAポリメラーゼ反応72℃ 180秒）を行った。HGFセンスプライマーとして(5'-GGG TTT GGC CAT GAA TTT GA-3')アンチセンスプライマーとして(5'-ACC TCT GTA GCT TTC ACC GT-3')を用いた²⁾。β-アクチンのセンスプライマーとして(5'-GGG AAA TCG TGC GTG ACA TT-3')アンチセンスプライマーとして(5'-GGA GTT GAA GGT AGT TTC GTG-3')を用いた^{3,4)}。これらプライマーは製造委託したものを購入し、最終濃度を0.1 mMとなるよう希釈し、分注後凍結保存した。

3. 電気泳動

標準DNA(Amplisize DNA size standard, 10 ng/band/ μ l; Bio-Rad Lab., Hercules, CA)またはPCR反応産物10 μ lを2%アガロースゲル(TAE pH 8.1, 3 μ g/mlエチジウムプロマイド)にアプライし、TAE中で、16.7 V/cmで45分間泳動した。EDASシステム(コダック)でゲルを撮影後、コダックデジタルサイエンスの1次元電気泳動解析ソフトウェアを用いて定量解析し、ゲルイメージ解析により、DNAの量は蛍光の正味強度として表示した。

4. HPLC

TSK-gel DNA-NPRカラム(東洋ソーダ)に標準DNAまたはPCR反応産物を10 μ l注入した。移動相はA液(20 mM Tris-HCl, pH 9.0)とB液(20 mM Tris-HCl, pH 9.0, および1 M NaCl)を用い、開始時にA/Bの比率を50/50とし、20分には25/75になるよう直線勾配のグラジェントを形成させ、その後20分から38分までは50/50でカラムの再平衡化というプログラムでDNAの溶出を行った。流速は0.25 mL/minとし、DNA量は280 nmにおけるピーク面積として表示した。

[結果]

図1は電気泳動法を用いたDNA標準品の検量線を作成した結果を示している。測定値と濃度において直線関係がみられたものの、相関係数は若干低く検量線は原点からはずれていた。図2は同様にHPLC法を用いたDNA標準品の検量線を示している。測定値と濃度においてはほぼ原点を通る直線関係が得られ、相関係数は電気泳動法に比べ高かった。表1はDNA標準品の両測定法における測定値の再現性を調べた結果を示している。50 ngと100 ngにおいてHPLC法の方が優っていた。図3はアクチン及びHGFを例にとり、RT-PCRの增幅曲線をHPLCによる定量に基づいて作成した結果を示している。両者とも20から30サイクルで良好な増加が確認された。図4は四塩化炭素投与肝疾患モデルラットにおける肝臓のHGFmRNA上昇^{5,6)}をHPLC-RT-PCRにより測定した結果を示している。本法においてもHGFmRNA上昇が確認され、その再現性も良好であった。なお同疾患モデルラットにおいてアクチ

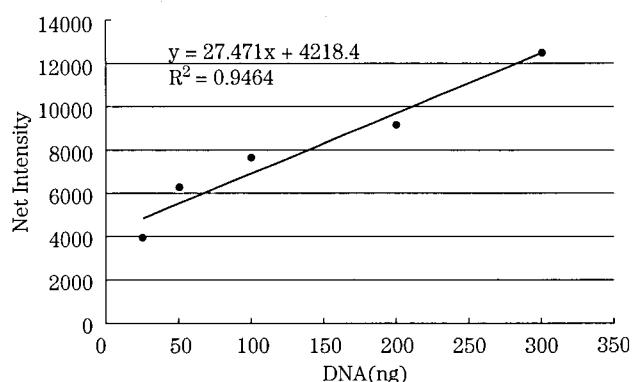


Fig. 1 Standard curve for determination of DNA amount using electrophoresis method.

MW markers of DNA were used in this experiment as described in Materials and Methods. Experimental conditions are described in Materials and Methods.

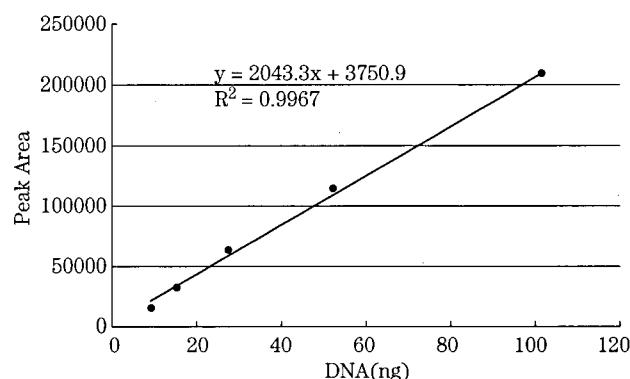


Fig. 2 Standard curve for determination of DNA amount using HPLC method.

MW markers of DNA were used in this experiment as described in Materials and Methods. Experimental conditions are described in Materials and Methods.

Table 1. Comparison of the reproducibility of DNA amount estimates by HPLC and electrophoresis

Method	DNA (ng)	CV (%)
HPLC	50	7
	100	8
Electrophoresis	50	16
	100	27

MW markers of DNA were used in the experiments as described in Materials and Methods. Experimental conditions are described in Materials and Methods. Data are means \pm SD of three experiments.

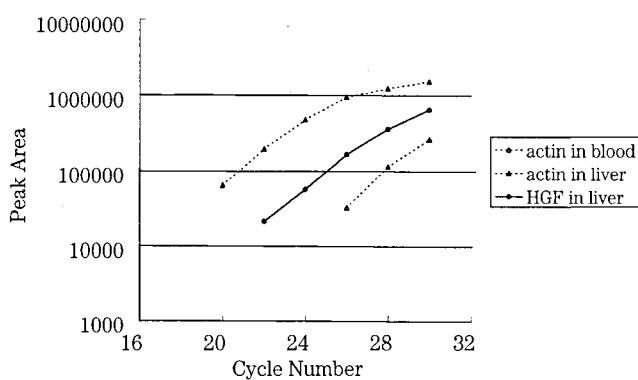


Fig. 3 PCR amplification curves of β -actin and HGF measured by HPLC method.

Experimental conditions are described in Materials and Methods.

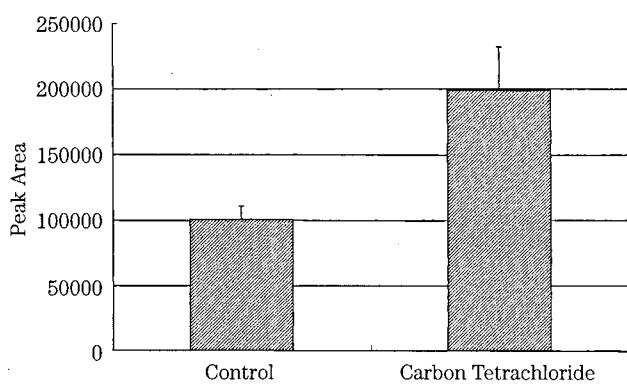


Fig. 4 Detection of the increase of HGF mRNA in rat liver induced by carbon tetrachloride using HPLC-RT-PCR. Experimental conditions are described in Materials and Methods. Data are means \pm SD of three rats.

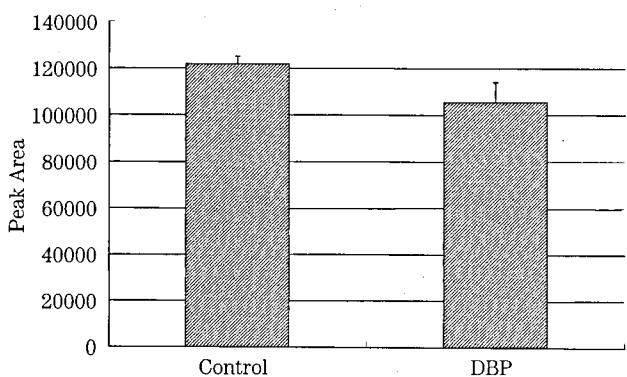


Fig. 5 Effect of DBP on the level of HGF mRNA in rat liver. Experimental conditions are described in Materials and Methods. Data are means \pm SD of three rats.

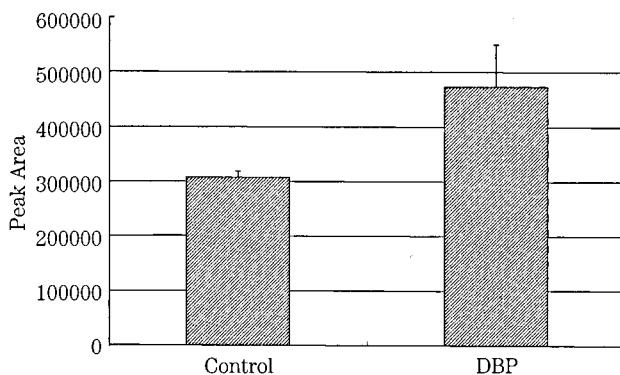


Fig. 6 Effect of DBP on the level of β -actin mRNA in rat blood.

Experimental conditions are described in Materials and Methods. Data are means \pm SD of three rats.

ン mRNA の変化はみられなかった。

次に環境ホルモンであるフタル酸ジブチルエステル (DBP) の肝臓における HGFmRNA に及ぼす作用について HPLC-RT-PCR を用いて検討を行なった結果を図 5 に示している。DBP は先の四塩化炭素の場合と異なり HGF mRNA にほとんど影響を与えたなかった。図 6 は DBP が血液中の β -アクチン mRNA に及ぼす作用について HPLC-RT-PCR を用いて調べた結果を示している。DBP 投与により β -アクチン mRNA が未処理に比べ約 50% 上昇することが判明した。

[考察]

本研究においては安全性評価に有用な生体内指標を精度よく検出できる測定系の構築、並びにその測定系を用いた生体内指標の検索に関する基礎的検討を行うことを目的としている。

RT-PCR 産物の測定系に関する基礎的検討として電気泳動法及び HPLC 法で標準 DNA の検量線を作成し比較したところ、HPLC のほうがより低濃度から高濃度に至るまで直線性関係が得られ、その相関係数も高い値が得られた。また再現性についても二つの濃度で比較したところ、HPLC のほうがより低い CV 値が得られた。これらの結果は HPLC 法のほうが電気泳動法に比べてより幅広い濃度範囲において定量的にかつ精度よく DNA を測定できることを示しており、RT-PCR 産物の定量においても同様な有用性を示すことが示唆された。さらに肝臓や血中のアクチン mRNA 及び HGFmRNA を例にとり RT-PCR のサイクル依存性を HPLC で測定した結果、両サンプルにおいて 20 から 30 サイクルで增幅産物の良好なサイクル依存性がみられ、HPLC は至適な増幅回数の検討に有用であることが示された。さらに四塩化炭素投与肝疾患モデルラットにおける肝臓の HGFmRNA 上昇を HPLC-RT-PCR により測定した結果、HGFmRNA 上昇が確認され、その再

現性も良好であったことから、HPLC 法が RT-PCR による特定の mRNA の変化を調べるために有用であることが示された。

次に HPLC-RT-PCR を用いて化学物質の毒性を評価する生体内指標の検索に関する基礎的検討を行った。本研究においてその対象として選んだものは、環境汚染物質の一つであり、最近は環境ホルモンとして注目を浴びている DBP である。DBP は肝毒性を示すことから、先の四塩化炭素と同様に肝臓における HGFmRNA の上昇を引き起こすかどうか検討を行ったところ、HGFmRNA の変化はほとんどみられなかった。この違いの原因については明らかではないが、DBP と四塩化炭素による肝障害発生機序が異なっていることによるのかもしれない。一方血液においては DBP により β -アクチン mRNA の上昇がみられた。この原因として、DBP が白血球に作用し細胞骨格の異常を伴う毒性作用を引き起こしている可能性が示唆された。

文 献

- Chomczynski, P. and Sacchi, N.: *Anal. Biochem.*, **162**, 156-169 (1987)
- Tashiro, K., Hagiya, M., Nishizawa, T., Seki, T., Shimonishi, M., Shimizu, S., Nakamura, T.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 3200-3204 (1990)
- van - Hille B., Lohri, A., Reuter, J., Herrmann, R.: *Clin. Chem.*, **41**, 1087-93 (1995)
- Nudel, U., Zakut, R., Shani, M., Neuman, S., Levy, Z., and Yaffe, D.: *Nucleic Acids Res.*, **11**, 1759-1771 (1983)
- Kinoshita, T., Tashiro, K. and Nakamura, T.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **165**, 1229-34 (1989)
- Maher, J. J.: *J. Clin. Invest.*, **91**, 2244-52 (1993)

化学物質のアレルギー原性並びにアレルギー促進活性の簡易迅速評価法の検討

機能生化学部 手島玲子・澤田純一

[目的]

本研究課題においては、化学物質の持つアレルギー原性及びアレルギー促進活性の検討のための簡易評価法並びに *in vitro* 評価系の確立をめざしている。第一次においては、アレルギー促進活性を *in vitro* で評価するための方法として、培養ラットがん化好塩基球(RBL-2H3)細胞を用い、細胞の情報伝達系に作用する化学物質が、細胞からのメディエータ遊離にいかに影響するかを調べた。

[方法]

細胞としては、ラットがん化好塩基球(RBL-2H3)細胞、化学物質としては、3種の小胞体 Ca^{2+} -ATPase 阻害剤を用いた。小胞体 Ca^{2+} -ATPase 阻害剤としては、抗酸化剤である DTBHQ (2,5-di(tert-butyl)-1,4-hydroquinone),

発がんプロモータの1つである Thapsigargin(TG)，並びにかび毒である Cyclopiazonic acid(CPA)を用いた。細胞内カルシウム濃度変化は、 Ca^{2+} 蛍光指示薬である Fura-2-AM を用い、2波長励起による蛍光強度比 (F_{335}/F_{362}) でモニターした。細胞から放出されるメディエータとしては、刺激後30分以内に放出されるものとして、脱顆粒によって放出されるヒスタミンまたは β -hexosaminidase, SRS(slow reacting substance) として知られるロイコトリエン、LTC₄ の測定を行い、刺激後3時間以上たって放出されるものとして、炎症性サイトカインの1つである TNF- α の測定を行った。

[結果]

1. 小胞体 Ca^{2+} -ATPase 阻害剤の細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 上昇への効果の検討：TG, CPA, DTBHQ 3種の小胞体 Ca^{2+} -ATPase 阻害剤は、1980年代の後半から、筋小胞体並びに小胞体 Ca^{2+} -ATPase (SERCA) 阻害作用を有することの見い出されてきた物質であるが、アレルギー担当細胞への効果は、ほとんど調べられていないかった。RBL-2H3 細胞においては、抗原刺激に伴う $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 濃度上昇が、ヒスタミン遊離に必須であるので、まず、これら3種の小胞体 Ca^{2+} -ATPase 阻害剤の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 濃度上昇へ及ぼす効果について検討した。TG, CPA, DTBHQ は、どれも $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を用量依存的に上昇させた。ED₅₀ は、それぞれ 1.6 nM, 1.4 μM , 2.9 μM であった(図1)。

2. RBL-2H3 細胞からのメディエータ遊離への小胞体 Ca^{2+} -ATPase 阻害剤の効果：これら3種の阻害剤は、細胞からの脱顆粒 (β -hexosaminidase 遊離、ヒスタミン遊

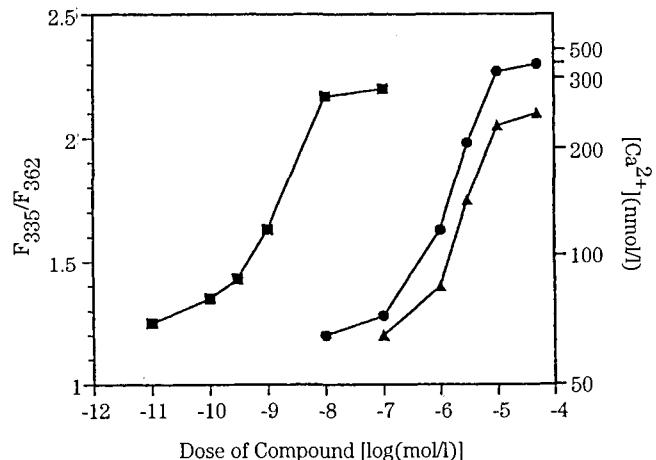


Fig. 1 Dose responses for the increase in $[\text{Ca}^{2+}]_i$ of RBL-2H3 cells induced by TG (squares), CPA (circles), and DTBHQ (triangles). The fluorescence ratios (F_{335}/F_{362}) at 100s after the addition of the drugs are plotted against the drug concentration. The fluorescence ratio without the drugs was approximately 1.2. Similar results were obtained in four or five different experiments.

離)を、protein kinase C (PKC) 活性化剤である TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) 存在下で著しく上昇させた。これらの阻害剤による TPA 共存下における脱颗粒反応は、用量依存的で、それぞれの ED₅₀ は、8.6 nM, 3.6 μM, 4.1 μM であり、[Ca²⁺]i 濃度上昇とよい相関がみられた。DTBHQ に関して、[Ca²⁺]i と β-hexosaminidase 遊離の関係をプロットしてみると、図2 のようになり、[Ca²⁺]i で、100 nM 以上で、有意な脱颗粒反応のみられることが判明した。また、TG, CPA は単独で、用量依存的な LTC₄ 産生を促した。その ED₅₀ は、11 nM, 11 μM であり、これも [Ca²⁺]i 上昇とよい相関があり、こちらは、[Ca²⁺]i 上昇のみで、PKC 活性化を必要としない反応であった。一方、即時型アレルギーの late phase reaction に関与する炎症性サイトカイン TNF-α の産生に関しては、TG 20 nM, CPA 3 μM, DTBHQ 10 μM でピークに達し、[Ca²⁺]i が最高に達する濃度とほぼ一致した。また、この TNF-α 産生は、脱颗粒反応と同様、TPA 共存下で相乗的な増強効果がみられた。これら阻害剤による TNF-α 産生は、actinomycin D の処理により、抑制されることより、転写レベルでの活性化を伴っていることが判明した。以上、[Ca²⁺]i 上昇が、即時型アレルギーの late phase reaction に関与するメディエータの放出にも関与することが示唆された。

[考察]

[Ca²⁺]i 濃度上昇を促す物質をアレルギー担当細胞である RBL-2H3 細胞に作用させたところ、種々のメディエータ

遊離が促進されることが判明した。メディエータ遊離には、TPA の存在が必要な場合と必要でない場合が存在し、各々 [Ca²⁺]i 上昇のみで十分な場合と、[Ca²⁺]i 上昇及び PKC の活性化を必要とする場合の両者の存在を意味する。いずれにしても、[Ca²⁺]i がひきがねとなるものと思われ、化学物質のアレルギー促進活性を考えるうえで、[Ca²⁺]i 上昇を調べる方法が有用な方法の一つであることが示された。

発表論文

- Kitajima, S., Momma, J., Tsuda, M., Kurokawa, Y., Teshima, R. and Sawada, J.: *Inflamm. Res.*, **44**, 335-339 (1995)
- Akasaka, R., Teshima, R., Kitajima, S., Momma, J., Inoue, T., Kurokawa, Y., Ikebuchi, H. and Sawada, J.: *Biochem. Pharmacol.*, **51**, 1513-1519 (1996)
- Akasaka, R., Teshima, R., Ikebuchi, H. and Sawada, J.: *Inflamm. Res.*, **45**, 583-587 (1996)
- Teshima, R., Onose, J., Ikebuchi, H. and Sawada, J.: *Inflamm. Res.*, **47**, 318-333 (1998)

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

薬理部 紅林秀雄

[目的]

化学物質の中には生体内で代謝的活性を受け生体蛋白・核酸等の高分子に共有結合することで毒性発現の原因になるものがある。また、この化学物質の毒性発現やその代謝にはしばしば動物種差のみられることがある。

1,4-ジクロロベンゼン(1,4-DICB)は、NTP(1987)による2年間の発がん実験で雄性ラットの腎臓と雌雄マウスの肝臓に発がん性を有することが報告された¹⁾。また、ラットでの急性肝毒性は、1,4-DICB より 1,2-ジクロロベンゼン(1,2-DICB)が強く現れることが報告されている²⁾。この肝毒性の位置異性による違い、性差およびラットではなくマウスで肝に発がん性を有するという種差の問題がある。

Tris (2-chloroethyl) phosphate (TCEP) の場合は、16週間の毒性試験における毒性症状はマウスよりラットに強く、また雄性より雌性ラットに強く発現し、ラットでは肝および腎重量増加、脳の海馬の壊死と錐体ニューロンの減少が報告されている³⁾。長期毒性試験では雌雄ラットの腎臓と雄性マウスの肝臓に発がん性が報告されている⁴⁾。

様々な毒性発現の種差の違いの検討課題の一つとして、代謝的活性化を担う酵素チトクロム P450(P450)の分子種の違いが考えられる。多くの化学物質の多種の代謝反応は単一分子種の P450 により行われるのではなく、低い基質特異性をもつ多種の P450 により触媒される。この代謝反応では水溶性の増加した代謝物を生成し、解毒の方向にあ

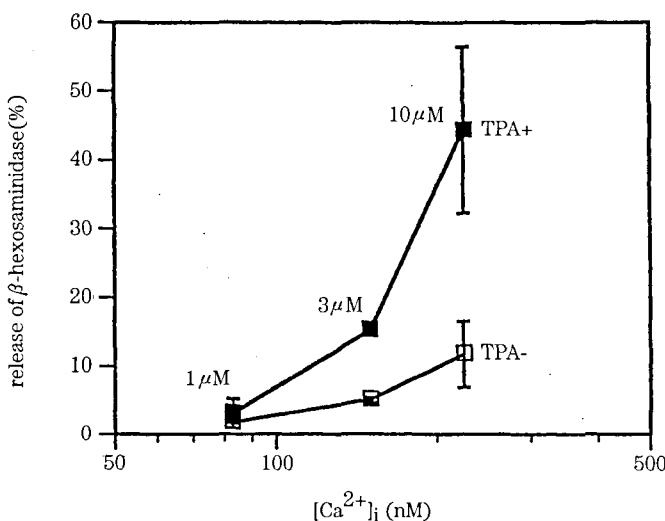


Fig. 2 Relationship between [Ca²⁺]i and release of β-hexosaminidase induced by various concentrations of DTBHQ. Antioxidant concentrations used are shown near the symbols. The total (released and residual amounts of β-hexosaminidase) were taken as 100%. Each bar represents the mean ± SD for the data from 2 or 3 experiments done in duplicate.

ると考えるのが一般的ではあるが、場合によっては活性中間体や活性代謝物を生成することもある。この時、代謝反応性の異なる P450 の分子種と毒性発現との関連性が生ずることになる。

今回、代謝的活性化の種差を簡便に予測する方法を確立させる目的で、上記のジクロロベンゼンおよび TCEP をモデル化合物とし、その代謝速度ならびに代謝的活性化によると考えられる高分子との共有結合量の関連性を *in vitro* の系で検討し、その毒性発現と動物種差との関係を考察した。

[方法]

雄性 F344 ラット及び B6C3F1 マウスの未処理または誘導剤の phenobarbital, 3-methylchranthrene, dexamethasone または acetone 等で処理した動物の肝臓から常法により調製したミクロソームを使用した。リン酸緩衝液 (pH = 7.4) ($MgCl_2$ を含む) に NADPH, 炭素-14 標識したジクロロベンゼンの基質を加え 37°C でインキュベートした。有機溶媒で反応を停止し、ODS 逆相系カラムを用いた HPLC で代謝物を分離し、放射性検出器で定量した。沈澱したタンパク質はメタノール、エタノール、酢酸エチル、エーテルで洗浄後、1N の水酸化ナトリウムで溶解し、液体シンチレーターで測定し、タンパク高分子への共有結合量を計測した。P450 含量は Omura and Sato の法、タンパク濃度は BCA キットを使用した。

¹⁴C-TCEP の場合も同様にラットの肝上清またはミクロソーム画分と還元型グルタチオン (GSH) または NADPH 存在下でインキュベートした後、HPLC を用いて代謝物を分離し、その代謝物の割合から代謝速度を測定した。また上記と同様、タンパク高分子との共有結合量を計測した。

[結果及び考察]

1,2-DICB 及び 1,4-DICB のラット肝ミクロソームでの代謝を検討した結果、1,2-DICB と 1,4-DICB ともに NADPH 存在下の肝ミクロソームにより代謝され、急性肝毒性が強く現れると報告されている 1,2-DICB が代謝されやすく、また多種の代謝物を生成することが判明した。そこで、代謝されやすい 1,2-DICB の代謝を、各種誘導剤で処理したラットのミクロソームを用いて比較検討したところ、その代謝速度は phenobarbital または acetone で処理したラットの肝ミクロソームではコントロールラットの 3~4 倍の速度であった (Fig. 1)。Phenobarbital または acetone でラット肝細胞に誘導される P450 分子種で代謝されることが予測された。

また、この 1,2-DICB および 1,4-DICB はラット肝ミクロソームで代謝される際、その一部はタンパク高分子に共有結合するが、この共有結合量は代謝量の 1/10 程度であること、またこの共有結合は肝毒性の強い 1,2-DICB が高い値を示すことが確認された (Fig. 2)。一方、1,4-DICB のタ

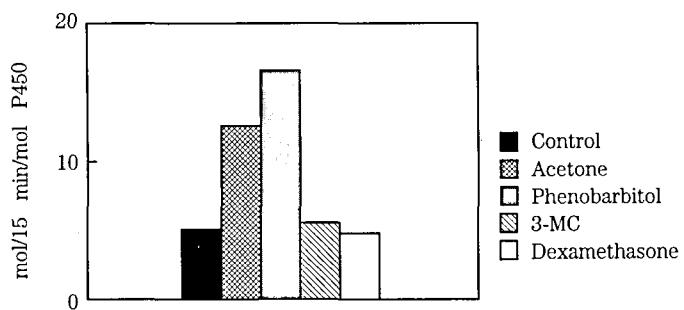


Fig. 1. Metabolic rate of 1,2-Dichlorobenzene by rat liver microsomes

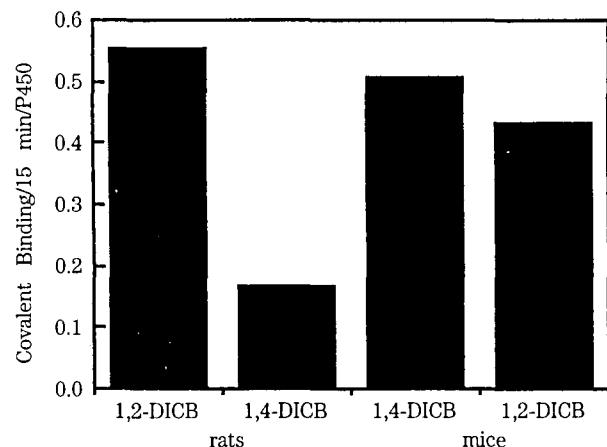


Fig. 2. Covalent Binding of Dichlorobenzenes by rat and mice liver microsomes

ンパク高分子への共有結合量は肝発がん性の認められたマウスの肝ミクロソームでラットより高い値を示すことが判明した。

更に、これらの共有結合は GSH で強く阻害されることが判明した (Fig. 3, Fig. 4)。また、この共有結合はキノンを還元する作用のある還元型アスコルビン酸で阻害され、1,2-DICB より 1,4-DICB の場合に強く阻害されることが確認された。

ハロゲン化ベンゼン類は代謝的活性を受け、不安定なエポキシドを生成し、これがさらにハロゲン化フェノール、ハロゲン化ハイドロキノンやそのキノン体等に代謝されると考えられている。上記共有結合の阻害実験からその活性代謝物は、1,2-DICB の場合はエポキシド、1,4-DICB の場合はそのキノン体であることが予測された。

一方、ラット肝ミクロソームにおける TCEP の代謝速度の場合も、NADPH 非存在下では低く、NADPH 存在下で高い値を示した。その代謝速度は雄性未処理ラットで 1.25 ± 0.32 nmol/mg protein/min であり、phenobarbital 処理でその 4 倍、clofibrate 処理で 2.3 倍、dexamethasone 処理で 1.6 倍、acetone 処理で 1.3 倍、3-methylchranthrene

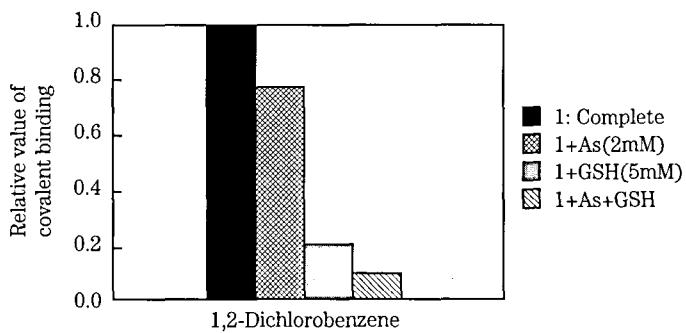


Fig. 3. Effects of ascorbate and glutathione on covalent binding of 1,2-dichlorobenzene to rat liver microsomes

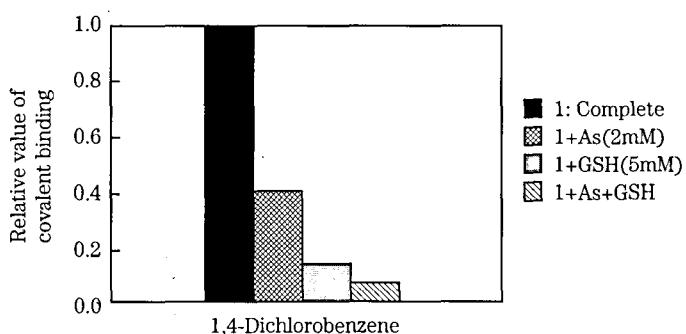


Fig. 4. Effects of ascorbate and glutathione on covalent binding of 1,4-dichlorobenzene to rat liver microsomes

処理で0.5倍の順であった。この代謝速度 nmol/mg protein/min を nmol/g liver/min および mol/mol P450/min で表現した場合の相関係数はそれぞれ $r^2 = 0.941, 0.948, 0.833$ であり、良い相関性を示し、P450 当りの代謝活性での比較は適切であることが確認された。

一方、TCEP は NADPH 存在下並びに非存在下で肝上清またはミクロソームのタンパク高分子と共有結合すること、この共有結合量は代謝量の 1/100程度であること及びこの共有結合の一部は GSH で阻害されることが判明した (Fig. 5)。しかし、この共有結合は NADPH 非存在下で高分子と共有結合すること、共有結合量の GSH で阻害される割合は小さいこと、また誘導ミクロソームを用いたときの代謝速度と共有結合量との相関性は低いこと等が判明している。

TCEP のようなハロゲン化合物は親電子反応で有機化合物と共有結合しやすい性質があること、また TCEP から代謝されて生成し、TCEP の活性代謝物と考えられているアルデヒドのカルボン酸への代謝され易さやアルデヒド本体の反応性の強弱を考慮すると TCEP での共有結合量の GSH による阻害率の小さいことは予測される。

TCEP のラットにおける毒性症状で脳の海馬の壊死と

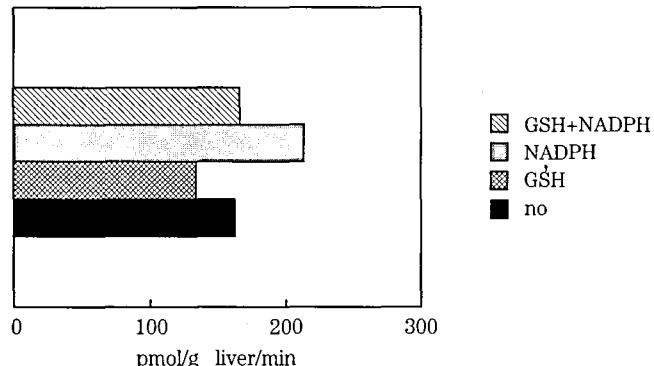


Fig. 5. Covalent binding of TCEP to microsomal protein of rat liver

錐体ニューロンの減少が報告されているが³⁾、その後の TCEP のラットにおける薬物動態試験では、脳の海馬等への特異的分布や蓄積性は報告されていない^{5,6)}。動物実験における毒性発現の部位と薬物動態試験での特異的臓器分布や蓄積性ないしは共有結合性は必ずしも一致している訳ではなく、その現象や原因を持続的に検討していく必要性がある。

今回、ジクロロベンゼンの場合にはそのミクロソームでの代謝量とタンパク高分子との共有結合の関連性が強いこと、一方、TCEP は GSH 存在下及び非存在下で共有結合を生成し、ミクロソームでの代謝速度と共有結合量の関連性も低いことが判明した。即ち、化学物質によってその代謝量と生体高分子への共有結合量の関係は異なることが明らかになった。しかし、それぞれの化学物質の代謝と高分子への共有結合の原因やその関連性を追究していくことで種差と毒性発現機序の解明の一助になると考えられた。

文 献

- 1) NTP TR319 pp.198 (1987)
- 2) Stine, E. R., Gunawardhana, L. and Sipes, I. G.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **109**, 472-481 (1991)
- 3) Matthews, H. B., Dixon, D., Herr, D. W. and Tilson, H.: *Toxicol. Ind. Health*, **6**, 1-15 (1990)
- 4) Matthews, H. B., Eustis, S. L. and Haseman, J.: *Fundam. Appl. Toxicol.*, **20**, 477-485 (1993)
- 5) Herr, D. W., Sanders, J. M., and Matthews, H. B.: *Drug Metab. Disp.*, **19**, 436-442 (1991)
- 6) Yoshida, K., Ninomiya, S., Esumi, Y., Kurebayashi, H., Minegishi, K., Ohno, Y. and Takahashi, A.: *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **43**, p-9 (1997)

迅速かつ鋭敏な病理学的毒性指標に関する検討

病理部 今沢孝喜・西川秋佳・高橋道人

[目的]

化学物質などの毒性を動物を用いて評価する場合、長期間を要する。例えば、強力な発癌物質として知られている 4-Hydroxyaminoquinoline 1-oxide (4HAQO) は、ラット尾静脈内への単回投与では選択的に肺の腺房細胞腫瘍、好酸性病変および好塩基性結節性病変が高率に誘発される¹⁾。しかし、4HAQO によりこれら病変が誘発されるには処置してから一年以上必要とする。一般的に化学発癌物質の癌化の機構は DNA に化学的に共有結合することにより発癌物質-DNA 付加体を形成するといわれており、4HAQO の場合は生体内で O-アルシリル化を受けアデニンおよびグアニンと結合し、複数の DNA 付加体を形成することが知られている²⁾。林らはラット尾静脈内に 4HAQO (10 mg/kg) の単回投与で早期に超微形態学的变化として、末梢神経細胞に核小体分離が誘発されることを報告した³⁾。この誘発された細胞の核小体分離は核小体の構成成分である顆粒部と線維部の分離を特徴とする超微構造変化で、アフラトキシン B1、アドリアマイシンなど、多数報告されている^{4,5)}。上記に示した物質はいずれも DNA 付加体を形成する発癌物質である。そこで、DNA 付加体形成と核小体分離との関係を検索するために以下の実験を行なった。また、DNA 傷害が誘発されると癌抑制遺伝子である p53 が誘導され、apoptosis が促進されることから、4HAQO の標的細胞である腺房細胞において免疫組織化学的に p53 蛋白の発現と apoptosis 細胞の出現を経時的に観察・比較し、さらに腫瘍発生と細胞増殖活性との相関性が高いことから、経時に腺房細胞の細胞増殖活性についても検討した。

[方法]

動物は 6 週齢雄 SD ラットを用い、4HAQO (20 mg/kg) を尾静脈内に単回投与し、経時に 2~72 時間に各 4 匹ずつ屠殺・剖検した。臓器は 4HAQO の発癌の標的細胞である肺を中心とする、副腎および小腸さらに非標的細胞である肝を摘出した。対照群には溶媒のみを投与し、屠殺・剖検した。各臓器は 10% 中性緩衝ホルマリン溶液で固定後、常法に従い H&E 染色を施した。また、一部を 2.5% グルタールアルデヒド溶液で固定し、電顕的に観察した。

I 各臓器を免疫組織化学的に 4HAQO-DNA 付加体に対する抗体を用いて DNA 付加体を検出し、その陽性率と超微形態学的に腺房細胞、肺上皮細胞、副腎皮質細胞、小腸粘膜上皮細胞および肝細胞の核小体分離の出現率を観察し、経時に比較・検討した。

II 4HAQO の主標的細胞である腺房細胞と非標的細胞である肝細胞について、抗 p53 抗体を用いて、免疫組織

化学的に p53 蛋白の発現率と TUNEL 法による apoptosis 細胞の出現率を経時に検索した。

III 4HAQO による腺房細胞の細胞増殖活性について、抗 PCNA 抗体を用いて、免疫組織化学的にその陽性率を経時に検索した。

[結果と考察]

I 4HAQO による DNA 付加体形成と核小体分離

結果を Fig. 1 に各臓器の DNA 付加体形成および核小体分離の出現率を経時に示した。ただし、肝細胞も同様に検索を行ったがこのような変化は認められなかったためこのグラフから除外した。DNA 付加体形成は、特に腺房細胞では 4HAQO 投与 4 時間後で平均約 77% と最も高い陽性率を示し、他の標的細胞では最高 30% 前後であった。肝細胞はほぼ陰性であった。超微形態学的な観察では、標的細胞には核小体分離が観察され、腺房細胞では投与 6 時間後で 47% と最も出現率が高く、他の標的細胞では 10% 前後であったが、肝細胞ではほとんど認められなかった。また、いずれの細胞も核小体以外の細胞質内にはリボゾー

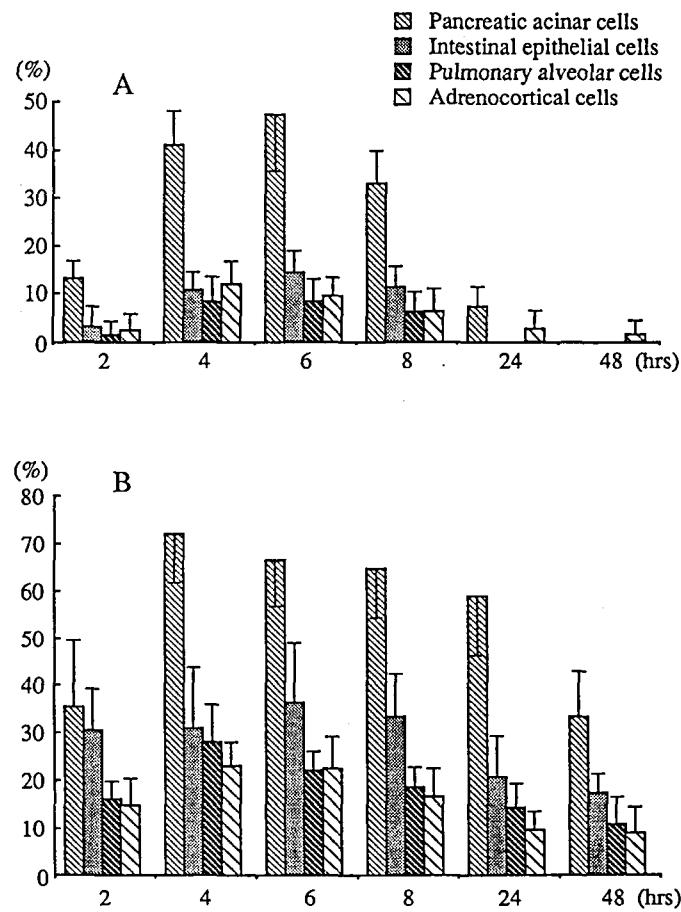


Fig. 1. Summary of sequential changes in nucleolar segregation (A) and 4HAQO-DNA adduct formation (B) for the exocrine pancreas, intestine, lung and adrenocortex of rats treated with 4HAQO. Data represent mean \pm standard deviation.

ムの減少している以外には特徴的な変化は認められなかつた。膵腺房細胞にみられたDNA付加体形成の陽性率および核小体分離の出現率は他の標的細胞よりも全体に高く維持されていた。しかし、いずれの細胞もDNA付加体形成および核小体分離のピークは4から6時間後にみられ、その後漸次減少した。4HAQOにより発癌の標的細胞に誘発されたDNA付加体形成および核小体分離は短時間に回復がみられ、非標的の肝細胞ではほとんど認めることができなかつたことから、核小体分離とDNA付加体形成あるいは発癌との関係が考えられる。以上より、DNA付加体形成と核小体分離の標的性は一致しており、4HAQOは標的細胞のDNAと付加体を形成した後に、核小体の超微構造変化を発現するものと考えられる。現在、genotoxicな発癌物質は標的細胞のDNAと結合することによってその細胞をイニシエートすると考えられており、発癌物質により誘発される核小体分離は核小体におけるrRNA合成阻害の形態的表現と考えられ、その機序としてDNAのtemplateとしての機能障害があげられる。今回の結果から、4HAQOは標的細胞のDNAと付加体を形成し、核小体の超微構造変化を引き起こすものと思われた⁶⁾。化学物質により誘発される核小体分離はDNA傷害の指標となることが示唆された。

II 4HAQOによるp53蛋白の発現とapoptosisの誘発

4HAQO投与動物の膵腺房細胞にp53蛋白の陽性細胞およびapoptosis細胞の出現が観察された。また、apoptosis細胞は同一臓器の電顕的観察により確認された。p53蛋白の発現およびapoptosisの出現率の推移はほぼ同様の経過をたどり、ともに投与24時間後で最も強く観察され、その後p53蛋白は急激に減少したが、apoptosisは遅延して減少した(Fig. 2)。一方、投与群の肝細胞および対照群の膵腺房細胞ではp53蛋白およびapoptosis細胞はほとんど観察されなかった。4HAQOの投与により、発癌の主たる

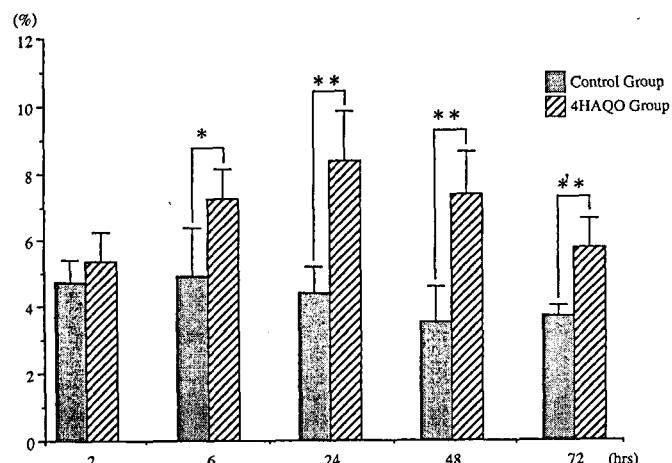


Fig. 3. PCNA contents in pancreatic acinar cells of rats treated with 4HAQO and control rats
Significant at *p < 0.05, **p < 0.01 compared with the control group
Data represent mean ± standard deviation

標的細胞である膵腺房細胞にp53蛋白の発現亢進がみられ、同時にapoptosisも誘発されることが明らかとなった。4HAQOは膵腺房細胞に対し投与4時間後で最も高頻度にDNA付加体形成を示すことから、p53蛋白はDNA損傷を受けた後に発現され、またapoptosisの誘導と深い関与が示唆された。

III 4HAQOによる細胞増殖活性について

4HAQO投与群のPCNA陽性細胞の陽性率は対照群と比較して、投与2時間後では差がみられなかつたが、6時間後以降は有意に高く、陽性率は投与24時間後で最も高く発現した。投与群の肝細胞では細胞増殖活性はみられなかつた。4HAQOの投与により、発癌の主たる標的細胞である膵腺房細胞に細胞増殖活性の亢進がみらることが明らかとなつた。

[まとめ]

本実験で用いた、毒性および発癌性が明らかにされている化学物質の4HAQOは標的細胞のDNAと付加体を形成し、その形態的表現として核小体分離を誘発する。続いて、癌抑制遺伝子であるp53が誘導され、apoptosisを促進するようになり、同時に細胞増殖活性が亢進されることが明らかとなつた。このように化学物質の毒性あるいは発癌作用のメカニズムは上記のように連動して早期に現れることが判明し、細胞や組織レベルで化学物質の毒性あるいは発癌性を予測することが可能である。これらの研究は他の化学物質についても応用できるものと思われる。

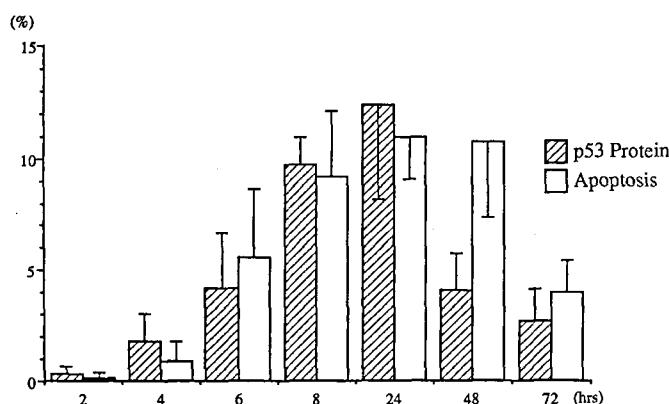


Fig. 2 Summary of sequential changes in p53 protein expression and apoptosis for the exocrine pancreas of rats treated with 4HAQO
Data represent mean ± standard deviation

文献（発表論文を含む）

- 1) Imazawa, T., Furukawa, F., Shibusawa, M., Mitsumori, K., Sato, M., Hayashi, Y. and Takahashi, M.: Correlation between nucleolar organizer regions and cell proliferation in pancreatic acinar cell proliferative lesions in rats. *Pancreas*, **9**, 219-224 (1994)
- 2) Galiègue-Zouitina, S., Bailleul, B. and Loucheux-Lefebvre, M. H.: Adducts from in vivo action of the carcinogen 4-hydroxiaminoquinoline 1-oxide in rats and from in vitro reaction of 4-acetoxiaminoquinoline 1-oxide with DNA and polynucleotides. *Cancer Res.*, **45**, 520-525 (1985)
- 3) Hayashi, Y., Hasegawa, T. and Toyoshima, K.: Nucleolar alterations of alveolar epithelial cells in rats following administration of 4-hydroxiaminoquinoline 1-oxide. *Experimentia*, **27**, 925-926 (1971)
- 4) Svoboda, D., Racela, A. and Higginson, J.: Variations in ultrastructural nuclear changes in hepatocarcinogenesis. *Biochem. Pharmacol.*, **16**, 651-657 (1967)
- 5) Hayashi, Y., Imazawa, T., Kokubo, T., Kurokawa, Y. and Takahashi, M.: Nucleolar alterations of myocardial cells and glomerular epithelial cells in rats after a single administration of adriamycin. *Toxicol. Lett.*, **20**, 105-110 (1984)
- 6) Imazawa, T., Nishikawa, A., Tada, M., Takahashi, M. and Hayashi, Y.: Nucleolar segregation as an early marker for DNA damage; an experimental study in rats treated with 4-hydroxiaminoquinoline 1-oxide. *Virchows Archiv*, **426**, 295-300 (1995)

ラット脱落膜反応を用いた発生毒性に関する組織器官レベルでの検出システムの開発

大阪支所生物試験部 江馬 真・原園 景
宮脇英美子・川島邦夫

[目的]

胎児の器官形成期や周産期における化学物質の暴露によって胎児奇形や生後の児に行行動異常が誘発されることはよく知られており、これらの研究もよく行われている。しかしながら、妊娠初期における化学物質の暴露による受精卵の着床阻害や早期の胚致死についてはあまり注意が払われていない。

不妊交尾によって得られる偽妊娠動物は、通常の妊娠状態と同様な生理状態を示し、妊娠初期における化学物質の母体に対する影響を胚に対する影響と分離して検索するのに好都合である。子宮内膜に受精卵が着床する際の刺激によって惹起される脱落膜反応とその後に形成される脱落膜組織は受精卵の着床及び胚の発育にとって必要不可欠である。妊娠初期における化学物質の有害作用は、偽妊娠動物における脱落膜反応に対する影響を調べることにより検出が可能であると考えられる。

本研究においては、可塑剤として使われている butyl benzyl phthalate (BBP) 及び船底や漁網の防汚剤として使われてきた tributyltin chloride (TBTCl) を用いて、偽妊娠ラットにおける脱落膜反応を用いた胚致死作用検出法の毒性指標としての有用性について検討する。

第一次研究期間においては、BBP 及び TBTCl のラットにおける発生毒性について検討した。

[方法]

1. 動物

Wistar ラットを用いた。動物は飼料 (F-1, 船橋農場) と水道水を自由に与え、室温24 ± 1 °C, 湿度55 ± 5 %, 12-h 明/暗時に調整した動物室で飼育した。成熟雌ラットを雄ラットと一緒に同居した後、翌朝膣垢内に精子を認めたものを妊娠とし、この日を妊娠0日とした。妊娠ラットは実験終了まで個別ケージにて飼育した。

2. 投与

BBP (純度98.2%, 和光純薬) 及び TBTCl (純度98%, アルドリッヂケミカル) はオリーブ油に溶解し、5 ml/kg を経口投与した。投与量はそれぞれの実験結果の項に記載した。

3. 観察

妊娠ラットは妊娠20日（一部のラットでは妊娠7, 9または11日）に開腹し、黄体数、着床数、生存胎児数、吸収・死亡胎児数などを記録した。生存胎児は雌雄の判別後、体重を測定し、外表異常の有無を調べた。約1/3の生存胎児はブアン液に固定した後、内臓異常を検索した。残りの約2/3の生存胎児についてはアルコールに固定した後、骨染色し、骨格異常の検索を行った。

4. 統計処理

一腹毎の値を単位とした。分散分析及び Dunnett の多重比較、Kruskal-Wallis test 及び Mann-Whitney test または Fisher's exact test によって統計処理を行った。

[結果及び考察]

1. BBP の発生毒性

ラットの妊娠7～9日、10～12日または13～15日に750, 1000または1250 mg/kg の BBP を経口投与し、妊娠20日にラットを開腹して胚/胎児に対する影響を調べた。妊娠7～9日、妊娠10～12日または妊娠13～15日のいずれの投与日においても750 mg/kg 以上の BBP 投与により着床後胚死亡率の有意の上昇が認められた。妊娠7～9日及び13～15日の750 mg/kg 以上の投与により奇形胎児の発現率が有意に上昇した。妊娠7～9日の投与後には脊椎骨の欠損や癒合及び肋骨の癒合、妊娠13～15日の投与後には口蓋裂及び胸骨分節の癒合などの奇形が多く観察された。しかしながら、妊娠10～12日投与のいずれの群にも奇形を有する胎児の発現率の上昇は認められなかった。これらの結果から、BBP をラット胎児の器官形成期に投与したときには

胚致死作用及び催奇形性を示し、BBPの発生毒性発現には投与時期特異性があることが明らかになった¹⁾。

着床後の胚致死作用について詳しく検討するために、2%

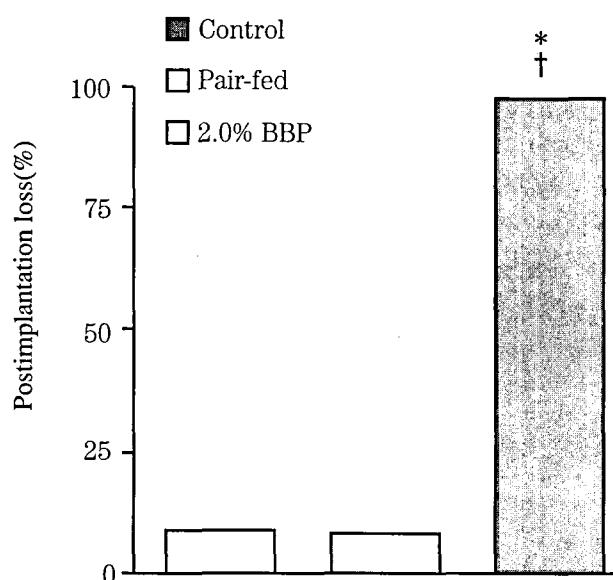


Fig. 1. Postimplantation embryonic loss on day 11 of pregnancy in rats given BBP on days 0-11 of pregnancy.

* Significantly different from the control group, $p < 0.05$.

+ Significantly different from the pair-fed group, $p < 0.05$.

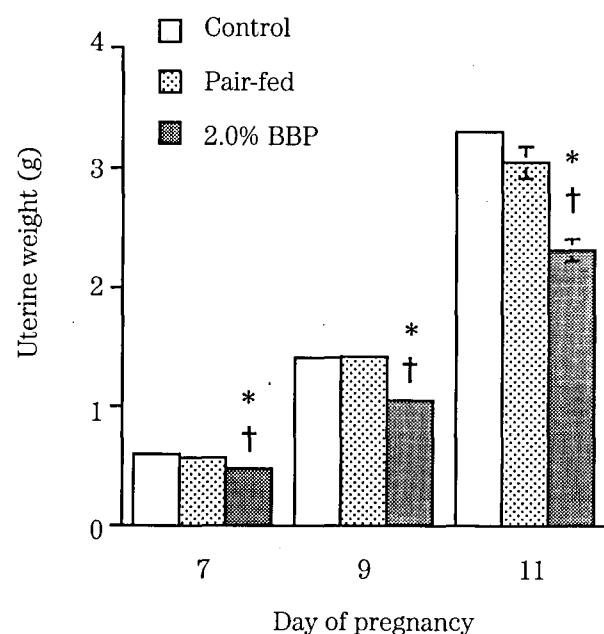


Fig. 2. Uterine weight on day 7, 9, or 11 of pregnancy in rats given BBP on day 0 through the day of sacrifice.

* Significantly different from the control group, $p < 0.05$.

+ Significantly different from the pair-fed group, $p < 0.05$.

のBBPを含む飼料をラットの妊娠0日から与え、妊娠7, 9または11日にラットを開腹して胚に対する影響を調べた。2% BBP群における着床後胚死亡率は著しく上昇し、対照群及びPair-fed群に比べて有意に高くなかった(Fig. 1)。2% BBP群の子宮重量は妊娠7, 9及び11日のいずれにおいても対照群及びPair-fed群に比べて有意に低くなかった(Fig. 2)。これらの結果から、妊娠初期に投与したBBPは著しい胚致死作用を示すことが明らかになった。更に、BBP投与により子宮重量が低下することから、BBPは子宮の脱落膜組織の形成を阻害することが示唆され、これがBBPの胚致死作用の要因の一つであると考えられた²⁾。

2. TBTClの発生毒性

ラットの妊娠7～9日、10～12日または13～15日に25, 50または100 mg/kgのTBTClを経口投与し、妊娠20日にラットを開腹して胚/胎児に対する影響を調べた。妊娠7～9日の25及び50 mg/kg投与群、妊娠10～12日の100 mg/kg投与群において着床後胚死亡率の有意の上昇が認められた。妊娠10～12日の100 mg/kg投与群、妊娠13～15日の25, 50及び100 mg/kg投与群において奇形胎児の発現率が有意に上昇した。口蓋裂が最も多く観察された。これらの結果から、TBTClは胚致死作用及び催奇形性を示すことが明らかになった³⁾。

TBTClの催奇形性について更に詳細に検討するため、100 mg/kgをラットの妊娠7～9日の間の1日に、200 mg/kgを妊娠7～15日の間の1日に経口投与し、妊娠20日に開腹して胚/胎児に対する影響を調べた。妊娠7～11日の間の1日にTBTClを投与したとき、着床後の胚致死作用が有意に上昇した。口蓋裂を有する胎児の頻度は妊娠8, 11, 12, 13または14日にTBTClを投与したときに有意に上昇し、妊娠13日の投与後に最も高くなった。これらの結果から、TBTClの催奇形性は胎児の器官形成期の間の1日に投与することにより、3日間の投与に比べてより明確になり、TBTClの催奇形性は妊娠8日及び妊娠11～14日の二相性の感受期を示すことが明らかになった⁴⁾。

TBTClの胚致死作用について詳しく検討するため、8.1, 12.2または16.3 mg/kgのTBTClをラットの妊娠0～7日に経口投与し、妊娠20日に開腹して胚/胎児に対する影響を調べた。妊娠率はTBTCl投与により低下し、12.2及び16.3 mg/kg投与群では対照群に比べて有意に低くなかった。着床前胚死亡率は12.2及び16.3 mg/kg投与群において有意に高かった(Fig. 3)。しかしながら、着床の認められたラットにおいては黄体数、着床数、着床前及び着床後胚死亡率にTBTCl投与群と対照群との間に差はみられなかった。これらの結果から、妊娠初期のTBTCl投与により、着床阻害(着床前胚致死)が惹起されることが明らかになった⁵⁾。

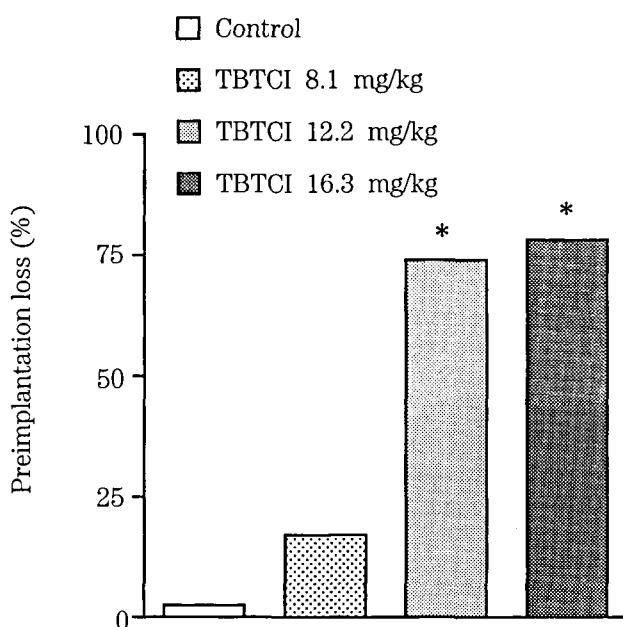


Fig. 3. Preimplantation embryonic loss in rats given TBTCl on days 0-7 of pregnancy.

* Significantly different from the control group, $p < 0.05$.

TBTCl の生殖障害作用について更に検討するために、8.1, 16.3, 32.5 または 65.1 mg/kg の TBTCl をラットの妊娠 0~3 日または妊娠 4~7 日に経口投与し、妊娠 20 日に開腹して胚/胎児に対する影響を調べた。妊娠 0~3 日に TBTCl を投与したとき、16.3 mg/kg 以上の投与量で着床前胚死亡率が有意に上昇した (Fig. 4) が、いずれの投与群における着床後胚死亡率共対照群との間に差はみられなかった。妊娠 4~7 日の投与では、65.1 mg/kg 投与群において有意に高い着床前胚死亡率が認められ (Fig. 5)、また 16.3 mg/kg 以上の投与量で有意に高い着床後胚死亡率が観察された (Fig. 6)。これらの結果から、TBTCl による生殖障害作用は投与時期によってその強さと発現様式が異なることが明らかになった⁶⁾。

以上に示したように、BBP 及び TBTCl 共に妊娠ラットに投与したとき、投与時期によって発生毒性の感受性と発現様式が異なることが明らかになった。更に、妊娠初期に投与したときには著しい生殖障害を示すことが明らかになった。第二次研究期間においては、BBP 及び TBTCl の偽妊娠ラットにおける脱落膜反応に及ぼす影響について検討し、胚致死作用の検出系としての有用性について検討する。

発表論文

- 1) M. Ema, R. Kurosaka, H. Amano and Y. Ogawa: Comparative developmental toxicity of n-butyl benzyl phthalate and di-n-butyl phthalate in rats. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **28**, 223-228 (1995)

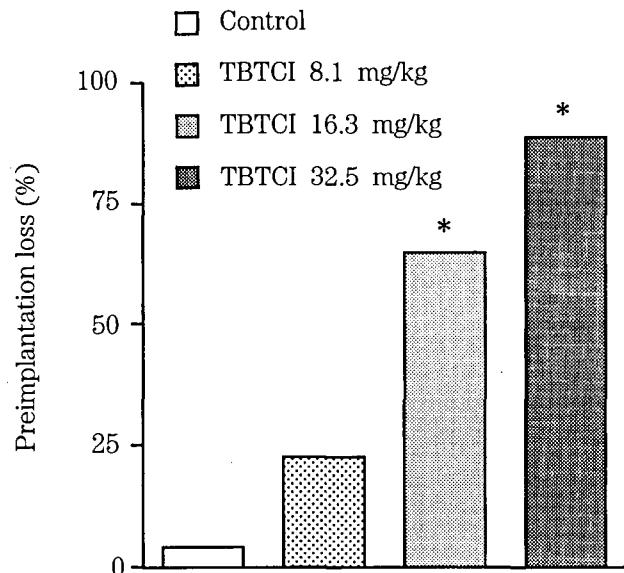


Fig. 4. Preimplantation embryonic loss in rats given TBTCl on days 0-3 of pregnancy.

* Significantly different from the control group, $p < 0.05$.

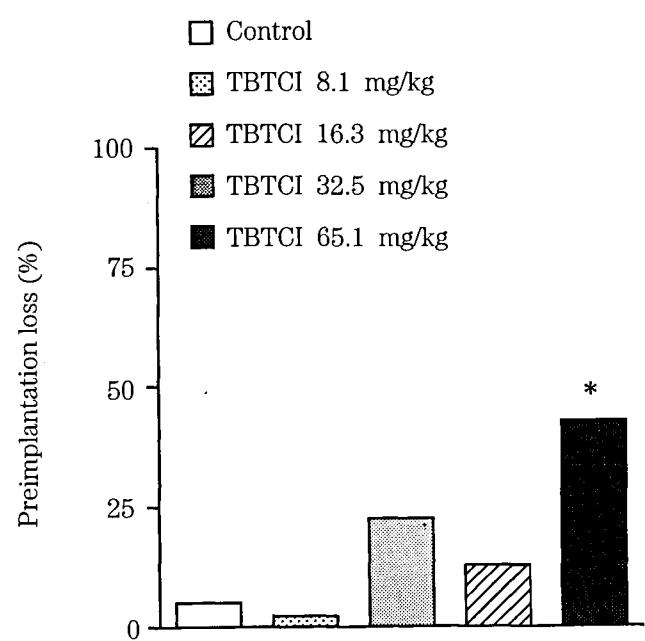


Fig. 5. Preimplantation embryonic loss in rats given TBTCl on days 4-7 of pregnancy.

* Significantly different from the control group, $p < 0.05$.

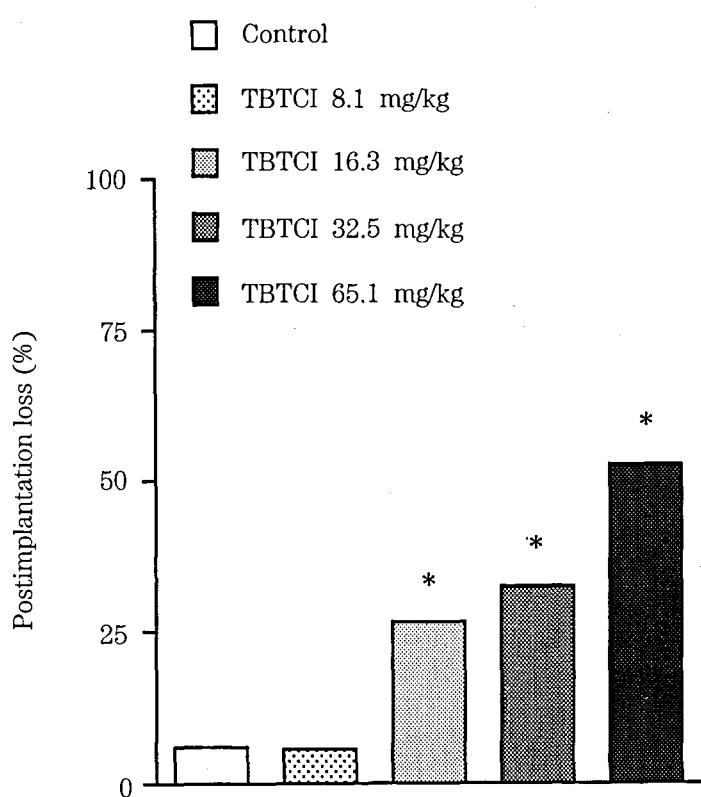


Fig. 6. Postimplantation embryonic loss in rats given TBTCI on days 4-7 of pregnancy.

* Significantly different from the control group, $p < 0.05$.

- 2) M. Ema, R. Kurosaka, H. Aamno and Y. Ogawa: Embryolethality of butyl benzyl phthalate during early pregnancy in rats. *Reprod. Toxicol.*, **8**, 231-236 (1994)
- 3) M. Ema, R. Kurosaka, H. Amano and Y. Ogawa: Further evaluation of the developmental toxicity of tributyltin chloride in rats. *Toxicology*, **96**, 195-201 (1995)
- 4) M. Ema, A. Harazono, E. Miyawaki and Y. Ogawa: Effect of the day of administration on the developmental toxicity of tributyltin chloride in rats. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **33**, 90-96 (1997)
- 5) A. Harazono, M. Ema and Y. Ogawa: Pre-implantation embryonic loss induced by tributyltin chloride in rats. *Toxicol. Lett.*, **89**, 185-190 (1996)
- 6) A. Harazono, M. Ema and Y. Ogawa: Evaluation of early embryonic loss induced by tributyltin chloride in rats: phase-and dose-dependent antifertility effects. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **34**, 94-99 (1998)

平成 9 年度業務概要

所 長 寺 尾 允 男

平成 9 年 7 月から国立衛生試験所の名称を国立医薬品食品衛生研究所（略称：国立衛研）に変更するとともに、本研究所にセンター長のもと 3 部45名体制の医薬品医療機器審査センターを設置し、医薬品、医療機器の審査の高度化、効率化を進めている。

試験研究業務

当研究所の業務目的は、医薬品、食品・食品添加物、医療用具、生活環境中の化学物質などの品質、安全性、有効性を適切に評価するための研究、調査及び行政試験を行うことにある。

平成 9 年度に行った研究の成果として紙上発表した原著論文数は237編であった。これらの論文の著者、表題、要旨等については本誌271～308ページにまとめてある。また、平成 9 年度に行った主要研究テーマは371～376ページに示してある。

国際共同研究

当所は多くの国際機関等と連携し、国際共同研究を進めている。以下にそれらの主なものを示した。

1. 経済協力機構（OECD）化学品プログラム
2. 国際化学物質安全計画（IPCS）
3. 国際化学物質安全性フォーラム（IFCS）
4. 日米欧医薬品承認審査ハーモナイゼーション国際会議（ICH）
5. 中国天津薬品検査所技術プログラム（JICA）
6. 日米二国間科学技術協力

国際協力

国際交流としては、厚生行政に関連する国際会議への専門家としての参加、国際学会あるいは外国の学会での発表及び招待講演、並びに外国人研修生に受け入れなどが主なものである。

平成 9 年度海外派遣研究者は延べ157名であった。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51名、JICA 等のプロジェクトによる外国への技術指導等11名のほか、延べ89名が行政に関連する国際会議への出席者であった。国際会議への出席者内訳は ICH 28 名、IPCS 9 名、OECD 11 名、FAO/WHO 合同会議 5 名、その他であった。

外国人研究者及び留学生の受け入れは20名であった。

関連集会

7 月 10 日につくば国際交流センターにおいて薬用植物栽培技術の向上と関係者の交流を目的とした、第 7 回薬用植

物栽培技術フォーラムを開催した。

第34回全国衛生化学技術協議会は11月13日、14日茨城県衛生研究所・美譽志 康所長を年会長として、水戸市において開催された。内分泌搅乱化学物質に関する特別講演、食品分野の GLP に関するパネルディスカッション及び食品、環境、薬事並びに家庭用品の分科会において会員の発表のほか、自由集会がもたれ活発な討論が行われた。

人事異動

平成 8 年 3 月 31 日の人事異動で小川義之大阪支所長の生物試験部長併任解除に伴い、4 月 1 日に川島邦夫生物試験部長が発令された。

医薬品医療機器審査センターの設置に伴い、7 月 1 日付で首藤紘一センター長（東京大学薬学部教授併任）、福山圭一企画調整部長、平山一男審査第一部長及び池谷壯一審査第二部長が発令された。

小川義之大阪支所長、高橋道人病理部長、嶺岸謙一郎代謝生化学部長、中館正弘総合評価研究室長、柴田 正食品試験部長が平成 9 年 3 月 31 日をもって退官した。

総 务 部

部 長 長 田 守

1. 組 織

平成 8 年 7 月、エイズ問題等を契機に医薬品による健康被害の再発を防止するため、薬事行政全般の見直しが行われ、これに伴い平成 9 年 7 月 1 日付をもって「国立医薬品食品衛生研究所」に名称を変更し、医薬品医療機器審査センターを新設することとなった。

2. 定 員

平成 8 年度末の定員は261名であったが、平成 9 年度は、医薬品医療機器審査センターの新設に伴う定員増として45名、第 9 次定員削減計画に基づき研究職 1 名、並びに行政職（一）1 名、計 2 名の定員削減により、平成 9 年度末の定員は、指定職 2 名、行政職（一）46 名、専門行政職 39 名、行政職（二）19 名、研究職 198 名、計 304 名となった。

3. 予 算

平成 9 年度の予算の概要は次のとおりである。

(1) 一般予算

予算額は、4,678,859千円で前年度に比較して332,456千円（8.8%）の増額が図られた。

増額、減額の主な項目としては、

- | | |
|---|-----------|
| ① 増員要求に伴う経費の増 | 239,561千円 |
| ② 経常事務費の研究費の増（研究員当積算単価アップに伴う増@1,375千円→@1,400千円） | 8,674千円 |

- ③ 特別研究費の増（新規課題「生物システムに作用する化学物質の機能と3次元構造相関の解明」に伴う増7,987千円，第二次研究課題「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」に伴う増953千円，終了課題に伴う減△7,274千円） 1,666千円
- ④ 施設管理事務経費の増（北海道試験場けん引自動車交換差金に伴う増8,492千円，庁舎管理費のうちボイラー技師メンテ振替1人→2人に伴う増7,091千円，その他消費税率アップ等による増1,105千円） 16,688千円
- ⑤ 総合化学物質安全性研究費の増（安全性点検体制支援システム経費70,916千円→72,096千円，生活環境暴露開発等研究費23,928千円→31,724千円） 8,994千円
- ⑥ 研究情報活動基盤整備費の増（研究情報ネットワークシステム基盤整備費21,506千円→21,902千円，研究情報整備費13,381千円→23,115千円，情報を基盤とする化学物質安全性国際協力事業費42,276千円→42,911千円） 9,765千円
- ⑦ 摘出インプラント用具の適合性解析法研究費の減（データベース開発費の増537千円，備品費の減△15,472千円） 14,835千円
- ⑧ 遺伝子治療薬の品質，安全性等確保のための基盤研究費の増（新規事項） 33,546千円
- ⑨ 医薬品医療機器審査センターに必要な経費の増（新規事項） 479,190千円

等が挙げられる。

(2) 移替予算

予算額は、163,725千円で前年度に比較して4,692千円(3.0%)の増額となった。

新規課題としては、国立機関公害防止等試験研究費が、1課題（遺伝子工学技術を用いた環境汚染物質の健康影響評価方法の開発・確立に関する研究19,523千円），国立機関原子力試験研究費が、2課題（放射線照射を受けた医用材料の表面解析と細胞機能影響評価に関する研究9,950千円，放射線及び化学物質による細胞障害機構の検討とリスクアセスメント系の開発「遺伝子改変動物におけるテロメア及びテロメアーゼの変化を指標にした研究」10,493千円）認められた。

なお、平成9年度事項別予算額は別紙のとおりである。

4. 施設整備状況

平成9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 伊豆筑波薬用植物栽培試験場
ガラス温室新築工事

5. 国立医薬品食品衛生研究所標準品交付規程の一部改正

国立医薬品食品衛生研究所標準品交付規程の一部改正に

より、医薬品等試験用標準品「ペオニフロリン標準品」，「低分子量ウロキナーゼ標準品」，「酢酸レチノール標準品」及び「パルミチン酸レチノール標準品」を追加し，「安息香酸エストラジオール標準品」外9品目を(財)公定書協会に委譲した。

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91品目、色素試験用標準品38品目、計129品目となった。

6. 移転関係

(1) 本所

昭和63年7月19日の閣議決定（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）、東京都庁及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、早く平成11年度の特定国有財産整備特別会計要求に向けて留保地の全体利用計画策定（東京都、府中市及び当所の三者協議）に着手可能となる見込みである。

(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、騒音及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ないこと。
- ③ 更に、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、厚生科学課を中心として開発事業の進行に並行して具体的な検討を進める予定としている。

別紙

平成 9 年 度 予 算 額

事 項	平成 8 年度	平成 9 年度	対前年度差 引増△減額 (B)-(A)	備 考
	(A)	(B)		
(組織) 厚生本省試験研究機関	(千円)	(千円)	(千円)	
(項) 厚生本省試験研究所	3,882,889	4,678,859	795,970	
国立衛生試験所に必要な経費	3,670,134	3,992,590	322,456	
既定定員に伴う経費	3,670,134	3,992,590	322,456	
人件費	2,339,990	2,358,311	15,686	
人員要求に伴う経費	2,342,625	2,358,311	15,686	
増員要求に伴う経費	0	239,561	239,561	
人件費	0	237,982	237,982	
人当経費	0	1,579	1,579	
研究費	0	0	0	
経常事務費	303,910	312,584	8,674	
人当経費	7,677	7,575	1,477	
一般事務経費	45,687	46,479	792	
研究費	242,580	250,422	7,842	
官庁会計事務データ通信システムに必要な経費	7,966	8,108	142	
特別研究費	16,412	18,078	1,666	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 (10,091千円) 2. 生物システムに作用する化学の機能と3次元構造相関の解明 (7,987千円)
標準品製造費	46,830	46,288	△ 542	
安全性生物試験研究センタ－運営費	206,224	207,433	1,209	
薬用植物栽培試験場運営費	101,832	103,399	1,567	
施設管理事務経費	85,487	102,175	16,688	
受託研究費	166,955	165,277	△ 1,678	1. バイオテクノロジー応用医薬品の評価技術の開発 (6,954千円) 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 (20,497千円) 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 (14,926千円) 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 (13,760千円) 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 (4,971千円) 10. 薬用植物の科学的研究 (13,757千円) 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 (32,000千円)

事 項	平成 8 年度 (A)	平成 9 年度 (B)	対前年度差 引増△減額 (B)-(A)	備 考
	(千円)	(千円)	(千円)	
乱用薬物基礎研究費	19,103	19,142	39	1.2. 神経系の機能・病態の解析 と医療への応用 (13,853千円) 1.3. 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 (13,871千円) 1.4. 代謝調節機能に及ぼす環境 要因の解析 (2,060千円) 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 (19,142千円)
総合化学物質安全性研究費	123,552	132,546	8,994	1. 安全性点検体制支援システム 経費 (72,096千円) 2. 安全性試験法開発等研究費 (28,708千円) 3. 生活環境暴露評価基盤研究 費 (31,742千円)
移転調査検討費 共同利用型高額 研究機器整備費 培養生物資源保存管理 基盤整備費 研究情報活動費基盤整備費	2,673 99,399 41,429 78,163	2,673 101,233 41,711 87,928	0 1,834 282 9,765	1. 研究情報ネットワークシステム基盤 整備費 (21,902千円) 2. 研究情報整備事業 (23,115千円) 3. 情報を基盤とする化学物質 安全性国際協力事業 (42,911千円)
抽出イノント用具の適合性 解析法研究費 遺伝子治療薬の品質、安全性 等確保のための基盤研究費	35,540 0	20,705 33,546	△ 14,835 33,546	
(項) 血清等製造および検定費 医薬品の国家検定及び 検査等に必要な経費 一般事務経費 事業費 医薬品医療機器審査センター に必要な経費	121,707 121,707 12,916 108,791 0	602,106 602,106 12,925 109,991 479,190	480,399 480,399 9 1,200 479,190	
(項) 厚生本省試験研究所施設費 国立衛生試験施設整備費経費	91,048 91,048	84,163 84,163	△ 6,885 △ 6,885	伊豆薬用植物栽培試験場ガラス温室新設工事
(移替予算)				
(組織) 厚生本省試験研究機関	159,033	163,725	△ 4,692	
(項) 国立機関公害防止等 試験研究費	64,326	68,961	4,635	
(項) 国立機関原子力試験研究費	94,707	94,764	57	
	3,931,439	4,041,922	110,483	

* 予算額については両年度とも当初予算額

薬 品 部

部 長 小 嶋 茂 雄

概 要

平成9年度にも、昨年度に引き続いだ、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について試験・研究を実施した。しかしながら、平成9年7月に当所内に医薬品医療機器審査センターが設置されたこと、ここ2、3年の間に、厚生省の研究予算のシステムが変わり、基礎研究の部分だけでなく、各課がもつ研究費の枠を行政的に必要な研究に振り向けてきた指定研究的な部分も、医薬安全総合研究事業や生活安全総合研究事業などといった形でまとめられて、大型で公募型のものとなつたこと、省庁再編の動きの中で、エージェンシー化など国の試験研究機関の再編が進められようとしているなど、当所を巡る状況は大きく変化している。こうした状況の下で、薬品部の業務も見直しが迫られており、従来の品質規格や製剤評価に関する研究にとどまらず、ソリブジン事件を契機に大きくクローズアップされた薬物の相互作用など、医薬品の安全性、適正使用に関する問題などについても研究できる体制を早急に整える必要があると思われる。

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、経口や非経口の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明らかにして、ヒトへの外挿性に優れた*in vitro* 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解明することにより、その安定性を予測し得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に関する研究などを行った。また、麻薬および依存性薬物に関する研究では、血液、尿、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、ならびに薬物乱用の原因究明への毛根の利用に関する基礎的研究などを行った。

人事に関しては、高橋一徳主任研究官が、平成10年3月31日付けで定年退職された。昭和35年以来の37年間の長きにわたって当所において職務に精励され、所の発展に尽くされてきたことにお礼を申し上げる。

高橋氏の後任には、4月1日に昭和薬科大学博士課程修了の坂本知昭氏を迎えることができた。今後の活躍を期待するものである。

また、平成9年4月から、科学技術特別研究員として、小村純子さんが第一室においてヒトにおける医薬品のバイ

オアベイラビリティを評価し得る *in vitro* 試験系の確立に関する研究に取り組んでいる。

長期の海外出張に関しては、平成7年9月からの2年間、米国コロラド大学薬学部・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ていた伊豆津技官は、平成9年11月に多くの研究成果を挙げて帰国した。

短期の海外出張については、次のとおりである（なお、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関連の海外出張については、業務成績5. 国際協力の項を参照していただきたい）。

小嶋部長、青柳室長および鹿庭主任研究官は、ICH4準備会議および本会議（品質分野）に出席するため、ベルギーに出張した（平成9年7月）。

吉岡室長および鹿庭主任研究官は、米国薬剤学会第11年会（平成9年11月）における研究発表のため、米国に出張した。

中原室長は、第35回国際法中毒学会・法中毒領域のキャピラリー電気泳動研究会（平成9年8月）および第5回国際治療用ドラッグモニタリング・臨床毒物学会（平成9年11月）において研究発表を行うため、イタリアおよびカナダに出張した。また、国連の生体試料中の幻覚剤の同定・定量に関する専門家会議に出席するため、スペインに出張した（平成9年11月）。

業務成績

1. 特別審査試験

新薬139件について試験した。

2. 一斉取締試験

インドメタシン徐放顆粒5件について試験した。

3. 特別行政試験

あへん中のモルヒネの含量について試験を行い、医薬安全局麻薬課に報告した（国産あへん24件、輸入あへん97件、合計121件）。

4. 標準品の製造

次の向精神薬標準品を製造した：

塩酸シュードクロロエフェドリン (12.0 g)

5. 国際協力

国際厚生事業団の第8回必須医薬品製造管理研修（平成9年10月）に協力して、アジア諸国の医薬品製造管理者に対する研修を行った。また、同事業団主催の不正医薬品対策国際セミナー（平成10年3月）に協力した。

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平成9年度の研修員として平成9年6月3日に来日した中国天津市薬品検査所の屈穎薬師は、国立医薬品食品衛生研究所（薬品部）における6ヶ月間の毒薬・麻薬分析に関する研修を終えて、平成9年11月30日帰国した。

小嶋部長は、昨年に續いて、同プロジェクトの巡回指導

調査団の一員として、中国天津市薬品検験所を訪問し、プロジェクトの進捗状況を視察するとともに、技術協力を進める上での問題点ならびに今後の計画について中国側と協議した（平成9年8月）。

吉岡室長は、同プロジェクトの短期専門家として中国天津市薬品検験所に出張し、医薬品の安定性に関する技術指導を行った（平成9年10月）。

また、石橋室長は、同プロジェクトの短期専門家として中国天津市薬品検験所に出張し、医薬品の機器分析に関する技術指導を行うとともに（平成9年7～9月）、国際厚生事業団および国際協力事業団の後援により中国天津市において開催された天津偽劣医薬品対策セミナー（平成9年9月）に協力した。また、同プロジェクトの機材修理班とともに同検験所に出張し、これまでの4年間に同プロジェクトにより検験所に供与された分析機器の作動状況について点検し、必要な修理を行った（平成10年4月）。

6. その他

中央薬事審議会の各種調査会における審議（医薬安全局審査管理課および安全対策課）、日本薬局方の改正作業（医薬安全局審査管理課）、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（医薬安全局審査管理課）、地方衛生研究所技術者講習会（医薬安全局監視指導課）、麻薬および乱用薬物に関する情報収集（医薬安全局麻薬課）ならびに日本工業規格（JIS）の改正作業（通商産業省）などに協力した。

また、後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドラインを作成し、公表した（医薬安全局審査管理課）。

研究業績

1. 医薬品の分析法に関する研究

イミダゾール系の外用抗真菌剤について迅速分析法を作成した（医薬安全局監視指導課委託研究費）。

キャピラリー電気泳動を用いて、他種成分配合の消化器用薬中のアルジオキサおよびL-グルタミンの分析法を検討した。

希少疾病（熱帯地域からの輸入寄生虫症）用の未承認医薬品であるオルニダゾール錠、フロ酸ジロニキサンド錠、メフロキン錠、硫酸キニーネ錠、リン酸クロロキン錠およびリン酸プリマキン錠の「規格及び試験方法」を開発整備した。これにより治験薬として供給する希少薬の品質確保が可能となった（厚生科学研究費補助金）。

指定検査機関の試験検査結果の信頼性確保のために、精度管理（案）の検討を行った（医薬安全局監視指導課委託研究費）。

「一般用医薬品の試験法（上、下）」（薬業時報社、東京、1997）を刊行し、地方における医薬品の承認審査の質の向上と均一化に資した。収載した医薬品は、鎮咳去痰薬、鎮暁薬、ビタミン主薬製剤、鼻炎用点鼻薬、鼻炎用内服薬、

滴下薬、眼科用薬、浣腸薬、驅虫薬、胃腸薬および外用痔疾用薬である（厚生科学研究費補助金）。

平成5～7年度に開発した不正医薬品の鑑別試験法を英訳して製本化した「*Rapid Examination Methods against Counterfeit and Substandard Drugs*」（薬業時報社、東京、1997）を用いた実習を、中国天津市（1997年9月、参加人員：約50名）および東京（1998年3月、参加人員：中国4名、タイ2名、ベトナム1名、フィリピン1名）で行った。その結果、開発した鑑別試験法が開発途上国においても実用可能であることが確かめられた（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

第十三改正日本薬局方に収載の参照赤外吸収スペクトルの問題点（塩の形をした医薬品における臭化カリウム錠剤調製時の塩の交換など）について検討した。

日本薬局方一般試験法の定性反応名をIUPAC命名法に準拠した名称に改めた。また、米国薬局方（USP）および欧州薬局方（EP）と整合した残留溶媒試験法（ガスクロマトグラフ法を用い、ヘッドスペース法ならびに直接注入法により試験を行う）を作成し、日本薬局方調査会理化学試験法委員会に提案した（厚生科学研究費補助金）。

3. 医薬品の有効性、安全性に関する薬剤学的研究

リン酸コデインは、イヌの消化管内攪拌強度をヒトレベルにまで低下させるが、錠剤の胃排出速度に影響しないこと、および、回転透析セル法により、*in vivo*における徐放顆粒の下限の放出速度を予測できることなどを明らかにした（HS財団受託研究費）。

溶出試験装置の振動を検出し得る新しいカリブレータを開発し、その妥当性を検証すると同時に、新しい溶出試験の判定基準案を作成した。また、生物学的同等性評価へのポピュレーションファーマコカイネティックスの有用性をシミュレーションにより示した（生物学的同等性の評価に関する研究費）。

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医薬品製剤の有効期間を設定するための前提条件として、安定性の包装および処方間変動を評価する方法を確立した（HS財団国際共同研究費）。

デキストランやポリビニルアルコールなどを添加剤とした牛血清 γ -グロブリンおよびビリルビンオキシダーゼの凍結乾燥製剤について、製剤の分子運動性が高分子添加剤の種類や分子量によって変化し、その分子運動性によってタンパク質の安定性が支配されることを明らかにした（創薬科学総合研究費）。

リゾチームや牛血清アルブミンなどのサイズの異なる薬物について、ハイドロゲルからの放出速度がゲル高分子のスピニースピノ緩和時間で表される分子運動性とFree Volume Theoryから導かれる理論式によって予測できる

ことを明らかにした（HS財團受託研究費）。

γ線照射によってデキストラン、ポリアスパラギン酸、ゼラチンなどを構成成分とする生分解性ハイドロゲルを調製することができた。いずれの高分子においてもゲルの架橋度を調節することによって、薬物放出速度を制御できることを明らかにした（国立機関原子力試験研究費）。

5. 麻薬および依存性薬物に関する研究

幻覚剤 MDMA をラットに投与して毛根を採取し、毛根中での挙動を経時的に追跡した。その結果、MDMA 急性中毒事故の証明に毛根が利用できることを確認した。併せて、薬物と代謝物の比と死亡経過時間との間に相関性を見出した。また、覚せい剤原料のエフェドリンの毛髪からの検出法を検討し、高感度分析法を確立した。

エンジェルダスト（PCP）の使用を確認するため、ヒト毛髪中から、PCP および2つの代謝物 PCPH と PCP-diol を同時に検出・定量する試験法を確立し、米国での乱用者の毛髪からそれらを同時に検出した。

4種の興奮剤系向精神薬（Fenproporex, Mefenorex, Methcathinone, Pyrovalerone）について、呈色反応、薄層クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー、液体クロマトグラフィーならびにガスクロマトグラフ/質量分析を行い、これらの測定結果に基づいて、分析マニュアルを作成した（医薬安全局麻薬課委託研究費）。

覚せい剤の喫煙により副生するN-アシル体の行動薬理試験を行い、マウスおよびラットにおいて、覚せい剤と同等以上の興奮作用を確認した。

生物薬品部

部長 早川堯夫

概要

遺伝子治療薬の安全性確保基盤技術に関する研究を推進した。細胞治療薬やトランスジェニック動物由来医薬品の品質・安全性等確保のための研究を開始した。従来のバイオ医薬品に加えて、次世代バイオテクノロジー応用生物薬品に対応するための先端的基盤研究、評価科学研究への貢献が始まっている。生物薬品につながる生産基材（遺伝子、細胞、動物等）の調製法、生産技術（培養/飼育、精製等）の至適化、生産物（タンパク質、核酸、細胞等）の構造・特性解析法など、いずれもが急速に進展する先端技術や科学的成果の多面的、重層的な組み合わせの結晶としてある。そのまた集大成である個々の生物薬品の評価は、すべて難度の高い応用問題となるが、問題を解くための鍵は、いかなる内容と質の科学的基盤を蓄積して、それらをいかに有機的に活用できるか、未知への洞察力をいかに発揮して新たなコンセプトの創出に導けるか、問題をいかに社会科学

的に位置づけて思考できるか、などにある。

ICH活動では、細胞基材から製品規格設定に至る主要なトピックスに関する国際調和文書の作成作業が一段落した。薬局方の国際調和作業もそれなりの進捗状況にある。

審査センターの発足により、部をより高度な研究活動の場とするべく歩み始めた1年であった。

人事面では、森本和滋第1室長が平成9年7月1日付けで主任研究官に配置換えとなり、医薬品医療機器審査センター審査第1部審査管理官併任となった。新見伸吾主任研究官が平成9年7月1日付けで診断用医薬品室長に昇任した。川崎ナナ主任研究官が平成10年2月1日付けで第1室長に昇任した。新見伸吾診断薬室長が、平成10年1月26日～2月6日に開催された人事院第19回行政研修に参加した。科学技術振興事業団重点研究支援協力員として平成9年11月1日付けでナディア・エル・ボライ氏に代わって日向須美子氏が派遣された。同じく科学技術振興事業団重点研究支援協力員として平成10年4月1日付けで小木美恵子氏に代わって日向昌司氏が派遣された。

海外出張は以下の通りであった。早川部長：ICH4に向けてのバイオテクノロジー医薬品の品質に関する専門家会議およびICH4に出席（ベルギー、平成9年7月10日～7月20日）、中国天津医薬品検査技術プロジェクト第4回中医薬品分析セミナー講演等（中国、平成9年9月21日～26日）、ICHバイオテクノロジー医薬品の品質に関する専門家会議に出席（米国、平成10年1月31日～2月8日）、医薬品生産における動物血清使用問題をめぐる国際シンポジウム等に出席（フランス、平成10年5月2日～5月10日）；山口照英第2室長：ICH4に向けてのバイオテクノロジー医薬品の品質に関する専門家会議およびICH4に出席（ベルギー、平成9年7月10日～7月20日）；川西徹第3室長：ICH4に向けてのバイオテクノロジー医薬品の品質に関する専門家会議およびICH4に出席（ベルギー、平成9年7月10日～7月20日），ICHバイオテクノロジー医薬品の品質に関する専門家会議に出席（米国、平成10年1月31日～2月8日）；渡部明子研究員：遺伝子治療ベクターに関する国際カンファレンスに出席（ベルギー、平成10年3月10日～3月16日）。

業務成績

1. 特別審査 22件
2. その他。

第13日本薬局方改正に伴う業務、中央薬事審議会各種調査会・部会、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（いずれも医薬安全局審査管理課）、GMP評価委員会（医薬安全局監視指導課）、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）、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) エレクトロスプレーイオン化液体クロマトグラフ質量分析法 (ESI-LC/MS) を用いた糖鎖構造解析法の確立を検討し、ESI-LC/MS によってモデル糖タンパク質リボヌクレアーゼBおよびフェツイン由来糖鎖の構造を解析できることを示した (HS 財団受託研究費)。

ii) ESI-LC/MS によるエリスロポエチン (EPO) のペプチドマッピング法は、ペプチドと糖ペプチドを同定でき、さらに各糖ペプチドを結合糖鎖の違いにより分離できることから、糖鎖の部位特異的分子多様性の簡便・迅速な解析法として有用であることを明らかにした (HS 財団受託研究費)。

iii) 異なる3種の組換えヒト型EPO製剤を用いて、糖鎖含有タンパク製剤の糖鎖部分の品質評価試験法におけるHPAEC-PADの有用性を検討し、HPAEC-PADはEPOの糖鎖をシアル酸結合数および分岐構造の違いによって解析できることを確認した (HS 財団受託研究費)。

iv) FACEを用いて4種のヘルパーT細胞表面のN-結合型糖鎖を解析し、糖鎖の相対的含量に差があることを見出した (HS 財団受託研究費)。

v) ガングリオシドGD1_aの癌転移抑制機構を解明することを目的としてGD1_aの細胞運動抑制効果を指標にGD1_aの標的分子を探査し、HGFあるいはHGF受容体c-metが標的分子の一つであることが示唆された (HS 財団受託研究費)。

vi) 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、ヒトトロンボモジュリンの共通力価測定法の確立と力価(単位)の統一、標準品候補の設定を行った (HS 財団受託研究費)。

vii) バイオテクノロジー応用医薬品の生物活性の評価法の開発に関して、DMSO処理したヒト白血病HL-60細胞の増殖性を指標としてG-CSFの生物活性を測定する系を確立した。

2. 医薬品の有効性と安全性に関する生物化学的研究

i) 多形核白血球機能の分子機構並びに各種薬剤の有害作用発現に関する生化学的研究の一環として、L-plastinの多形核白血球の活性酸素産生系の活性化における役割を明らかにするために、L-plastinを認識する抗体を作製した。

ii) 血栓溶解剤t-PA投与後の血管再閉塞の原因とされているプラスミンによる血小板凝集について検討し、プラスミンによる血小板凝集がADP分解酵素であるapyraseに高感受性であることを見いだした (HS 財団受託研究費)。

iii) 創薬研究のため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、マイクロ秒レベルの時間分解能で心筋細胞のカルシウムスパーク現象や電気刺激によるカ

ルシウム上昇を高分解能で画像化し、細胞内膜系のカルシウムチャネルの開口を捉えることに成功した (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生物化学的研究

i) K562細胞の赤芽球分化誘導因子に関する研究の一環として、K562細胞に対するアクチビンAの作用を検討し、アクチビンAは、酪酸とは異なる作用機構によって赤芽球分化を誘導することが示唆された (厚生科学研究費補助金)。

ii) 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、G-CSFによるHL-60細胞の好中球への機能分化の促進作用をGM-CSFが阻害することを見いだした。また、HL-60細胞の好中球への機能分化において、p70S6キナーゼが抑制的な作用を持つことを明らかにした (HS 財団受託研究費)。

iii) ホルモン・サイトカイン等の情報伝達に関与する転写因子STATのリン酸化による制御について検討し、STAT3のセリンリン酸化はSTAT3の活性化に関与するチロシンリン酸化に対して負の制御を行っている可能性を示した。

iv) 細胞内のタンパク質リン酸化現象の画像化をめざして、src-homology領域を含むポリペプチドの蛍光標識化を行った (文部省科学研究費補助金)。

v) ホルモン等の作用発現に関与する諸因子に関する研究の一環として、初代培養ラット肝細胞におけるハービマイシンAによるグルココルチコイド受容体の減少に関与するプロテアーゼについて探索を行った。

4. 先端技術を利用した生体成分関連医薬品の有用性確保に関する基礎的研究

i) 膜融合リポソームの遺伝子導入特性解析の一端として血球系培養細胞との反応性を解析し、monocyte系、T lymphoma系の細胞と効率よく融合すること、B lymphoma系細胞、erythroid系細胞とは融合しにくいことを見いだした。膜融合リポソームは、融合能の程度に関係なく、これら細胞との結合能を有していると考えられた (厚生科学研究費補助金)。

ii) 遺伝子毒性を持たない新規遺伝子治療用ベクターとしてEBVベクターの複製システムについて検討し、ヒト染色体断片を組み込むことによりベクターの核内安定性が増すことがわかった (厚生科学研究費補助金)。

iii) フォトニクス技術を利用して高度化をとげた細胞内生化学現象の画像化法を用いて、培養海馬ニューロンのグルタミン酸処理による細胞障害過程を解析し、高濃度グルタミン酸による不可逆的カルシウムイオン濃度上昇には、カルシウムイオン非依存性の細胞膜カルシウムイオン透過性亢進が関わることを明らかにした。また肝細胞内では

pH 萤光プローブ carboxySNARF-1 から、共焦点レーザー顕微鏡による pH 画像化に適した蛍光特性を示す物質が生成することを明らかにした (HS 財団受託研究費).

iv) ヒトの遺伝子等を導入したトランスジェニック動物由来細胞を、生体応用を目的とした製品として利用する場合の安全性・品質確保に必要となる諸要素、評価手法について検討した (厚生省委託研究 診断用生物学的製剤等基準作成費).

v) トランスジェニック動物を利用して製造される医薬品の製造技術の状況を把握するとともに、医薬品製造の観点から、製造に利用される動物を作製・維持・管理する上での留意事項及び製品の品質、有効性、安全性を確保するのに必要な評価技術を検討した (厚生科学研究費補助金).

5. 診断用医薬品に関する基礎的研究

i) 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、肝疾患モデルラットを用いフォリスタチン mRNA 測定の肝毒性指標としての有用性について基礎的な検討を行った (厚生省特別研究).

ii) アシアロ糖タンパク質受容体の消長を指標にした肝疾患の診断法の開発とその応用として、肝疾患モデルラットにおける血中アシアロ糖タンパク質受容体の変動について検討した (科学技術庁国立機関原子力試験研究費).

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・試験法の基礎研究及び生薬成分、天然物有害物質の化学的試験及び安全性の試験、生薬薬理学的研究を行った。薬局方の生薬の微生物限度値に関する研究を行っている。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天津医薬品検査技術プロジェクト、フィリピンの薬局方への技術援助及び日本と中国との二国間での薬局方の生薬分野でのハーモナイゼーションを開始した。

行政との対応では、13改正日本薬局方第一追補の作成試験、いわゆる合法ドラッグの生薬類の解明、国際調和の観点からのハーブの規制緩和に関する基原植物及び安全性に関与する成分の検討を行った。

代田修研究員が平成 9 年 4 月 1 日付で採用され、当部に配属された。鈴木英世室長が平成 9 年 9 月 30 日付で退職し、関田節子主任研究官が第二室長に任命された。樋口行人氏を平成 10 年 4 月 1 日付で定員外職員として採用した。近藤俊哉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 9 年 4 月 1 日から平成 10 年 3 月 31 日まで受け入れ、小出達夫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 10 年 4 月 1 日から受け入れ、下村裕子氏を客員研究員として引き続き受け入れた。中国から天津医薬品検査技術プロジェクトで Lu Shuhua(呂曙華)氏 (平成 9 年 6 月 17 日から 6 か月間) を研修員として受け入れた。

二国間共同研究のため中国から中華人民共和国衛生部薬典委員会の Liu Xing Chang(劉興昌)氏 (標準品第三室責任者)、薬品生物製品検定所中藥室の Zhang Nan Ping(張南平)氏及び Lu Jing(魯靜)氏、天津市薬品検査所中藥室 Lu Gui Bao(呂帰宝)氏を平成 10 年 1 月 25 日から 1 月 31 日まで受け入れ、当部主催の薬局方生薬に関する日中國際共同研究シンポジウム (1 月 27 日、28 日) で討議を行った。科学技術庁特別研究員として、日中の生薬および生薬製剤の規格試験の研究のため Lin Rui Chao(林瑞超)氏を平成 10 年 2 月 13 日～3 月 29 日の 45 日間受け入れた。重点基礎研究基礎研究費の国際共同研究「アレルギーの治療に関する薬用植物の研究」のための専門家として、インドの S.N. Yoganarasimhan 氏を平成 10 年 3 月 6 日から 3 月 30 日まで、フィリピンの F.M. Dayrti 氏を平成 10 年 3 月 22 日から 3 月 27 日まで、それぞれ受け入れた。

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 9 年 8 月 17 日から 8 月 22 日まで中国に出張し、韓国医薬品食品研究所の第 1 回医薬品食品の安全性に関するシンポジウム参加のため 10 月 14 日から 10 月 17 日まで韓国に出張し、WHO 西太平洋事務局での伝統薬の普及に関する会議出席のため 12 月 7 日から 12 月 13 日までフィリピンに出張し、フィリピン薬局方作成のための事前調査のために平成 10 年 2 月 24 日から 3 月 4 日までフィリピンに出張した。尾崎幸紘室長は、平成 9 年 5 月 24 日から 6 月 21 日まで国際協力事業団中国天津医薬品検査技術プロジェクトの短期専門家として天津に出張した。関田節子室長は、日中医学協会留学生制度 10 周年記念シンポジウム出席のため平成 9 年 12 月 4 日から 12 月 7 日まで中国に出張した。小野主任研究官は平成 9 年 12 月 14 日から 12 月 28 日まで、HS 財団国際共同研究の実施のためフランス、リヨン市の国立健康医学研究所 (INSERM) に出張した。川原信夫主任研究官、鎌倉浩之研究員、代田修研究員、酒井英二研究員は、科学技術庁二国間共同研究のため平成 9 年 12 月 4 日から 12 月 10 日まで中国に出張した。

業務成績

いわゆる合法ドラッグとして、市場の流通品に違法のものがないかを検査した。検体は 9 府県の 35 品目で、その内容表示生薬に含有されていると考えられる成分 (カフェイン、ヨヒンビン、カワイン) および取り締り対象となる成分 (エフェドリン系アルカロイド、ステロイドホルモン、

ハルミン、シロシビン) の合計 7 種の化合物群に関して成分分析を行った。この結果、半数以上のドラッグよりカフェインが検出され、一部のドラッグよりカワワインの存在が示唆された。一方、催幻覚作用物質であるハルミン、シロシビン、また各種ステロイドホルモン、ヨヒンビンおよびエフェドリン系アルカロイドは検出されなかった。

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

13改正日本薬局方第一追補のニンジン、ニンジン末、センナ、センナ末、コウジンの 5 品目に残留農薬を記載するための規格作成を行った。

国立衛生試験所標準品の製造で、支所薬品試験部と、ペオニフロリンの規格設定を行った。

大麻の成分変種を分子生物学的手法により分類・同定する目的で、麻薬種、中間麻薬種および纖維種、近縁植物よりゲノム DNA を抽出し、RAPD 分析および RFLP 分析を行い、この方法が鑑別に応用できるかの研究を行った(厚生科学研究)。

ii) 生薬の化学的品質評価の研究

サイコに含まれる主成分のサイコサポニン類の HPLC による同時定量法を検討、確立した。さらに、この時必要となる生薬成分定量用サイコサポニン a, c, d の規格を設定した。また、この方法によりサイコ配合生薬製剤中のサイコサポニン類を定量した(ヒューマンサイエンス官民共同研究)。

生薬、生薬製剤への照射による滅菌効果、含有成分への影響を HPLC、GC-MS により検討した。カット生薬37種 80 検体粉末生薬13種13検体に10, 20, 30, 60 KGy で γ 線照射し、細菌、真菌、芽胞菌に対する滅菌効果を検討した。カンゾウ 2 検体、ウイキョウ 2 検体、シャゼンソウ 1 検体、カゴソウ 1 検体に抵抗性の菌が観察されたが、その他の生薬の滅菌は10 KGy 以下で可能であった。成分に関しては、ダイオウ、シャクヤク、センナ、ウイキョウ、ケイヒの 5 つの生薬について検討をしたところ、60 KGy までの照射線量では大きな変動は認められなかった(科技庁・原子力)。

2. 生薬に関する基礎的研究

(2-1) 生薬の化学的研究

i) 有用な薬理活性をもつ新たな植物の探索とその利用

ペルー産生薬 Hercampuri の成分検索を行い、ジクロロメタン抽出エキスより 1 種の新規セスタルペノイド誘導体を単離、構造決定した。

ブラジル産生薬 Canale de cheiro について IL-2 遺伝子発現増強活性を指標に成分検索を行い、活性成分として 1 種の新規ナフトキノン誘導体を単離、構造決定した。

沖縄産薬用植物サルカケミカンおよびホソバワダンのメ

タノールエキスの生理活性について検討した。

ii) 菌類生薬の活性成分検索と科学的分類に関する研究

Piri-piri の内生菌 *Balansia cyperi* の成分検索を行い、ジクロロメタン抽出エキスより 1 種の新規化合物を単離、構造決定した。

iii) 菌類生薬の活性成分検索と科学的分類に関する研究

Trichoderma 属 10 菌株の保存条件による成分代謝への影響を、前年度構造決定した 2 種の新規化合物を中心に HPLC で解析し、現条件での安定性を確認した(厚生科学研究・健康地球環境)。

iv) 生薬資源の保存と保護に関する研究

北海道から沖縄までの全国を対象に、薬局方・局外生薬規格に収載されている生薬基原種の野生植物の分布図の作成を行っている(厚生科学研究・健康地球環境)。

v) 化学物質の機能と三次元構造相関に関する研究

三次元構造を明らかにするために Cheatoglobosin 誘導体の NMR 測定及び理対構造解析を行った(特別研究)。

(2-2) 生薬の薬理学的研究

i) 有用な薬理活性をもつ新たな植物の探索とその利用

中国及び日本において、炎症の治療に用いられている処方の構成生薬である連翹の 70% メタノールエキスの経口投与で認められた抗炎症作用の活性成分をマウスでの酢酸誘発色素透過性亢進の抑制作用を指標に検討した。抗炎症活性はメタノールエキスを水とヘキサンで分配して得られたヘキサン可溶画分に移行し、脂溶性成分であることが示唆された。

紫根に含まれる光学異性体成分の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組織学的变化を免疫染色法により検討した。両化合物の局所投与後、5 日において TGF- β 反応細胞のマクロファージや单球等の浸潤細胞や α -smooth muscle actin 反応する新生血管が多数観察された。一方、10 日においてはこれら細胞に変わって纖維芽細胞の増生が認められた(HS 研究)。

ii) エンドセリン受容体脱感作の分子機序の解析および、エンドセリンによる洞房結節ペースメーカー電位調節機序に関する電気生理学的解析を、昨年度に引き続き行った(HS 創薬科学研究)。心筋症ハムスターの原因遺伝子を明らかにした。また、心筋症の発症機序に関する電気生理学的解析を行った(HS 研究)。

iii) 脳卒中易発症高血圧自然発症ラットにおける腎臓の病理組織学的検索と生化学的検査を行い、七物降下湯の効果を検討したところ、腎臓の高血圧性病変を組織学的及び機能的に改善することを明らかにした(厚生科学研究・長寿)。

療 品 部

部 長 中 村 晃 忠

概 要

HS 財団流動研究員・王 春仁博士は1999年3月末まで契約を更新し、「人工臓器材料の長期間安全性評価に有用な指標に関する基礎的研究」に従事している。また、1997年12月より、医薬品機構から Md. Abu Sayed 博士が研究課題「組織工学で用いる基礎骨格材料の前臨床評価に関する研究」を行うために当部に派遣された。さらに、1997年9月、神奈川歯科大学・熊田秀文講師を客員研究員として迎え、当部と共同で「成人性歯周炎に関する基礎的研究および薬物開発への応用」研究を実施している。

以下に記す療品部の業務、研究はいずれも重要な課題である。そのレベルも、極めて行政的なものから基礎的なものまでにまたがっている。テーマも広い範囲にわたっており、一見、バラバラに見えるが、どれも必然性があり、役に立つものである。多方面からの要請、研究費獲得の拘束、あまりに少ない定員、個々人の適性、などの制約下で精一杯やっていると断言できる。流動する外部状況に適応する姿かもしれない。

業務成績

1. 家庭用品関係

例年通りに、当部は家庭用品に係わる毒性試験の計画と評価に関する事務、分析法作成、試験物質の純度検定と動物飼料中の安定性試験、細胞毒性試験を担当した。本計画は20年以上続いているもので、発足当初は療品部に家庭用品第2室として毒性試験を担当する室が増設された（毒性部と併任）経緯がある。その後、当該部門は毒性部に移管されたが、家庭用品の毒性試験は主に毒性部で引き続いて実施された。平成3年に、試験実施の体制（外部機関への委託も含む）と試験費用を考慮した計画の見直しが行われ、従来の網羅的な試験実施計画を変更し、ティア・アプローチを採用して、試験の質の向上と計画の慢性的な遅れを解消することが関係者（生活化学安全対策室を含む）間で合意された。しかしながら、最近、再び遅れが出始めた。再検討を要する。

なお、平成9年度の分析法設定及び細胞毒性試験品目は下記の通りである。

分析法設定：抗菌剤 2種：3,4,4'-trichlorocarbanilide, isobornylthiocyanacetate

細胞毒性試験：抗菌剤 4種：3-iodo-2-propynylbutylcarbamate, 10,10'-oxy-bis(phenoxyarsine), p-chlorophenyl-3-iodopropargylformyl, 1-bromo-3-ethoxy-carbonyloxy-1,2-diiodo-1-propene

2. 標準化と国際調和

i) 医療用具関係国際標準化機構技術委員会(ISO/TCs)への参加：ISO/TC194/WG2 & 14「生体内分解；材料同定」(Rockville, 1998.1, 中村)；ISO/TC194「医療用具の生物学的評価」(Alexandria, 1998.5, 中村, 土屋)；ISO/TC172/SC7「眼鏡及び眼科用機器」(Stockholm, 1998.3, 土屋)；ISO/TC150「外科用インプラント」(Singapore, 1997.10, 佐藤)

ii) 医療用具関係 ISO/TC 国内審議委員会への参加：次の各 TC 国内審議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」；TC150「外科用インプラント」；TC198「ヘルスケア用品の滅菌」；TC45「ゴム製品」；TC210「ヘルスケア製品に関する一般事項」

iii) 国際調和に資するための研究（厚生科学研究費）：食品薬品安全センター、ラジエ工業、大阪大学、京都大学が主体となって、以下のような国際調和に有効なインフラ整備をはかっている：(1)日本のガイドラインで設定した細胞毒性試験用標準材料（陽性対照 2種、陰性対照 1種）を国際標準とするための ISO/TC194/WG5 メンバーによる共同実験；(2)放射線滅菌の線量決定法のための日本のバイオバーデン調査；(3)ISO/TC194, ISO/TC150 関係委員会のホームページ開設。当部は、これらの事務局を担当した。

iv) 医療機器センター「医療用具に係わる基準のあり方等に関する検討委員会」に参加し、(1)医療用具のクラス分類の再検討；(2)薬事法42条に基づく基準の取り扱い；(3)医療用具の基本要件、などについて審議してきた。(1)については本年3月に実現した。また、(2)の一部も廃止や他の形の基準として改訂される方向が決まった。(3)は現在詰めの段階に入っている。

v) 厚生科学研究赤松班「医療用具の臨床試験のあり方に関する基礎的調査研究」に参加して、日本の医療用具 GCP と ISO 14155 や EN540 との調和について考察した。

研究業績

1. 天然ゴムラテックスによる即時型アレルギーに関する研究

天然ゴムラテックス中の塩基性 β -1,3-グルカナーゼが糖鎖構造を有するイソ酵素群からなることを確認した。また、患者の IgE 抗体によるこの酵素の特異的な認識に、糖鎖部分が重要な役割を果たしていることを明らかにした。さらに、この蛋白質の部分アミノ酸配列が、ラテックスアレルゲン Hev b 2 の配列に一致することを示した（厚生科学研究費）。

2. 天然由来医用材料の生物学的安全性評価に関する研究

天然由来医用材料としてラテックス製品に注目し、5種

類のラテックス製手術用手袋と2種類のラテックス製カテーテルの発熱性を検討した結果、1種類の手術用手袋と両カテーテルに有意な発熱性を認めた(厚生科学研究費)。

3. 歯科用レジンなどの安全性に関する研究

唾液中の十数 ppb レベルのメタクリル酸メチル(MMA)の定量法を開発した。この方法を利用して、数種の常温重合レジンによる義歯床使用時に患者の唾液へ溶出する MMA 量を測定した。その結果、溶出量は非常に微量であることがわかった(厚生科学研究費)。

4. 高分子材料による異物発癌の素因の解析と短期検索法の開発

in vitro 実験系でポリウレタン(PU)によって癌化した細胞のコネキシンは、磷酸化修飾を受け、その細胞間連絡機能は有意に低下していた。この磷酸化には、PU のハードおよびソフトセグメントによる protein kinase の活性化が関与していることが明らかとなった。種々の装飾 PU を調べた結果、N-sulfonylalkyl 化 PU で細胞間連絡阻害活性が激減することが分かり、生体適合性の優れた材料の候補とした(HS 受託研究費)。

5. 細胞工学的手法を用いた医用高分子材料の開発に関する研究

表面を種々の蛋白で修飾したポリエチレン上、あるいは細胞培養用ディッシュで初代細胞を培養した培地を回収し、細胞分化実験を行ったが、これらの培地による細胞分化への影響はみられなかった。すなわち、蛋白修飾の細胞・材料相互作用への直接影響が細胞分化の正常化の要因であることが分かった(経常研究費)。

6. QOL を指向した生体融和材料の新創出に関する研究

種々の粒径を持つポリスチレンおよびポリエチレン粒子を用いて、粒子が細胞間連絡機能に与える影響を検討した。その結果、細胞播種前に、細胞より小さな粒子をディッシュ底面に吸着させた場合のみに機能阻害が認められ、粒子による阻害には細胞が認識する方向が重要な意味を持つ可能性が示唆された。さらに、粒子径が小さいほど機能阻害活性が大きくなることが明らかとなった(科学技術振興調整費・総合研究)。

7. 放射線照射をうけた医用材料の表面解析と細胞機能影響評価に関する研究

ポリ乳酸に γ 線をあてた結果、線量に応じて分子量が低下した。マウス骨芽細胞では、 γ 線照射した高分子量ポリ乳酸による毒性や骨分化促進作用は検出されなかつたが、低分子量ポリ乳酸では骨分化促進作用が明らかとなつた(原子力研究費)。

8. 金属酸化物微粒子の生体適合性評価に関する研究

生体適合性耐摩耗性材料評価の一環として、チタンなどの金属材料の表面に生成する金属酸化物とその微粒子を評

価した。ルチル型およびアナーゼ型酸化チタン微粒子は両者共に同程度の細胞間連絡阻害作用を示した(科学技術振興調整費・知的基盤研究)。

9. 発生毒性物質の *in vitro* 試験に関する研究

人工関節材料に含まれるバナジウムの発生毒性を評価した結果、強い軟骨分化阻害作用とギャップ結合阻害作用が明らかとなった。眼内レンズなどに添加される UV 吸收剤の中で、HMPBT がギャップ結合阻害作用を示したが、コネキシン蛋白を解析した結果、磷酸化修飾を受けていることが明らかとなった(特別研究費)。

10. インプラント用具の適合性解析法開発に関する研究

医用材料データベースを Windows で稼働するように変更し、テストデータを入力した。整形外科インプラント、眼内レンズなどのモデル用具を選び、当該学会に依頼して用具使用状況調査および摘出事例データベースの作成を開始した。摘出眼内レンズの保存・輸送方法を検討すると共に、物理・化学的分析を試行し、分析方法を検討した。医療用具の不具合報告のデータベースを試作し、500件以上のデータを入力した(インプラントデータシステム開発研究費)。

11. マススペクトロメトリーを用いたペプチド化合物の分析に関する研究

硫酸化チロシン残基が、分子内のみならず分子間でも Arg 残基と共役酸塩基対を形成し安定化することを、LSI-MS 法や MALDI-TOF-MS 法を用いて示した。この結果は、チロシン残基の硫酸化により促進される分子間相互作用の化学的なメカニズムを示唆するものである(経常研究費)。

12. 化学分析のデータ解析に関する研究

液体クロマトグラフの送液ポンプのノイズは主音と倍音からなることが分かった。ポンプノイズがある場合でも、FUMI 理論を用いて精度予測が可能であることを示した。イオンクロマトグラフィーの日常点検にも、FUMI 理論是有用であることを示した(HS 創薬科学総合研究費)。

13. 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

種々の 2-mercaptopbenzimidazole(MBI)誘導体を合成し、その皮膚感作性強度と交差反応性を調べた。これらの誘導体は交差反応することが明らかとなった。また、皮膚感作性強度はラジカル捕捉反応速度定数とは相関しないことが分かった(家庭用品等試験検査費)。

14. 家庭用品による接触皮膚炎等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; 症状)。

1) 皮革製時計バンド: *p-tert-butylphenol formal-*

dehyde resin (接着剤成分) ; アレルギー性接触皮膚炎

- 2) プラスチック製眼鏡フレーム : ペリノン系染料 CI. Solvent Orange 60 ; アレルギー性接触皮膚炎
3) 合成皮革製椅子の表地 : 有機ヒ素系抗菌剤 10,10'-oxy-bis(phenoxyarsine) ; アレルギー性接触皮膚炎

15. 接触アレルゲンに関するデータベース

日本接触皮膚炎学会より刊行されている接触アレルゲン解説書に関して、家庭用品に関する化学物質の内、染料について文献調査を行い、日本語版の原案作りを進めている（家庭用品等試験検査費）。

16. スプレー製品による急性中毒事故防止に関する研究

フッ素樹脂、シリコーンオイルを配合した防水スプレーによる急性中毒事故が1997年に13件発生した。事故品と非事故品とを対比させながら、噴霧粒子径（粒子径 $10\mu\text{m}$ 以下の粒子存在率）、付着率、スプレー使用模擬条件によるマウス毒性試験結果を検討した。その結果、これらの試験を併用した安全性評価法の有用性が再確認された（厚生科学研究所費）。

17. 組織細胞工学技術を用いた医療材料・用具の有効性、安全性、品質評価方法に関する研究

新しい技術製品である、いわゆる Tissue Engineering 製品が健全に発展するために必要な制度、支援体制、ガイドライン、などの整備の提言を行うことを目的とするもので、平成9年度は規制枠組みの考え方に関する提言を行った（厚生科学研究所費）。

18. 減菌保証に使用する指標菌 (BI) の D 値に培地組成が与える影響に関する研究

減菌保証にあたり培地組成のばらつきに起因して細菌の増殖能が変動することが報告されており、実験でも確認された。それゆえ培地成分のなにがばらつきに寄与しているのかを調べた。大豆ーカゼイン消化物 (SCD) 液体培地の場合は培地メーカー間、ロット間による増殖能の変動は顕著ではなかった。SCD 液体培地と SCD 固形培地の間では菌抵抗値(D 値)に ISO 11138 で許容されている以上の差が認められた。現行の ISO 11138 では、SCD 液体培地も SCD 固形培地の使用も認められている。それゆえ培地の選択に拘り減菌保証を失敗する可能性があり、減菌保証の際に培地の選択が重要な要因となる（厚生科学研究所費）。

19. 感染性廃棄物中間処理における新技術の有効性および安全性に関する評価研究

大気汚染を惹起する焼却処理の代替法として、近年、米国を中心に急速に普及してきた高周波処理装置の処理有効性と安全性に関する評価研究を行った。また、諸外国における医療廃棄物処理ガイドラインを調査し、微生物不活性化レベルの基準値や生物指標など、新処理技術を評価するために必要な各種項目を選定し、我が国における「感染性

廃棄物中間処理新技術評価に関するガイドライン(案)」の作成に寄与した（厚生科学研究所費）。

環境衛生化学部

部長 安藤 正典

概要

平成9年度における生活環境関連の研究業務は多岐にわたった。室内空気に係わる課題では、昨年6月にホルムアルデヒドの室内濃度指針値が示された。また、同時に総揮発性有機化合物の指標について、化学物質の室内濃度指針値等の検討の必要性について、化学物質過敏症について等の報告が出された。これら一連の検討を受けて室内空気関連での研究や対策が進む方向性が示された。また、昨年から実施を始めた暴露評価研究は2年度に入り、室内空气中揮発性有機化合物の居住環境での存在状況の調査を全国衛生化学協議会の衛生研究所の協力を得て実施、貴重な情報を得ることが出来た。

水道関連では、昨年に引き続き、水質基準の改定やWHO飲料水検討未規制物質について実態調査を行った。金属類では、ヒ素、ウラン、アルミニウム等のWHOでの検討項目について研究を行った。有機化合物では、農薬類、多環芳香族炭化水素類、非イオン界面活性剤、及び自然毒であるミクロシスチン等について水道で問題として発生する要因やその実態調査を全国規模で実施した。

「暴露評価」研究では、リスクアセスメント研究の一つで、製造段階での発生源から廃棄に伴う環境中への放出までで、ヒトが経口的、経気的あるいは経皮的に暴露する化学物質の総量を把握して健康影響を評価するものであるが特に、室内での存在量や個人暴露量等の情報の収集と整理し、暴露実態の解明及び暴露評価法と暴露予測の研究を行うものとして揮発性化合物類について検討した。更に、インド-日本2国間科学技術共同研究では地下水ヒ素汚染の暴露評価研究のため、インド国での共同研究実施機関の調査を行った。

経皮的暴露による課題では、皮膚機能に及ぼす影響として化学物質の免疫機能に与える影響及び経皮吸収の課題について検討した。また、化粧品・医薬部外品及びそれらの原料については品質確保に関する試験研究、有用性及び安全性に関する基礎的研究を行った。

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カ所（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、浮遊粒子状物質、ホルムアルデヒド) 並びに自動車交通量(霞ヶ関)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. 化粧品・医薬部外品関係

化粧品に添加されていることが禁止されている成分であるハイドロキノンモノベンジルーテル及び d -マレイン酸クロルフェニラミンの試験法を作成した(厚生省医薬安全局審査管理課)。

3. 水道水質関係

WHOの飲料水水質ガイドラインの改訂作業に伴う我が国の飲料水水質基準の見直しのため、多環芳香族炭化水素類、未規制農薬類、EDTA、ウラン等の無機物、ミクロキスチン等の測定方法の確立と実態調査及びそれらの毒性データの試料の収集を行った(厚生省生活衛生局水道整備課)。

水道水質検査の精度管理の在り方について検討し、将来への提言を作成した(厚生省生活衛生局水道整備課)。

研究業績

1. 建築物内空気質の衛生管理基準の設定に関する研究

1) 建材・機械等の揮発性有機化学物質に関するガイドラインの作成に関する研究

シックビル症候群等で社会問題になっているホルムアルデヒド(HCHO)や揮発性有機化合物(VOC)について、保健所職員やビル管理担当者向けに、これら物質の物理化学的性質、発生源、発生量、挙動、基準、測定法、換気、低減方法等について平易に解説したガイドラインを作成した(厚生省生活衛生局企画課)。

2) 建築物内における総揮発性有機化合物(TVOC)の調査研究

TVOCのガイドライン設定の基礎資料の提出を目的として、大規模建築物及び居住環境内におけるTVOCの実態調査を、TVOC自動計測器と個体捕集-溶媒抽出法を用いて同時測定を実施し、両者の相関性を検討した。

2. 哮息及び発がん関連危険因子のヒト暴露量に関する調査研究

建材・内装材等から発生する発がん関連危険因子の一つであるスチレンについて、主婦、学生等を主体とした個人暴露量の実態調査を室内環境条件や人の生活行動時間との関連性において検討した。

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やsick house syndrome等の原因物質として指摘されているVOCについて、Tenax GR捕集-加熱脱着法及び個体捕集-溶媒抽出法等の分析法の検討を行った。

2) 室内空気中のリン酸エステル類の分析法の検討

内装材等から発生するリン酸エステル類(トリプチルホスフェート、トリス(2-クロロエチル)ホスフェート、トリス(β -クロロイソプロピル)ホスフェート、ダイアジノン、クロルピリホス、クロルピリホスマチル、フェンチオン、トリス(ブトキシエチル)ホスフェート、トリス(2-エチルヘキシル)ホスフェート、トリスクレジルホスフェート)等の分析法を確立した。

3) 室内空気中の有機塩素系化合物の分析法の検討

防虫剤、水道水等から発生する有機塩素系化合物(トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、クロロホルム、四塩化炭素、クロロジブロモベンゼン、1,1,1-トリクロロエタン、*p*-ジクロロベンゼン、s-421)等の分析法を確立した。

4. 暴露評価基盤研究

暴露評価基盤研究の一環として、平成9年度は対象物質としてVOCを選定し、全化協に加盟する26機関と協力してVOCの室内外の実態調査を実施し、全国規模の室内VOC汚染の実態を明らかにした。

5. 化粧品の試験法に関する研究

衛生試験法の香粧品試験法にエストラジオールおよびエチルエストラジオールの定量法が収載されており、その試験法にはクロロホルムが使用されている。クリーンアナリシスの観点から、クロロホルムを用いない試験を検討した。

6. 化粧品の安全性評価ガイドラインに関する基礎的研究

種別許可基準の変遷と最近の化粧品を取り巻く規制緩和の流れ、化粧品を巡る健康被害の現状解析、諸外国の化粧品の安全性評価の現状を踏まえ、種別基準の範囲内で新処方の化粧品を開発するに当たり、安全性を評価するためのガイドラインを現行の安全性評価ガイドラインを基に提案した。また、安全性評価に必要な化粧品の生体膜への影響を、界面活性剤のCHO細胞のviabilityを指標として検討し、これまで検討を行ったモルモットの剥離皮膚あるいはウサギ赤血球膜への影響と比較検討した。ウサギ赤血球の溶血とCHO細胞のviabilityの間に良い相関関係が成立し、生体膜の違いにより界面活性剤の影響が異なることが明らかにした(厚生科学研修補助金)。

7. 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

ヘマトポルフィリン(HP)-UVA増感時におけるCHO細胞の細胞毒性への影響を *in vitro*で検討した結果、UVAの方がUVBより影響力が強く、HP-UVA増感によって細胞毒性が増強されることが示唆された(HS財團受託研究費)。

8. 皮膚ホメオスタシスに及ぼす環境要因とその評価法に関する研究

ヒト皮膚由来の細胞株への過酸化脂質の影響をサイトカインの放出量を指標に検討し、その発生機構について考察すると同時に生薬抽出物の影響について検討した。

紫外線散乱剤として化粧品に多用されている酸化チタンの結晶形の違いによる OH ラジカルの生成量の差違あるいは細胞毒性について検討した。

9. *in vitro* 評価系を用いた環境汚染物質のアレルゲン性評価に関する研究

ラット好塩基球培養細胞(RBL-2H3)を用い、環境汚染物質がRBL-2H3細胞の脱颗粒に与える影響を IgE 抗原存在下あるいは非存在下で脱颗粒により放出される β -ヘキソサミニダーゼの活性を用いて研究した。環境汚染物質として知られている30品目について検討した。抗原存在下で、di-2-ethylhexyl phtalate, methylmercury chloride, *p*-nonylphenol, pentachlorophenol, thiuram 及び marthasteroside が β -ヘキソサミニダーゼの放出量を増加させた。また、抗原の非存在下で、bis phenol A,2,5-dichlorophenol, *p*-nonyl phenol 及び marthasteroside が β -ヘキソサミニダーゼの放出量を増加させた(環境庁未来環境創造型基礎研究推進制度)。

10. 水質基準及び試験方法の設定に関する研究

1) 水中有害物質の標準分析法として、ベンツ(a)ピレン、フルオランテン、ベンゾ(b)フルオランテン、ベンゾ(k)フルオランテン、ベンゾ(g, h, i)ペリレン、インデノ(1,2,3 - cd)ピレンの6種類の多環芳香族炭化水素の一斉分析法を行うための測定条件を設定した(厚生省生活衛生局水道整備課)。

2) 水中の環境汚染物質の一つである EDTA の濃縮誘導化法を用いた GC/MS による分析法の検討を行い、環境モニタリングに適用できる試験方法を確立した(厚生省生活衛生局水道整備課)。

3) 水質汚濁性農薬のうちジクワット、グリフォサー、トアセフェートの HPLC 法による一斉分析法の測定条件を設定した。ベンタゾン、トリクロピル、メタラキシル、ジチオピル、シアナジン、ピリブチル、カルブカーボフランの GC/MS による一斉分析法の条件を設定した(厚生省生活衛生局水道整備課)。

4) GC/MS 及び LC/MS によるハロ酢酸類の高感度分析法を検討した。

5) 水中障害生物の定量的測定を正確に行うため、メンブランフィルター法と枠付きかい線チャンバーの比較を行い、枠付きかい線チャンバーの方が優れていることを明らかにした。更に、改良を行いより正確な測定の出来る新たな枠付きかい線チャンバーを開発した。

6) WHO 水質ガイドラインで新たに検討が加えられた物質の中から、非イオン性界面活性剤、多環芳香族炭化水素類、アトラジン、シマジン及びミクロキスチンのヒトへ

の健康影響評価を行った(厚生省生活衛生局水道整備課)。

11. 水道用薬品または水道用品の安全性に関する研究

1) 水道水に含まれる可能性のあるアルミニウムについて、水中での形態、由来、及び環境水中と浄水過程での存在量を昨年に引き続き調査し、その安全性の評価を行った(厚生省生活衛生局水道整備課)。

2) 水道用コンクリート水槽内面塗料の安全性について検討した。

12. 水道水の安全性評価に関する研究

1) 水道水源水域及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

水道水中に存在するハロアセトン類5化合物のラット肝細胞毒性を検討し、ハロアセトン類の毒性発現に膜脂質の過酸化が重要な役割を果たしていることを明らかにした(環境庁国立機関公害防止等試験研究費)。

2) 人を取り巻く生活環境におけるダイオキシン等及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

ラット肝においてフタル酸-*n*-ブチルは、テストステロン 2 α -ヒドロキシラーゼ活性を顕著に減少させることを明らかにした(環境庁国立機関公害防止等試験研究費)。

3) 遺伝子工学技術を用いた環境汚染物質の健康影響評価方法、確立に関する研究

シトクロム P450 4A1 遺伝子上流に存在する特異的塩基配列を組み込んだ、ペルオキシゾーム増殖活性物質の組換え細胞評価系を確立し、評価のためのマニュアルを作成した(環境庁国立機関公害防止等試験研究費)。

4) マウスリンフォーマ試験を用いて、トリハロメタン類の遺伝子毒性評価を行い、ジプロモクロロ酢酸とクロロプロモ酢酸が陽性、クロロホルム、プロモホルムは陰性であると評価した。その結果から、マウスリンフォーマ試験の有効性を検討した。検討した6種のハロ酢酸類の間では、塩素イオン又は臭素イオンの置換数が多いほど致死毒性も遺伝子毒性も低くなる傾向が見られた。塩素イオンに比べ臭素イオンの置換体の方が毒性が高い傾向が見られた(厚生省生活衛生局水道整備課)。

5) シトクロム P450 4A1 遺伝子の上流に存在するペルオキシゾーム増殖物質の結合配列を同定し、化学物質が生物の構造と機能に密接に関係して影響を与えていていることを明らかにした。

6) ラット肝において、1,1-ジクロロエチレン、cis-1,2-ジクロロエチレン及びtrans-1,2-ジクロロエチレンは、雄特異的 P450 分子種である CYP2C11 及び CYP3A2 を有意に減少させることを明らかにした。

7) 5-アミノレブリン酸共存下で As³⁺ 及び As⁵⁺ がラット肝細胞のプロトポルフィリン IX の蓄積を引き起こすことを明らかにした。

13. 水道水質検査・管理システム構築に関する研究

1) 水質試験法の精度管理に関する研究

水道事業体、全国72衛生研究所及び指定検査機関における試験の精度管理を実施した。また、水道法20条指定機関及びビル管理法における指定機関の精度管理の在り方について検討した(厚生省生活衛生局水道整備課)。

2) 水道水質の危機管理のシステムの諸外国の運用法及び実態調査を行った。

3) データベースの形態及びデータベースに組み込む情報の種類について検討し、データベースのモデルの構築を試みた。

14. 生活関連化学物質の経路別暴露アセスメントに関する研究

1) 室内空気中の VOC について、全国衛生研究所25機関と共同研究を実施した(厚生省生活衛生局生活化学安全対策室)。

2) ホルムアルデヒドについての total 暴露評価を昨年に引き続き行った(厚生省生活衛生局生活化学安全対策室)。

3) ダイオキシン類とコプラナーPCB の曝露評価を行った(厚生省生活衛生局生活化学安全対策室)。

15. 生活関連化学物質の安全性評価に関する研究

1) カドミウム含有米を投与し、投与量の違いによるカドミウムの蓄積を検討し、腎機能障害とカドミウム蓄積量の関係を明らかにした(環境庁環境基本計画推進調査費)。

2) 硒素化合物の化学形態の違いによる毒性影響について検討を行った(環境庁公害予算地域密着型)。

3) 表皮角化細胞を用いて各種砒素化合物の細胞毒性発現とその機構について検討を行った(科学技術庁科学技術振興調整費)。

4) 水道原水及び水道水中のアルミニウムの存在状態について検討を行った(厚生省科学研究費)。

食 品 部

部長 豊田正武

概要

平成9年度の食品衛生分野において特記すべき事は、内分泌擾乱物質についての関心が高まり、環境ホルモン作用のあるダイオキシン、有機スズ化合物等について農産物も含めた環境汚染が特に注目されるようになったことである。そこで従来より行っていた魚介類中のダイオキシンの実態調査研究を拡大し、食品保健課、乳肉衛生課と協力しダイオキシンの日常食からの摂取量調査及び魚介類以外の個別食品についても汚染実態調査を開始した。

また食品中に残留する農薬の試験成績の信頼性を確保する上で、残留農薬分析の際に使用される標準品の品質を適正なものとするため、食品化学課と協力して検討会を設け

て検討を加え、平成9年10月に食品化学課より製造会社・輸入会社等に対し残留農薬分析用標準品の情報提供に関する指針として通知が出された。

通常業務としては、例年通り、食品中の有害成分としての残留農薬、残留動物用医薬品、環境汚染物質、天然有害物等に関する研究、また食物アレルギーの実験動物による評価系の確立に関する研究、さらに有用成分として、抗アレルギー成分、抗酸化成分等の検索及びその生化学的研究を続けている。

海外出張では豊田正武部長は、日仏科学技術シンポジウムに出席のためフランス・パリに出張(平成9年12月15日～20日)した。更にFAO/WHO合同食品規格計画第30回食品添加物・汚染物質部会に出席のためオランダ・ハーグに出張(平成10年3月7日～3月14日)した。佐々木久美子第1室長は内分泌障害性化学物質に関する研究情報の収集のため米国NIEHS、NCTR、CIIT、EPAに出張(平成10年3月5日～12日)した。松田りえ子主任研究官はAOAC年次会議に参加のため米国サンディエゴに出張(平成9年9月6日～12日)した。鈴木隆第2室長及び近藤一成技官はアメリカ化学会に出席のため米国ダラスに出張(平成10年3月29日～4月2日)した。合田幸広第3室長は新規食品の安全性に関する情報入手と現状視察のため米国FDA等に出張(平成10年3月9日～18日)した。宮原誠主任研究官は米国における照射食肉の安全性に関する現場視察のため米国USDA等に出張(平成10年3月10日～18日)した。

研究業績

1. 食品中の有害物質に関する事項

1) 食品中の残留農薬

イ) 残留農薬の迅速分析法の開発に関する研究

引き続き110農薬についてGPCを用いた一斉分析法を検討した(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

小麦及び大麦試料中のマラチオン測定における問題点について検討した(厚生省生活衛生局食品化学課)。

ハ) 残留農薬基準未設定農薬の残留分析に関する研究

ピリグチカルブ及びクロルフェナピルの残留分析法を確立した(厚生省生活衛生局食品化学課)。

ニ) 食品中の農薬分析の基礎的研究

PDA検出器によるHPLC測定農薬の一斉分析法の検討を行った(厚生省生活衛生局食品化学課)。

ホ) 農薬推定摂取量の精密化について調査を行った(厚生省生活衛生局食品化学課)。

ヘ) 農作物における複数農薬の残留実態調査研究

N-メチルカーバメート系農薬の一斉分析法を確立し、また一部の輸入食品について残留実態を調査した(厚生省生活衛生局食品化学課)。

2) 有機スズ化合物の衛生化学的研究

大部分の有機スズ化合物の化学形を明らかにした。

3) 食品中に溶出するアルミニウムの摂取実態に関する研究

引き続きトータルダイエット試料中のアルミニウムを分析し、一日摂取量を推定した(厚生省生活衛生局食品保健課).

4) 畜水産食品中の残留動物用医薬品の試験法に関する研究

スピラマイシン及びベンジルペニシリンの試験法を作成し、イソメタミジウム及びチアベンダゾールの試験法を再検討した(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

17種食品中のダイオキシン類の実態調査を行ない、またトータルダイエット試料により1日摂取量を推定した(厚生省生活衛生局食品保健課及び乳肉衛生課).

6) 必須アミノ酸等による健康影響に関する研究

過去5年間のEMS関連文献の調査を行った(厚生省生活衛生局食品保健課).

7) モロヘイヤの安全性に関する研究

モロヘイヤ種子中の強心配糖体の構造を明らかにし、マウス経口毒性を検討した(厚生省生活衛生局食品保健課).

8) かび毒による食品汚染と暴露に関する研究

イ) かび毒の分析法に関する研究

アフラトキシン告示試験法の再検討を行った(厚生省生活衛生局食品保健課).

ロ) かび毒の汚染実態調査に関する研究

国産とうもろこしについてフモニシン汚染実態調査を行った(厚生省癌研究). またパツリンの汚染実態調査を行った(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) 全国から収集されたモニタリングデータは約218万件に達した。これらのデータを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10機関からのトータルダイエット試料をもとに約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

イ) バイオテクノロジー応用食品について、検知法を検討し、さらに二次代謝物の分析法を検討した(厚生省生活衛生局食品保健課).

ロ) 食蛋白質の簡易的抗原性評価手法の開発を行った。また野菜及び果実における抗アレルギー活性及び抗アレルギー成分を検索した。更にカテキン類及びフラボノイドの抗酸化活性の特性を明らかにした(HS財團受託研究).

4. 照射食品の判定と健全性に関する研究

照射冷凍肉の検知に関し、オルトチロシン法を確立した(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。

人事面では、平成9年4月1日付けで杉本直樹技官が採用となり、第2室に配属された。

佐藤恭子技官は、平成9年4月1日付で主任研究官に昇格した。

石綿肇室長は、JICA専門家としてタイ国チェンマイ地域医科学センターでクロマトグラフィックサイエンスの技術協力を行った(平成9年4月23日~7月2日)。

河村葉子室長は第49回FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会に出席のため、ローマに出張した(平成9年6月15日~6月28日)。

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。来年度に「食品中の食品添加物分析法」を大幅に改訂する予定であるため、本年度はその準備作業を行った(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ため、改正すべき品目の各条、及び新規に掲載する既存添加物の規格について検討を行った。食品添加物公定書英文版を作成するための準備作業も行った。

(3) 食品添加物として新規に指定が検討されたグルコン酸ナトリウム、グルコン酸カリウムの規格試験法について検討を行った(食品添加物規格基準設定費、生活衛生局食品化学課)。

(4) 食品添加物の1日摂取量を把握するため、マーケットバスケット法による調査方法について、衛生研究所等との具体的な実施法について、計画立案作業を行った(食品添加物マーケットバスケット調査費、生活衛生局食品化学課)。

(5) パン製造における臭素酸カリウムの有効性と残存性について検討を行った(食品添加物安全性再評価費、生活衛生局食品化学課)。

(6) 新鮮なハマチの魚肉中の一酸化炭素の濃度変化について調査を行った(食品添加物規格基準設定費、生活衛生局食品化学課)。

(7) 魚類(金沢市より送付されたティラピア12品目, 24検体)中の一酸化炭素濃度を検査した(特別行政試験, 生活衛生局食品化学課).

(8) 新潟県及び鹿児島市より送付されたブリ10検体, イズミダイ5検体について一酸化炭素の濃度の検査を行った(特別行政試験, 生活衛生局食品化学課).

(9) コウジ酸をエビに使用した場合の, 調理による残留量の変化について検討した(食品添加物規格基準設定費, 生活衛生局食品化学課).

(10) ウコン色素の規格を設定する際に, 確認試験法としてのTLCの条件, 光分解物の規格が必要か, 色価による含量測定の妥当性について, 検討した(食品添加物規格基準設定費, 生活衛生局食品化学課).

(11) 医薬品添加物について, 医薬品添加剤規格の国際調和(日本薬局方調査会医薬品添加剤委員会, 医薬安全局審査管理課), 医薬品添加規格1998の作成(医薬安全局審査管理課)に協力した.

(12) アルミ箔製品からの鉛, カドミウム等の溶出について調査を行った(食品等規格基準設定費, 生活衛生局食品保健課).

研究業績

1. 食品添加物等の規格基準設定に関する研究

(1) 食品中の指定外添加物である不許可着色料, 酸化防止剤, サイクラミン酸の分析法について検討した(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課).

(2) 食品添加物としてのキシリトール中のキシリトール以外の糖アルコールのGCによる定量法を開発した(食品添加物規格基準設定費, 生活衛生局食品化学課).

(3) 乳製品中のアルギン酸の定量分析法を基に第3群食品(穀類, 豆類)に適用できる定量分析法を開発した(食品添加物規格基準設定費, 生活衛生局食品化学課).

2. 食品添加物等の安全性に関する研究

(1) 平成6年度の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の結果を整理し, それに基づく摂取量の推定を行った. 本年度は防かび剤, 無機添加物, 酸化防止剤等について行った(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課).

(2) 天然添加物の規格設定や摂取量調査の前段階の研究として, カロテノイド系天然着色料につき, 包括的な色素成分の研究を実施した(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課).

(3) アナトー色素の成分規格の国際的整合性を目的として, 水銀, カドミウム, 鉛の各単独規格が必要か, 確認試験法としての赤外吸収スペクトル測定法をどうするか, 定量法をどうするかについて検討した(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課).

(4) 市販ブドウ果皮色素製品中の色素成分量を分析し,

それらが分析用の標品となるための条件について検討した(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課).

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) 遺伝子操作技術を用いて作成されたビートレッドの植物培養細胞中で生産される色素成分が, 通常の培養細胞の成分と同じかについて検討した(HS財団受託研究費).

(2) 色素産生細胞の培地中に色素産生増強の目的で重金属を多量に添加した時に, 細胞中に誘導されるペプチドの, キャビラリー電気泳動法を用いて分析する方法を確立した(HS財団受託研究費).

4. 器具・容器包装の安全性に関する研究

(1) ポリスチレン製品中の未知物質の同定を行うとともに, それらの分析法を検討し, 材質中の残存量, 食品擬似溶媒への溶出傾向を明らかにした(食品添加物安全性再評価等試験検査費, 生活衛生局食品化学課).

(2) ポリカーボネート製品からのビスフェノールAの溶出について, 溶出溶媒, 温度, 繰り返し, 電子レンジ等の影響を検討し, さらに市販品の調査を行った(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).

(3) アルミ箔製品からのアルミニウムの溶出について, 食品成分による溶出促進及び抑制作用, 食品の加熱調理によるアルミニウムの移行等を検討し, さらに器具・容器包装由来のアルミニウム摂取量について考察した(厚生科学研究費, 生活衛生局食品保健課).

(4) ポリエチレン, ポリプロピレン及びポリスチレン製品について, γ 線照射による添加剤含量の変動, 引っ張り強度の変化等を検討し, それらの関連を明らかにした(国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁原子力局技術振興課).

有機化学部

部長 宮田直樹

概要

平成9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, などを行った. 研究プロジェクトとしては, 平成9年度から新規に医薬品機構の保健医療分野における基礎研究推進事業「コンピュータ分子設計法の高度化とその有効性の実験的検証」の分担研究課題「コンピュータ分子設計による核内レセプターリガンド候補化合物の合成と構造解析」, および, 国立医薬品食品衛生研究所特別研究「生物システムに作用する化学物質の機能と三次元構造相関の解明」を開始した. また, 前年度から引き続いて, 科学技術庁科学技術振興調整費総

合研究「生体制御物質の分子設計と精密合成のための基盤技術の開発に関する研究(第2期)」、および、環境庁の環境汚染物質の影響評価に関する総合研究「NO遊離化合物を活用した環境汚染窒素酸化物に関する研究」を実施した。

海外出張は、宮田が、平成9年5月19日より25日までイスに出席し、ジュネーブのWHOで開かれた第27回医薬品国際一般名(INN)策定委員会に出席した。また、宮田と中島(山越)葉子技官が、平成9年8月29日より9月7日までフランスに出張し、パリで開かれた1997年国際電気化学会議に出席し、光励起C60の溶血作用、ならびに、光照射下におけるフラーレンの生物作用について研究成果を発表した。また、宮田が、平成10年3月20日より4月4日までイスラエル、ヨルダン、米国に出張し、エルサレムとアンマンで開かれた第1回国際医療科学会議では光励起C60によるDNA切断機構について、また、ダラスで開かれた第215回アメリカ化学会年会ではC60によるグルタチオンS-トランスフェラーゼの阻害について研究成果を発表した。また、中島(山越)葉子技官が、平成10年3月20日より3月30日までイスラエル、ヨルダンに出張し、エルサレムとアンマンで開かれた第1回国際医療科学会議に出席し、光励起フラーレンによる溶血作用機構について研究成果を発表した。また、栗原正明第1室長と福原潔主任研究官が、平成9年3月28日より4月4日まで米国に出張し、ダラスで開かれた第215回アメリカ化学会年会に出席し、栗原は種々のケトンから発生させたジオキシランによる立体選択性的なエポキシ化について、また、福原はレスベラトロールおよびその類縁物質によるDNA切断について研究成果を発表した。

栗原正明第1室長及び福原潔主任研究官が、厚生省試験研究機関共同利用大型機器(傾斜磁場型600MHz核磁気共鳴装置)及び所内共同利用機器(400MHz及び300MHz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。前年度から引き続き、日本大学生物資源科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が、協力研究員として核磁気共鳴装置及び化学計算コンピュータを利用した生理活性糖誘導体及びペプチド誘導体の合成・構造・機能解析に関する研究を行った。

平成9年度には、有機化学部主催の講演会として、「グルタチオンS-トランスフェラーゼの立体構造と分子多様性(東京薬科大学生命科学部分子生物学研究室井上英史博士)」、「Inter-individual variation in drug metabolizing enzymes: cytochrome P450 and the glutathione S-transferases(Dr. Peter J. van Bladeren, Nutrition and Food Research Institute, The Netherlands)」、「微小管機能制御物質の作用と化学(北里研究所生物機能研究所岩崎成夫博士)」を開催した。

平成9年度には、大型機械としてギルソン製自動合成装置一式、島津製分光蛍光度計、および、バリアン製核磁気共鳴データ処理装置を購入した。

研究業績

1. 有用生理活性物質の合成及び化学反応性に関する研究

1) 生物システムに作用する化学物質の機能と三次元構造相関の解明:エポキシ化反応における基質のコンフォメーションと立体選択性との相関を明らかにした(特別研究費)。

2) 高分子ポリマー型フラーレン誘導体の合成および殺菌活性に関する研究:殺菌性を有する高分子ポリマー型フラーレン誘導体の合成に有用なフレオピロリジン誘導体の合成を達成した(厚生科学研究費補助金)。

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の開発に関する研究:生体制御物質の合成のための選択的官能基変換技術の開発研究として、HIVプロテアーゼ阻害剤合成のための重要な鍵中間体の合成法を検討し、立体選択性的なエポキシ化を達成した(科学技術振興調整費)。

4) DNA二重鎖巻き戻し機能を持つDNA切断化合物の合成:DNA切断化合物1,6-ジヒドロキシフェナジンN-オキシドのアミノアルキル誘導体の合成に成功した(科学研究費補助金)。

5) 骨分化促進作用を有するC60誘導体の合成:合成中間体として有用な活性型C60誘導体を合成し、反応性を明らかにした(科学研究費補助金)。

6) 新規トリガーを有するエンジイン類の合成に関する研究:酵素加水分解をトリガーとするエンジイン類を分子設計し、合成を達成した(一般研究費)。

7) 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:置換フェニル及び置換ピリジルニトロアミン類を合成し、簡易型NO測定装置を用いてNO生成速度を明らかにした(一般研究費)。

8) 抗酸化剤の抗酸化メカニズムの解明に関する研究:分子軌道計算によりカテキン類の構造及び電子状態について基本的パラメーターを得た(一般研究費)。

2. 有害物質の構造決定及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:活性メチレンを有するニトロソ化合物からNOとヒドロキシルラジカルが発生することを確認し、これらの短寿命活性種の生成機構を考察した(国立機関公害防止等試験研究費)。

2) 化学計算による環境化学物質の毒性評価の新手法の開発:分子軌道計算及び分子力場計算により、環境化学物質の構造と毒性との相関を明らかにした(科学研究費補助金)。

3) ポリヒドロキシ芳香族炭化水素の生体に及ぼす影響

に関する研究：レスベラトロールが酸素ラジカルを発生してDNA鎖切断することを明らかにした（一般研究費）。

3. 薬物と生体分子の相互作用の解析に関する研究

1) コンピュータ分子設計法の高度化とその有効性の実験的検証：コンピュータ分子設計による核内レセプターリガンド候補化合物の合成と構造解析を分担し、ウレア構造を有するレチノイド活性候補化合物の合成法の検索及び化学計算による構造解析を行った（医薬品機構基礎研究推進費）。

2) フラーレンの生体分子への影響に関する有機化学的解析：フラーレンのDNA切断活性及び溶血活性について、活性発現メカニズムを各種スペクトル法を用いて明らかにした（一般研究費）。

3) DNA認識ペプチド誘導体による遺伝子発現の制御に関する研究：DNA切断能を有するアミノ酸誘導体の合成を目的として、その前駆体2-アルキルフェナジン誘導体を合成した（一般研究費）。

以上の研究は、加藤幸弘及び駒沢由香実習生（日本大学生物資源学部農芸化学科生物有機化学研究室：奥忠武教授）、永川真希実習生（共立薬科大学有機薬化学教室：望月正隆教授）、甲斐陽子実習生（昭和女子大学生活科学部：谷村顕雄教授）、及び、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118年会（京都）、第13回フラーレン総合シンポジウム（上山田）、1997 Joint International Meeting of the 192nd Electrochemical Society and the 48th annual meeting of the International Society of Electrochemistry（Paris）、16th PAC Meeting（Charlotte）、第23回反応と合成の進歩シンポジウム（熊本）、第14回フラーレン総合シンポジウム（岡崎）、The First Regional Meeting on Medical Sciences: The Role of Free Radicals in Health and Disease（Jerusalem and Amman）、The 215th ACS National meeting（Dallas）、などで発表するとともに、Chem. Pharm. Bull., Chem. Lett., Fullerene Sci. Technol., Bull. Natl. Inst. Health Sci., Fullerenes: Recent Advances in the Chemistry and Physics of Fullerenes and Related Materials、などの学術誌、及び、厚生科学研究報告書、医薬品機構研究成果報告書、環境庁総合研究プロジェクト別環境保全研究成果集「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（萌芽的研究、奨励研究）報告書などに公表した。

機能生化学部

部長 澤田純一

概要

平成9年度の研究業務として、免疫系細胞の機能に関

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分析法の開発等を行った。また、池渕第二室長を中心にRI管理に関する業務を行った。人事面では、平成9年10月1日より、池渕第二室長が、医薬安全局安全対策課の併任官として、医療放射線の規制緩和及び施行規則の改正に伴う業務を担当した。

研究業績

1. 免疫系細胞の機能に関する研究

i) 免疫毒性試験法及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サイトカイン等の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、好塩基球細胞に存在するエクトキナーゼの情報伝達における役割の解説も行った（文部省科学研究費）。次いで、化学物質及び食品のアレルゲン性並びにアレルギー促進活性を調べるための動物モデルの開発に着手した（厚生科学研究費）。

2. 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) 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促進させるプロテインキナーゼCの分子種について引き続き解析を行った（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に対するモノクローナル抗体を調製した。

ii) 神経系細胞に及ぼす真菌代謝産物の作用を検討した。

iii) OBCAM（オピオイド結合性細胞接着分子）cDNAを、CHO-K1細胞にトランسفェクトして、組換えOBCAMを発現させた（HS振興財団受託研究費）。

3. モノクローナル抗体の機能変換等に関する研究

i) 大腸菌で発現させた抗体フラグメントと金属キレート蛋白との融合蛋白の抗原結合活性、金属結合活性を検討した（国立機関原子力試験研究費）。

4. イムノアッセイ等を用いる微量検出法の開発

i) 内因性蛋白結合物質（フラン脂肪酸）に対する高感度イムノアッセイ法の開発を目的として、アッセイに用いる抗原、抗体の調製を検討した。

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、A. Fumigatus抗原による血清学的検討を行った。

iv) エストロジェ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）。

v) 食品へのウシ異常プリオントンパクの汚染を想定した高感度イムノアッセイ法の開発を目的として、高反応性の抗プリオントンパク抗体の作製を開始した。また、牛肉中のプリオントンパクの抽出・濃縮方法の予備検討を行った（厚生科学研究費）。

代謝生化学部

部長 藤森 観之助

概要

平成9年度の研究として、生体における情報の受容、代謝変化に関する研究及び化学物質により誘発される代謝異常とその成因に関する研究を行なった。

人事面では、平成10年3月31日を以って嶺岸謙一郎部長が定年退官した。同氏は昭和47年4月に当所に入所、医化学部（後に代謝生化学部と改名）配属以来、一貫して、化学物質等の代謝物分析に関する研究に従事し、数々の研究業績を挙げ、当所並びに厚生行政における研究及び業務遂行に貢献した。平成10年4月1日付けで藤森觀之助薬理部第2室長が代謝生化学部長に昇任・転入し、同日付で代謝生化学部第二室長事務取扱となった。重点研究協力員の佐々木晴代博士は白血球細胞の機能タンパク質の探索および機能の解明とその制御に関する研究に前年度に引き続き従事した。なお当部の職員は大阪支所併任の田中寿夫技官を含め現在5名である。当部の学会発表は計9編であり、海外においては、鈴木和博室長および安達玲子技官が平成9年6月29日より7月3日までオランダのアムステルダムで行われたCell signalling Mechanismに関する学会に参加し、白血球機能の活性化における制御蛋白コフィリンの役割について発表した。

研究業績

農薬、医薬品を含む生体外物質の生体動態および機能因子への影響（安全性）に関する分子医学的研究、並びに生体の液性防御機能に直接係わる血液細胞の機能制御に関する分子医学に基づく先端的研究を行なっている。

1. 生体における情報の受容、代謝変化に関する研究

(1) 白血球の活性制御に関する厚生科学研究を終了した。

白血球の活性化時のアクチンおよび活性制御蛋白であるコフィリンの細胞内動態を検討し、コフィリンが纖維化アクチンの形成・分解に寄与していることを明らかにした。

(2) NOの食細胞機能に対する効果に関する研究

マクロファージの細胞運動活性（食細胞機能）に及ぼす一酸化窒素NOの作用はサイクリックGMP関与であることを見出した。

(3) 好中球のコフィリンの役割に関する研究

活性化細胞内pHの変動によりアクチン制御蛋白であるコフィリンの活性を制御することを明らかにした。

以上の研究成果は第70回日本生化学会（東京）、第27回日本免疫学会総会（東京）、第6回日本バイオイメージング学会（東京）、日本薬学会第118年会（東京）およびFEBSのCell signalling Mechanismに関する学会（アムステルダム）で計6編発表した。

2. 化学物質の安全性に関する代謝生化学的研究

(1) 化学物質により誘発される脂質代謝異常とその成因に関する研究

動脈硬化因子を左右するリポ蛋白の構造蛋白であるアボBを標識し、肝細胞小胞体内から細胞外分泌までを経時に追跡し、蛋白と脂質の会合を解析する方法を確立した。

(2) 既存化学物質の安全性に関する代謝研究

ゴム抗酸化剤であるN,N'-Dimethylphenyl-*p*-phenylenediamine(DMPD)のラット2年間混餌毒性試験における吸收・代謝・分布・排泄を2年間にわたって検討し安全性評価に資した。

以上の研究成果は日本薬学会第118年会（東京）、第17回国際生化学・分子生物学会（東京）および第23回毒性環境衛生シンポジウム（東京）で計3編を発表した。

衛生微生物部

部長 三瀬勝利

概要

本年度も前年度同様、腸管出血性大腸菌O157やサルモネラ検査等で当部は大変多忙であった。人事に関しては、37年に渡って当部の微生物検査や研究にたずさわってこられた小畠満子さんが平成10年3月31日付けをもって定年退官された。今後のご活躍を祈念している。また平成10年4月1日付けをもって、米国国立癌研究所（NCI）より、有能な室井正志博士を主任研究官として迎えた。

業務成績

1. 特別審査

合計14件について特別審査を行った。

2. 行政検査

腸管出血性大腸菌O157関連の試験として、80キログラムのカイワレ種子より検出実験を行った。生きたO157は検出されていないが、志賀毒素陰性の大腸菌は検出されている。またPCRでカイワレ種子から志賀毒素遺伝子の存在が確認された。さらに30キログラムのカイワレ種子からサルモネラの検出実験を行い、2.2%の割合でサルモネラの汚染が認められた。

3. 規格・基準など

日本薬局方・微生物試験法の国際調和に関する研究（医

薬安全局審査管理課), エイズ医薬品候補スクリーニング研究(医薬安全局, HS財団), 食材の保存条件とO157の変動に関する研究, 期限標示と保存方法設定のに関する研究(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研究, 卵のサルモネラ汚染に関する研究, フローズンチルド食品の微生物検査(生活衛生局乳肉衛生課)などが行われた.

研究業績

エンドトキシン(内毒素)の研究を中心に多くの成果が得られた.

1. 内毒素に関する研究

エンドトキシン活性を支配する構造因子を化学合成リピドA類似体を用いて解析した結果, 完全構造体(サルモネラ, 大腸菌型)リピドAの水酸基をサクシニル基などに変換しても活性が全く変化しないが, 前駆体構造はいずれの置換でも完全失活し, アンタゴニストに変換することから, 非還元末端の水酸基の置換が活性型・アンタゴニスト変換を支配していることを見いだした.

桂皮中に植物として初めてエンドトキシン活性を中和する物質を発見し, 精製を行い, その性状を検討した. 菌種のいかんにかかわらず, すべてのLPSに直接作用し抑制した. この抑制作用はウサギを使った発熱活性に対しても認められた.

2. 制限酵素に関する研究

汚染卵食中毒で話題となっている *Salmonella Enteritidis* ファージ標準株について制限酵素生産性を検討した. 検討した38株中ファージタイプ14bと16に制限酵素が認められた. 前者は *SacII* の, 後者は *XmaIII* のアイソシゾマーを生産していることがわかった.

3. O157に関する研究

食肉を汚染している腸管出血性大腸菌の検出法を検討し, i) 増菌培養の温度は42度が適当なこと; Rainbow培地などが分離培地として優れていることなどを証明した. また, O157:H7に汚染させたカイワレ大根種子を発芽させ水耕栽培させたところ, 茎部, 葉部など可食部全体がO157に汚染されていた.

4. プロモーター・イニシエーターに関する研究

BALB/3T3細胞2段階形質転換系では, チロシンフォスファターゼの阻害剤であるオルトバナジン酸はイニシエーターとしてよりも, プロモーターとして働くことを見いだした.

5. 真菌に関する研究

環境中の真菌はダニと共にアレルゲンとして重要であり, 洗濯が真菌除去に有効であることを示した. また, 酸化電位水には真菌殺菌効果があるが, 還元電位水にはないことを示した.

化学物質情報部

部長 神沼二真

概要

全所的な研究情報計算基盤として, インターネットを基盤とするネットワークの整備を継続した. またWWW上で公開している医薬品や化学物質の安全性に関する情報を充実した. 化学物質安全性に関する国際協力では, 国際情報ネットワークGINCのシステム開発を進めるとともに, GINCアジア会議を開催した. 図書・情報サービスでは, 懸案であった蔵書システムの試験運用にこぎつけた.

支援業務(業務成績)

1. コンピュータ環境の整備

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全所的な研究情報基盤の整備を継続した. 本年はとくに, システムの状況やサービスの状況をユーザーにタイムリーに知らせるコミュニケーション誌「NICIフォーラム」を刊行した.

2. WWWによる情報提供

インターネットWWW環境を利用して提供している化学物質の安全性情報や, ICHを含む医薬品情報および環境中の健康影響汚染物質などに関する情報, さらにO-157の発症地図など情報コンテンツを充実した.

3. 化学物質の安全性に関する国際協力

1) 国際化学物質安全性計画(IPCS)への協力

1) 国際簡潔評価文書(CICAD)の作成

「トリフェニルスズ」のドラフトを作成しIPCSに送付した. また第2回CICAD原案最終検討会議(ベルリン, 11月)に関沢室長が出席し5物質のCICAD原案について討議した.

2) IPCSの国際化学物質安全性カードの作成

所外国内委員の協力を得て, 日本分担分36物質のICSCの原案を作成した. 1997年4月(ヘルシンキ)および10月(ミラノ)の原案検討会議に山本主任研究官が出席した. また, IPCSで新たに更新された約400物質のICSCを日本語訳し, 出版すると共にWWWで提供した.

3) GINC(Global Information Network on Chemicals)プロジェクトの推進

GINCのホームページの開発を続け, 化合物の統合データベースの充実, WWWページの全文検索機能を追加した. また, 10月16日-18日まで, 東京で第3回東京GINC会議としてGINCアジア会議(海外16名, 国内10名)を開催した.

4) その他の事業

EHC(健康環境基準)の抄訳を刊行した. また9月に

ジユネーブで開催された IPCS の非公式のアドバイザーミーティングに神沼が出席した。

研究業績

1. 創薬と安全性研究を支援する基盤コンピュータシステムの研究

発がん物質、医薬品、環境汚染物質など生体に影響を与える化学物質に関し、3次元構造も含むデータベースの開発を継続している。本年度は、内分泌搅乱物質のリストアップとデータベース開発を開始した。

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。本年はデータの追加と信号伝達経路の探索機能を追加した。

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グラフィックスシステムの開発を続けた。本年は VRML(2.0)に準拠し、かつ JAVA を用いた、細胞分裂をインターネット上で動的に表現できる機能を開発した。

4. その他の研究

環境庁の地球環境研究総合推進費により、環境に漏出したレジンペレットで海岸に漂着したものを採集し、分類、分析した。また、レジンペレットを全国規模で監視するためのインターネット上のホームページ PD Watchers を開設し、研究情報交換に役立てた。

厚生科学研究費により、化学物質の被害事例に関するデータベースおよび解説を作成し、WWWによる提供を開始した。また、化審法、毒劇法、水道法等をデータベース化し、WWW上からも検索できるようにした。

同じく厚生科学研究費の「残留農薬安全対策総合調査研究」を分担し、農薬の安全性評価法の研究を行った。さらに「医薬品等化学物質の急性毒性の評価方法の国際比較による研究」に参加して、反応性が高く有害物質を生成しやすい化合物のデータベースの作成を開始した。

5. 図書・情報サービス

(1) 図書情報検索サービス

蔵書管理システムの整備を継続し、平成10年2月から試験的に貸出・返却及び蔵書検索のサービスを開始した。また、インターネットによる MEDLINE など文献検索案内機能を充実した。

(2) 雑誌類の管理と相互貸借

雑誌4タイトルを中止、5タイトルを新規に購入し、単行本370冊を購入した。この結果、購入中の雑誌は333タイトル、管理している単行本は10,711冊となった。文献の相互貸借事業に関しては、外部から1,049件の依頼を受け、外部へ1,677件を依頼した。

(3) 国立医薬品食品衛生研究所報告編集業務

当所の報告書編集委員会に協力し、第115号の作成と配布に協力した。

安全性生物試験研究センター

センター長 黒川 雄二

平成9年5月以後の安全センターにおける人事異動は下記の如くである。5月に相賀裕美子毒性部室長の採用、7月に高田幸一病理部室長が審査センターへ、門馬純子毒性部主任研究官が医薬品機構へそれぞれ異動。平成10年3月に、高橋道人病理部長、中館正弘総合評価研究室長、内藤克司毒性部室長が定年退官、長尾重之薬理部主任研究官が退職。4月に、広瀬雅雄病理部長、渋谷淳病理部室長、山本雅也毒性部研究員、佐藤薰薬理部研究員の採用。藤森觀之助薬理部室長の代謝生化学部長への、長谷川隆一毒性部室長の総合評価研究室長への、鈴木幸子、川崎靖毒性部主任研究官及び中沢憲一薬理部主任研究官の室長への昇格。

併任官としては、平成9年5月以来広瀬明彦総合評価室主任研究官が生活衛生局生活化学安全対策室へ派遣中であり、本間正充変異遺伝部主任研究官が大臣官房厚生科学課平成9年4月から10月まで派遣された。従って平成10年5月末現在安全センターは、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24、研究員11、動物飼育員1で総計58名であり、さらに技術・事務補助員11名、客員・協力・流動研究員17名、研究・実習生12名等が在籍している。3名が海外留学した。

海外出張として安全センタースタッフが例年通り厚生省・科学技術庁予算などにより頻繁に行政関連会議 (ICH, OECD, JECFA, IPCS 等) 及び各種専門学会等に派遣された（詳細は、各部の報告を参照）。黒川の海外出張は4カ所で下記の通り。①中国毒理学学会全国大会、97年5月13～16日、西安市。②ICH - 4、97年7月12～20日、ブランツセル。③ IPCS Steering Committee on the Harmonization of Approaches to the Assessment of Risk from Exposure of Chemicals、97年9月2～7日、Research Triangle Park, NC, USA. ④第13回 OECD/RAAB (Risk Assessment Advisory Body) 会議、97年11月29日～12月4日。①に関して詳述すると、24人の招待講演があり、呉徳昌学会理事長（北京放射医学研究所）の基調講演「迎接21世紀的中国毒理学、China Toxicology Marching toward the 21st Century」が、特に今後の放射線の生体影響についてなされた。黒川は、「Regulatory Toxicology in Japan with Special Reference to the Chemical Substances Control System」と題して、日本の化審法について概説し、

さらに日本トキシコロジー学会と厚生省・国立医薬品食品衛生研究所についても紹介した。海外招待者としては、実中研の柳田知司先生が依存性について、オランダの Dr. Zeeuw が法医学的毒性学について講演した。

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）では、菅野純毒性部室長及び北嶋聰毒性部研究員（他に、佐々木食品部室長、埴岡環境衛生部研究員が同行）がダイオキシン類と内分泌搅乱物質関連情報の交換および講演を、NIEHS、NCTR 等で行った。

ICH に関しては、厚生科学研究：医薬品等国際ハーモナイゼイション促進研究推進班の安全性部門において、7名の研究協力者及びのべ20名の協力研究者として、発がん性(S1B, S1CR)、遺伝毒性(S2B)、反復投与毒性(S4B)、バイオ医薬品安全性評価(S6)、一般薬理及び薬物動態試験(S7)、境界領域の非臨床試験と臨床試験開始のタイミング(M3)の6分野についてのガイドライン作成等専門家会合に頻繁に参加・討論を行ない、それらの成果を平成9年7月のICH-4において発表した。

医薬品に関するGLP調査は、昨年度の医薬品機構との合意に基づき、安全センターの職員の調査への参加は、トキシコキネティクスに関する場合を除いて行わないこととなり、その原則のもとに順調に経過している。

OECD高生産量化学物質の安全性点検作業に関しては、今年度も安全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データを評価し、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、試験計画作成も行なった。毒性関連のOECDテストガイドラインについてのコメント対応は、昨年度決定した各分野の責任者を中心として積極的に行ってきている。しかしながら、OECD関連事業の複雑化に伴い現体制の見直しが必要とされ、生活化学安全対策室との協議を開始している。

安全センター予算である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に関しては、平成7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、それらの研究結果を積極的に学会・専門誌等に発表してきた。今年度で三年が経過したので、総括的報告を衛研報告書に掲載した（別掲）。

安全センターに関わる事項の審議・報告等は、原則として3週に1回の安全センター運営会議（センター長、各部長、省令室長、動物管理室長の7名）においてなされているが、厚生省、医薬品機構、審査センターに特に関連する問題では、直接当該担当者との討議の場として有効に活用されている。さらに海外の学会・会議等の報告書は、即国立衛研安全性生物試験研究センターホームページに掲載し

ているので参考とされたい。

当安全センターの研究・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、厚生科学研究；大森班のメンバーにより編集作業が続けられてきた「化学物質のリスクアセスメント、その現状と問題点」（薬業時報社）が、97年10月に刊行された。厚生省と国立衛研による本邦初の専門的なリスクアセスメントに関する本が発行されたことは、極めて意義が大きく、売れ行きもいいとのことである。

医薬品機構基礎研究推進事業；新医薬品開発技術関連分野において、本年度から「医薬品の安全性・有効性を評価するためのヒト型試験系の開発に資する基礎的研究」（研究代表者、井上達毒性部長、平成9～13年度）が採択された。この研究は、予算・研究者等の規模からも大型であり、今後の毒性試験へのヒト型試験系導入の可能性を探るためにも、極めて重要なものと認識される。

新薬調査会に関する安全センターの業務は、審査センターとの協議の上、98年4月から毒性担当委員を、毒性班、病理班、変異原性班に分けて対応することとなった。この新体制により、以前に比べて簡素化・能率化の向上が期待できる。なお、この体制をより充実するために、審査センター毒性関連職員の研修が安全センター各部で行われた。

毒 性 部

部 長 井 上 達

概 要

平成9年4月1日付けにて、川島邦夫室長が大阪支所生物試験部長へ転出したが、その後任として、相賀裕美子主任研究官が新規採用となり、6月1日付けにて着任し、10月1日付けにて第4室室長に就任した。7月1日、当試験所は研究所と名称変更となり、医薬品機構に同日付けにて3室より、門馬純子主任研究官が調査専門員として転出した。（なお、門馬専門員は、平成10年4月1日付けにて、調査第一課長に就任している。）明くる平成9年度末の3月31日には、同日付けをもって、昭和45年以来28年間にわたり当所に勤務し、多くの試験・研究にわたって貢献した当部第一室・内藤克司室長が定年退官した。なお、内藤室長は長年の勤続と良好な勤務成績に対して内規に基づいて職員表彰が授与された。内藤室長は、翌、平成10年4月1日付けをもって、当所、客員研究官となり、JAICAの職務にて、在職当時より手掛けていた中華人民共和国天津市薬品検査所の指導のため、同国へ赴いた。平成10年4月1日付けをもって、長谷川隆一機器室長は省令室・安全性評

価研究室長となった。これに伴って、鈴木幸子主任研究官が機器室長に、川崎 靖主任研究官が3室室長として就任した。また、菅野 純第2室長が第1室長に、金子豊蔵第3室長が第2室長に配置替えとなった。平成10年4月1日付けにて、門馬主任研究官の後任として、東京大学薬学系大学院を修了した、新人、山本雅也技官が、新規採用となった。また、山梨大学医学部大学院を修了した宮城理恵博士は、客員協力研究員として、研究スタッフに加わった。平成10年2月1日より、東京大学大学院農学生命科学研究課博士課程を修了した原口清輝博士が協力研究員として、また、平成10年6月1日より、東京大学大学院理学研究課博士課程出身の高橋 雄博士が、医薬品機構研究員として研究スタッフに加わった。また、平成10年3月31日付けにて臼井万紀非常勤職員が退職し、平成10年4月1日付けにて北條美伸非常勤職員が就任した。

試験・調査・研究などの業務関連での海外出張では、井上部長は、ICH専門家会議への出席（平成9年7月12日～20日、ブラッセル、ベルギー）、First International Symposium on Hematotoxicology in New Drug Developmentにて発表のため、に出張（平成9年6月15日～20日、ルガノ市スイス）、IPCS/OECD内分泌障害性化学物質に関する合同会議への出席（平成10年3月8日～13日、ワシントンD.C.）、日米非エネルギー研究協力の一環として、内分泌障害性及びダイオキシン研究交流のために、米国、FDA、EPA（ワシントンD.C.）、NIEHS（ノースカリライナ州）に出張した（平成10年2月21日～28日）。金子豊蔵室長は第1回眼刺激性試験代替法に関するECVAMワークショップ（平成9年10月1日～4日、ロンドン）および眼刺激性のメカニズムに関するCOLIPAワークショップ（平成9年10月6日～8日）に参加し、Draize眼粘膜刺激試験の問題点について発表した。菅野 純室長は、日米非エネルギー研究協力の一環として、米国NCTR（アーカンソー州）、NIEHS、CIIT、EPA（いづれもノースカリライナ州）に出張した（平成10年2月21日～28日）。相賀裕美子室長は、国際発生生物学会（平成9年7月5日～10日、ユタ州、米国）及びMeeting on Somite Development（平成9年10月5日～9日、フランス）に参加した。長谷川隆一室長は、WHO/EUROのダイオキシン類の毒性等価値（TEF）の再評価会議（平成10年6月15日～18日、ストックホルム、スエーデン）、第9回OECDナショナルコーディネーター会議（平成10年12月3日～4日、パリ、フランス）及びOECDの第7回高生産量既存化学物質初期評価会議（平成10年3月25日～27日、シドニー、オーストラリア）に出席のため出張した。平林容子主任研究官は、First International Symposium on Hematotoxicology in New Drug Developmentにて発表のため（平成9年6月15日～20日、ルガノ市、スイス）、10th Molecular Biol-

ogy of Hematopoisisにて発表のため、（平成9年7月2日～14日、ハンブルグ市、ドイツ）、The 39th Annual Meeting of the American Society of Hematologyにて発表のために（平成9年12月4日～9日、サンディエゴ市、米国）出張した。川崎主任研究官は、科学技術振興調整費により、キーストンシンポジウム（平成10年3月26日～4月5日、キーストン、米国）へ派遣された。高木篤也主任研究官は、生殖毒性に関するワークショップへ発表のため出張した（平成9年10月8日～10日、グラナダ、スペイン）。佐井君江技官は、文部省科研費（国際学術研究）により出張し、1997国際ギャップジャンクション学会（平成9年7月12日～17日、キーラーゴ、米国）に参加、ならびにミシガン州立大学を訪問し、共同研究課題である発がんプロモーター機序の解析に関する実験を実施した（平成9年7月18日～8月15日）。北嶋 聰技官は、第19回国際アナリティカルサイトロジー学会（ISAC）（平成10年2月28日～3月5日、コロラドスプリングス、米国）に参加し、精巣生殖細胞系列に関する研究演題を発表した。

試験業務

1. 既存化学物質などの安全性に関する試験

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、サイクロシクロヘキサンなどの安全性に関する試験を行った。病理組織学的検索が修了し、2月に最終報告書を提出した（生活化学安全対策室移し替え）。

2. 家庭用品に含まれる化学物質の安全性に関する試験

新規物質として3-Iodo-2-propargylbutylcarbamate(IPBC)、10,10'-Oxy-bis(phenoxyarsine)(OBPA)及びp-Chlor-phenyl-3-p-Chlorophenyl-3-iodopropargylformyl(CPIP)の28日間反復投与試験のための予備試験を実施した。ブチルセロソルブのラットによる28日間吸入毒性試験、Isobornylthiocyanacetate(IBTA)、1,2-Benzisothiazolin-3-one、及び3-Iodo-2-propagylbutylcarbamateのラットによる28日間反復投与試験を終了した。3,4,4'-Trichlorocarbanilideの28日間反復投与試験を実施中である（生活化学安全対策室移し替え）。

3. 食品および食品添加物の毒性試験

健康食品の安全性に関して、プロポリス、ガルシニアエキス（新規）について、ラットによる12カ月間の慢性毒性試験の実施、もしくは実施に当たっての予備試験を行っている（食品化学課健康食品対策室）。

また、食品添加物として、フクロノリ抽出物、西洋わさび抽出物、クーロー色素などの各品目について、ラットによる90日間混餌投与を開始もしくは、そのための用量設定試験を実施中である。

4. 医薬品及び医用材料の安全性に関する試験

1) 毒・劇物指定のための急性毒性試験

三酸化チタン、シクロドデカトリエン、硫化アンモニウム（文献）の経口・経皮急性毒性試験及び皮膚刺激性試験を行なった（薬務局安全課）。

調査業務

1. 化学物質による健康リスク評価

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、酸化的ストレスを誘発しうる化学物質の投与による臓器毒性の発現とその毒性発現機序を探る目的で、遺伝子改变動物を用いた解析を行った（生活衛生局生活化学安全対策室）。

2. 化粧品の眼刺激性試験代替法に関する調査

医薬品や化粧品等の眼粘膜刺激性試験で広く使用されているドレーズ試験の代替法として提案されている試験法のバリデーション結果の解析、検討を行い、ガイダンス案を作成し報告した（薬務局審査課）。

3. ダイオキシンのリスクアセスメントに関する調査

サルの子宮内膜症に関する実験結果について、文献考察を行った（生活化学安全対策室）。

4. 医薬品ガイドラインと医薬品等国際調和業務への協力

ICH の S6 バイオテクノロジー応用医薬品の安全性評価に関する研究を行い、Step 4 に達した文書の翻訳を加えて報告した（薬務局審査課）。

研究業務

1. 生殖・発生障害に関する基礎的研究

1) 体節形成における分節化と開始機構の解析

発生初期の体節形成における分節化機構を明らかにするため、遺伝子改变動物の作製と解析及び分節化に関与する遺伝子のクローニングを行う。

2) Mesp1, Mesp2 遺伝子エンハンサー特異的欠損マウスの作製と解析

Mesp1, Mesp2 遺伝子の上流をレポーター遺伝子がないだ種々のベクターを作成後、マウスに導入、エンハンサーの解析を行うとともにエンハンサー特異的ノックアウトマウスを作製する。

3) 原腸陥入をモデルとした組織系形成の研究

原腸陥入によって形成される初期中胚葉に発現する遺伝子 Mesp1 の機能を解析することにより、中胚葉細胞の運命決定機構を探る。

4) 生殖細胞の発生と分化に関する基礎的研究

生殖細胞形成に及ぼすミトコンドリアのリボゾーマ RNA の関与を調べるために、リボゾーマ RNA を特異的に切断するリボザイムの over expression トランスジェニックマウスを作製し、解析する。また、マウス始原生殖細胞の発生分化に関与するクローニングを行う。

5) ダイオキシン等内分泌搅乱環境汚染物質のヒト及び生態系に対するリスク評価に関する研究

マウス胚幹細胞は種々の細胞に分化できる多分化能を有する胚盤胞内部細胞塊由来細胞である。この性質を利用して内分泌搅乱性化学物質の発生分化への影響を評価する。

6) 精巣細胞各種分化系列を標識する抗体の作製と精巣の分化・増殖に関する医薬品開発のための技術基盤の整備

セルソーターを用いて、精巣における精子形成過程の状態を、迅速かつ鋭敏に把握する解析技術を確立するため、検討を行う。

2. 分裂細胞系の組織障害性毒性に関する研究

1) 化学物質や放射線による細胞障害機構、とくにテロメアおよびテロメアーゼの変化に関する研究

体細胞は分裂を繰り返す毎にテロメアの短縮をきたし、細胞障害にあってはこれが促進するものと考えられる。他方、発がん刺激をはじめとした細胞障害では、テロメアーゼの発現が観察され、これが持続増殖の基礎を形成している。これらの機構を研究し、テロメアの変化やテロメアーゼの発現を指標とした細胞障害（毒性）に対する鋭敏で本質的な評価系を構築することを検討している（科技庁国研原子力試験研究費）。

2) BrdUrd と近紫外部紫外線照射を組み合わせた細胞動態試験法の開発に関する研究

プロモデオキシリジンを取り込んだ DNA 合成期の細胞は、300 nm 以上の波長の近紫外部紫外線に対する感受性が高まる。この性質を利用した鋭敏な細胞動態試験法の開発をすすめ、老化個体、カロリー制限下における造血幹細胞動態において一定の成果を得た（厚生科学研究健康地球研究推進事業、文部省科研費奨励）。

3) TGF- β の増殖抑制機構に関する研究

上皮系および造血幹細胞系での TG- β の抑制機構について、それぞれ検討をすすめている（文部省科学研究補助金、など）。

4) 遺伝子改变動物を用いる発癌性短期試験に関する研究

p53 欠失マウスを用い、遺伝子変異の固定性(genotoxic fixation)に関する試験として、パラクレシディンによる発がん試験を開始した。吸入による（職業暴露条件でのベンゼンの発がん性についての解析も進めた。遺伝子変異発現性 (genotoxicity expression) に関する実験については、復帰突然変異性陰性物質の中からはペンタクロロフェノール (PCP) を、また、内分泌障害性化学物質 (EDCs) の中からビスフェノール A や DES (ディエチルスチルベストロール) を選定して検討を進めた（厚生省がん特別研究指定研究）。

5) 発がん機構における酸化的 DNA 傷害に関する研究

ペンタクロロフェノール (PCP) の発がんプロモーター作用に関して、酸化的 DNA 損傷、細胞増殖作用、細胞間連絡阻害ならびにアポトーシス阻害の関与について調べ、

発がんプロモーター作用の予測およびその機序の解明に関する研究を進めている（文部省科学研究費補助金）。

6) 肝障害性物質による臓器障害性及び発がんプロモーター作用に対する緑茶の抑制効果

肝障害性の環境化学物質である 2NP が、酸化的ストレスを伴ったミトコンドリア機能障害を起こすこと、また、これに対し緑茶が抑制作用を示すことを明らかとした。PCP による発がんプロモーター作用に対する緑茶の抑制効果、ならびに細胞間連絡に対する効果を検討している。

7) プロポリスの大腸における発がん抑制に関する研究

発がん抑制作用の知られるカフェ酸エステルなどを主成分とするプロポリスの大腸発がんに対する抑制作用機構研究のため、大腸粘膜上皮における 8-OHdG の動態等種々の条件設定を進めた（食品化学課）。

3. 非分裂細胞系の組織障害性毒性に関する研究

1) 非分裂細胞系における細胞傷害をアポトーシスを指標として観察し、アポトーシス誘発機序を解析する上での、遺伝子変異動物の有用性を検討し、終了した（厚生科学研究所健康地球研究推進事業）。

2) 薬物乱用と薬物依存性の強化効果の修飾ならびに薬物依存性評価法に関する基礎的研究

アカゲザル静脈内薬物自己投与実験より、コカイン摂取に及ぼすセロトニン(5-HT3)拮抗薬の影響について検討した。また、本年度よりビデオカメラによる行動観察を開始した（薬務局麻薬課）。

4. シグナル伝達系を介した組織障害性毒性に関する研究

1) 免疫系シグナルを介した細胞傷害発現機構の研究
皮膚感作性試験として用いられている Magnusson & Kligman 法を用いる試験法の機構解析を行い、同試験法の改良のための基礎的検討を行って、成果は欧文誌に投稿中である。

2) 内分泌障害性化学物質の作用機序と検出系の確立に関する研究

生殖をはじめとする内分泌器官の機能への影響が懸念される化学物質の作用機序の研究とその検出系の樹立のための研究を行っている（食品規制国際協調促進研究事業）。

3) 受容体・リガンドシステムを介した造血機構制御の研究

受容体遺伝子過剰発現マウスや、欠失導入マウスの作製によって、当該のリガンドの過剰もしくは欠失発現型での、造血機構の検討を進めている（文部省重点領域研究）。

5. 毒性試験法の開発に関する実験的研究

1) 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の作成

化学物質投与動物の血清、肺、心、肝、腎、脾、精巣中の必須元素の測定を行うと同時に、正常値の集積も継続し

ている（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 9 年度～平成 11 年度）。

2) 知的基盤「化学物質安全特性予測基盤の確立に関する研究

“生体内化学物質の挙動”で平成 9 年度はチオレドキシン遺伝子変異マウスの生産、維持を行った（科学技術庁、平成 9 年度～平成 11 年度）。

3) 28 日間試験への神経毒性試験の導入のための基礎的検討

OECD の 28 日間試験法が改訂され、国際的ハーモナイズを考慮し、国内での同試験法に神経毒性試験法を追加すべく、その基礎的な指針を検討している（厚生科学研究所、生活化学安全対策室移し替え）。

4) 突然変異を導入した胚幹細胞を用いた薬剤性初期発生傷害の短期検知システム

胚幹細胞に薬剤傷害高感受性突然変異を導入し、このものに薬剤を暴露の後、培養条件下での変化と、胚幹細胞の外胚葉及び中胚葉系細胞への分化への影響についての基礎的検討を行っている（文部省科研費基盤研究 A）。

5) ヒト型免疫系再構築マウスの開発

ヒト型組織適合抗原系を導入したマウスを作製することを通じて、ヒトの可移植性腫瘍組織やヒト正常組織の移植可能な実験動物の開発を目指す。そのため、ヒト染色体とマウス A9 細胞のハイブリッド細胞約 700 クローンの中からヒト HLA 領域を含む 6 番染色体を有するクローンを PCR 法にてスクリーニングし、ES 細胞と融合するクローンを同定した。

薬理部

部長 大野泰雄

概要

有効性安全性評価のための科学技術開発に関する研究、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、生体機能における情報伝達に関する薬理学的研究、医薬品等のトキシコキネティクス、及び医薬品等の細胞機能に及ぼす影響に関する薬理学的研究を行った。調査に関する業務としては、ダイオキシンのリスクアセスメントに関する研究、ICH を通じた臨床試験との関係における非臨床試験実施タイミング (ICH-M3)、一般薬理試験及び薬物動態試験ガイドラインのハーモナイゼーションのための研究を行った。行政協力の面では昨年に引き続き、数多くの調査会に参画した。また、日本動物実験代替法学会主催、国立医薬品食品衛生研究所後援による動物実験代替法の現状と OECD ガイドラインに関するワークショップ（平成 10 年 1 月 30 日）を組織・実行した（12 月 5 ～ 6 日）。

人事面では、小泉修一技官は5月7日よりイギリス、ケンブリッジ大学バーラム研究所のベリッジ教授のもとで容量性カルシウム流入に関する研究のため留学した。10月31日に一時帰国後、本現象に関与するチャネルである可能性の高い遺伝子 *trp* との関連についての検討を行うため、12月1日より平成10年11月30日まで再出張する事となった。科学技術特別研究員の上野伸哉博士及び引間知広博士は昨年度より継続して採用され、それぞれ中枢神経系におけるATPの役割についての研究及び薬物の皮膚吸収に関する研究を行っている。平成10年4月1日付けで長尾重之主任研究官が退職した。また、藤森觀之助第二室長が代謝生化学部長に、中澤憲一主任研究官が第二室長に昇任した。佐藤 薫博士が採用され、第二室に配属された。

国際会議のための短期海外出張として、大野泰雄部長がロンドンで開催されたICH会議に出席し、ICH-M3のステップ4文書の作成に関わった(7月14日~18日)。ついで、ロンドンで開催されたECVAMの会議に参加し、眼刺激性試験代替法について実施した施設間バリデーション結果について報告し、審議するとともに、ヨーロッパの代替法の行政的利用の状況及びバリデーション結果について討議し、今後どのような解析が必要か審議した。藤森觀之助第2室長はローマ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22日~10月1日)。また、カナダのトロントで開催されたOECD神経毒性ガイドンスに関する検討会議に出席した(3月30日~4月1日)。

国外の学会出張としては、中澤憲一主任研究官は韓国生物物理学会に招待され、「ATP受容体とチャネルの細胞内カルシウム調節及び神経伝達物質による制御」について講演した(7月11日)。また、大野泰雄部長は米国ミシガン州 Ann Arbor で開催された国際全身オートラジオグラフィー学会に出席し、「反復投与組織分布試験のハーモナイゼーションと我が国のガイドラインへの組み込み、特に定量的全身オートラジオグラフィーについて」という題で講演した(9月21日~25日)。また、米国、メリーランド州ボルチモアで開催された、薬物相互作用に関する第2回国際シンポジウムに出席し、「薬物相互作用を新薬申請の段階でチェックする方策についての日本での検討結果」について講演した(11月19日~23日)。

我が国で開催された国際学会に関しては、大野が木更津で開催された日米シンポジウムにおいて「CNPによるイヌ肝CYP2B11の誘導と前癌症状の有無」について講演した(5月27日)。また、横浜で開催されたアジア毒科学会において「毒性試験法の国際的ハーモナイゼーションの最近の進歩：トキシコキネティクス」について講演した(7月2日)。

今年度においても日本薬理学会、日本薬学会、日本毒科

学会、日本分子生物学会等、多数の国内学会に部員が参加し、多くの講演・研究発表を行った。それらのうち、日本動物実験代替法学会第11回大会における、宇佐見らの「ラット全胚培養における異種補体成分C3の胚栄養因子活性に関する研究」の発表に対してゴールデンプレゼンテーション賞を授与された。

なお、平成9年度はトキシコキネティクスに関するGLP査察の確立のために延べ4人が医薬品の国内GLP査察を行った。

研究業績

1. 有効性安全性評価のための科学技術開発に関する研究

眼刺激性試験代替法として開発された各種の *in vitro* 試験法について行った施設間バリデーションの結果を統計学的に解析し、血清添加培養液を用いた細胞毒性試験により無刺激性物質と刺激性物質の識別、及びある程度の刺激性強度の評価が可能であることを示した。この結果に基づいて、代替法を従来のドレイズ試験法と組み合わせ、動物の使用数と苦痛を最少限になるような評価ガイドライン案を作成した(厚科研)。

医薬品開発及び評価におけるヒト組織を用いた試験系の意義について検討し、P450発現系のみでは不十分であることを示した。また、諸外国におけるヒト組織利用に関する米国のガイドラインや法律について調査し、米国臓器移植法や胎児・胎盤の使用に関する基準、ヒト組織の生物医学研究への利用に関するガイドライン、インフォームドコンセントの様式等の資料を収集した。ヒト肝組織の保存、供給、及び利用法について検討し、死後時間の経過した死体から摘出した臓器では薬物動態研究にはふさわしくないことを示した(厚科研)。

ブルーム症候群原因遺伝子の変異を酵母の相同遺伝子に入れ、生体反応の感受性の変化と疾患発生との関連について検討し、ATP結合活性の有無が、疾患発生と関連していることを示した。

薬理学的手法を用いたスクリーニング毒性評価法に関する研究においては、同程度の流涎を誘発する量の有機リン系農薬(トリクロロホン)及びカルバメート系農薬(オキサミル)を投与し、血清中 cholinesterase 阻害作用を比較し、有機リン系農薬の方が、カルバメート系農薬のそれより cholinesterase 阻害作用が長く持続することを示した(厚科研)。

ヒト薬物代謝酵素を用いた薬物の毒性試験系の開発においては、薬物およびある種の癌原物質の代謝に関与し、遺伝的多型性を示すヒト硫酸転移酵素分子種につき、野性型、および異型酵素の大腸菌内発現系を作成した。また、動物細胞内で野性型、異型硫酸転移酵素を発現させるためのベクターを構築した。

2. 医薬品等の中権機能に及ぼす影響に関する薬理学的研究

痛みの情報伝達におけるT4P受容体の役割を明らかにする研究の一環として、後根神経節ニューロンにおけるATPの作用を電気生理学的に明らかにした。また、L型Caチャネル拮抗薬シルニジピンがN型Caチャネルをも濃度依存的に抑制することを明らかにした。P2X2、P2X3受容体に対するATPの作用を強制発現系を用いて検討し、P2X2とP2X3のヘテロオリゴマー発現系での電気生理学的現象と細胞内Ca動態は、それぞれ単独の場合とは異なり、両者の中間的性質を持つことを明らかにした(委長寿)。

3. 生体機能における情報伝達に関する薬理学的研究

分子生物学的手法を用いたATP受容体・チャネルの神経薬理学的研究を行い、P2X2受容体を既に持っているPC12細胞にP2X3cDNAを強制的に導入し、安定発現する系を作成している。また、シナプス伝達における機能分子の作用機構の解明に関する研究では、海馬培養神経細胞からのグルタミン酸放出をATPが抑制することを明らかにした。また、ATPの作用点がシナプス前膜にあることが示唆された(科振調)。

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

ラット全胚培養を用いてセレンの発生毒性には、胚グルタチオンが関与することを明らかにした(委長寿)。

食品添加物であるbiphenylの代謝を雌雄のBDF1マウス及びF344ラットを用いて検討し、biphenylの主排泄経路は尿中排泄であり、マウスでラットより速いことを示した。また、肝ミクロソームでのbiphenyl代謝活性もマウスがラットより高い傾向にあった。ラットにおける代謝はP-位の水酸化が中心で、BDF1マウスではP-位の水酸化のみならずO-またはm-水酸化が起こり、続いて毒性につながる2,5-dihydroxybiphenylが生成した。肝ミクロソームのO-水酸化体から2,5-dihydroxybiphenylの生成する代謝活性は雌マウスで高いことが雌マウスでのみ発生する肝ガンの原因と考えられた(厚移替)。

MBIとMMBIについて、ゴム老化防止剤Mercaptobenzimidazole(MBI)及びそのメチル誘導体Mercaptomethylbenzimidazole(MMBI)の甲状腺毒性発現における著しい相違についてトキシコキネティクスの観点からラットを用いて検討した。両化合物の血中未変化体濃度には顕著な差が見られ、甲状腺障害の弱いMMBIでは、反復投与により代謝酵素誘導によりAUCがMBIに比して著しく低下することが毒性発現の差の原因となっていることを明らかにした(試一般)。

ステロイドエステルの皮膚内代謝及び結合について検討し、ヘアレスマウスを用いて種差及び系統により差異があ

ることを示した。

5. 医薬品等の細胞機能に及ぼす影響に関する薬理学的研究

ATP受容体刺激による生理反応に対する内在性金属イオン(Zn^{2+})の影響を検討した(厚科研)。また、有機リン系農薬であるIBPの代謝をヒト肝ミクロソーム及びP450発現系で検討し、CYP3Aで特異的に代謝されることから、同様にCYP3Aで代謝される多くの医薬品等と相互作用を起こす可能性があることを示した(厚科研)。

6. その他

臨床試験との関係における非臨床試験実施タイミングに関するハーモナイゼーションの検討においては、ICH-step IIのガイドラインに対する国内の意見を聴取・集約するとともに、ICH-4での審議に反映させ、Step IVの合意を達成した。更に、合意文書の翻訳を完了し、厚生省に提出した(厚科研)。また、一般薬理試験及び薬物動態試験ガイドラインに関しては国際的ハーモナイゼーション及び最近の科学技術の進歩に応じた変更を行うための検討を行い、前者については和文草案を作成した。後者については研究班の草案に対する意見を我が国内外に求め、それらの意見を検討し、研究班としての最終案を作成し、厚生省に提出した(厚科研)。また、ダイオキシン及びコプラナーPCB類の体内動態、毒性発現機序、毒性を弱めるための方法について文献調査を行った(厚科研)。また、ダイオキシンの子宮内膜症誘発可能性との関連で、その組織分布及び免疫毒性と子宮内膜症との関連、Ah受容体と免疫毒性との関連、及びTCDD暴露とヒト子宮内膜症との関連について調査した(厚科研)。

病 理 部

部長 広瀬雅雄
前部長 高橋道人

概 要

前年度に引き続き、化学物質の毒性・発癌性に関する病理学的研究、自然発生病変の診断の確立に関する研究、安全性評価のための試験法・生体指標に関する研究、動物発癌モデルに関する研究及び発癌メカニズムに関する研究、環境化学物質のリスクアセスメントに関する研究等を行った。

人事面では、高田幸一第二室長が平成9年7月1日付けて当研究所の医薬品医療機器審査センター審査第一部に主任審査官として異動した。また、豊田和弘研究官は平成9年12月3日より平成10年3月31日まで、ヒューマン・サイエンス振興財団の官民共同研究に携わる研究者の海外派遣事業により、米国NIEHS(National Institute of Environ-

mental Health Sciences) の Maronpot 博士のもとで組織内微量遺伝子の選択的検出法の検討に関する研究に従事するため留学した。

安原加壽雄主任研究官は平成10年3月16日付けで日本大学から「N-メチル-N-ニトロソウレタン投与ハムスターにおける間質性肺炎および肺がんの病理発生」に関する研究業績により獣医学博士の学位を取得した。

短期海外出張は、高橋道人前部長がベルギー・ブラッセルで開催された第2回農薬の環境及びヒトへの健康リスクアセスメント会議に出席し、討議を行った（平成10年1月19～1月24日）。西川秋佳第一室長がイタリア・ローマで開催された49回 FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会に出席し、討議を行った（平成9年6月17～6月26日）。また、ドイツ・ハノーファーで開催された「発がん性リスクアセスメントに関する IPCS ワークショップ」に出席し、討議を行った（平成10年1月26～1月30日）。三森国敏第三室長はフランス・パリでの OECD 第8回試験ガイドラインについてのナショナルコーディネーター会議に出席し、討議を行った（平成9年4月22日～4月26日）。さらに、フランス・パリでの OECD 第9回試験ガイドラインについてのナショナルコーディネーター会議にも出席し、討議を行った（平成9年12月2日～12月7日）。また、米国・リサーチトライアングルパークで開催された国立毒性試験計画（NTP）科学顧問委員会および英国・ロンドンで開催された CMR（国際医薬品研究センター）インターナショナルワークショップに出席し、発表および討議を行った（平成10年2月3日～2月12日）。イタリア・ローマでの第50回 FAO/WHO 合同食品添加物（動物薬）専門家会議（JECFA）に出席し、討議を行った（平成10年2月16日～2月28日）。

国外の学会出張としては高橋道人前部長および古川文夫主任研究官が米国ハワイで開催された第4回日米癌学会合同研究会に出席し、発表および討議を行った（平成10年2月16日～2月21日）。

研究業績

1. 自然発生病変の診断の確立に関する研究（厚生省がん研究助成金）
 - 1) LEC ラットの肝炎発症前後における肝細胞の超微形態学的变化に関する実験を開始した。
 - 2) LEC ラットの肝炎発症に対するグルタチオン賦活剤の影響を検討した結果、発症をやや増悪する傾向がみられた。
 - 3) WBN/Kob ラットの腎炎発症に対するエストラジオールおよび合成トリプシン阻害剤の影響を検討する実験を開始した。
 - 4) ラット慢性腎症の発生に対するジョサマイシンの影響を検討する実験を開始した。

2. 化学物質による臓器障害に関する研究（食糧庁依託研究費）

1) 塩化カドミウムないしその汚染米をラットに2年間投与し、カドミウムの臓器障害性と臓器内蓄積との関連性を検討する実験を開始した。

2) 塩化カドミウムをラットに8ヶ月間混餌投与し、用量による体内吸収率の有無について検討する実験を開始した。

3) ピリジン-トリフェニルボランをラットに4週間混餌投与及び2週間強制経口投与した結果、骨髄の主に赤芽球系細胞が傷害されることが明らかとなり、また B リンパ球傷害性が示唆された。

4) 大豆粉をラットに投与し、甲状腺および骨に対する影響を検索する実験を開始した。

3. 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）

1) ジョサマイシンのラットを用いた慢性毒性・がん原性試験を終了し、最高用量2.5%の投与でも顕著な毒性徵候は観察されず、がん原性は認められなかった。バラオキシ安息香酸イソプロピル、クチナシ青、乳酸鉄およびペクチン分解物のがん原性試験を継続中である。

2) クロロフィルの亜慢性毒性試験を終了した結果、無影響量は1.66%と推定された。キチン、シソ抽出物、納豆菌ガムの亜慢性毒性試験を継続中である。没食子酸の亜慢性毒性試験の投与量設定のための予備試験を行った。

3) ラット甲状腺二段階発がんモデルを用いてコウジ酸の腫瘍プロモーション作用の最小発現用量を求める検討を行った結果、プロモーション作用は比較的高用量に限定することが明らかとなった。

4) 雌 c-Ha-ras トランスジェニックマウスにニトロフランを混餌投与した結果、黄体ホルモンの上昇がみられ、それと卵巣腫瘍誘発との関連性が示唆された。

5) チアンフェニコールをラットに5日間反復投与した結果、精巣毒性は発現せず、その誘発にはさらに長期間にわたる暴露が必要であることがわかった。

6) DHPN によるラット二段階発がんモデルを用い、キシラジンと代謝物の2,6-キシリジンを一年間投与する実験を開始した。また、中間殺処分動物について鼻腔を組織学的に検索した結果、初期病変が観察された。

4. 化学物質の安全性評価に関する研究（厚生科学研究補助金）

1) ラットの腺胃粘膜における細胞増殖活性の検索が MNNG などの胃発がん物質のリスク評価に有用であることを明らかにした。

2) 29種の発がん物質についての検証により、ヒトプロト型 c-Ha-ras 導入トランスジェニックマウスが遺伝毒性発がん物質検出に有用であるとの結論に達した。

3) カーバメイト系のチラムをラットに反復投与した結果、末梢神経の神經終末に近い部位が選択的に障害され、本毒性が遠位軸索障害を特徴とすることが示された。

4) ラット肝中期発がんモデルを用い、クロフィブレートのプロモーション作用を検索した結果、P450 アイソザイムの誘導部位とコネクシン32の抑制部位が一致しない結果が得られた。

5. 有害性評価の生体指標に関する研究（厚生省がん研究助成金）

1) HAQO 投与ラットの標的臓器において、DNA 付加体形成、超微形態学的核小体変化、アポトーシス、p53 蛋白発現、細胞増殖亢進などが相互に連関して起こることを明らかにした。

2) 腫瘍発生に関する因子を解明するための *in situ* hybridization 法の応用について検討を開始し、プリン受容体を強制発現させた PC12 細胞において、その mRNA シグナルの検出に成功した。

6. 動物発がんモデルの確立に関する研究（厚生省がん研究助成金、厚生科学研究補助金、文部省科学研究費）

1) p-アニシティンを c-Ha-ras 遺伝子導入および非導入マウスに 6 カ月間投与した結果、c-Ha-ras マウスになんら腫瘍の誘発はみられなかった。

2) 新生児マウスにイニシエーション処置として ENU を投与し、離乳後に PNU ないしトリス(2-クロロエチル)リン酸の反復投与を行った結果、PNU によりリンパ腫誘発が増強された。

3) 新生仔マウスを用いた二段階発癌モデルの検討のため、生後 1 週齢のマウスに MNU を単回腹腔内投与後、既知発癌物質 UDMH ならびに HQ を連続投与する実験を行った。

4) ウレタンとその代謝物のビニルカーバメイトを c-Ha-ras マウスに 1 回投与し、組織検査及び遺伝解析を経時的に行なった結果、誘発肺腫瘍に導入遺伝子の変異が必ずしも関与しないことがわかった。

5) ウレタンに対する p53 ノックアウトマウスの肺がん感受性を検討するための動物実験を行った結果、肺腫瘍誘発の増強はみとめられなかった。

6) P53 ノックアウトマウスのペルオキシゾーム増殖剤に対する肝発がん感受性の有無を検討するための動物実験を行った結果、肉眼的には肝腫瘍は誘発されなかった。

7) c-Ha-ras 導入マウスのフェノールフタレンに対する発がん感受性を検討するための投与実験を行った結果、肉眼的には腫瘍は誘発されなかった。

8) PhIP の低濃度域での発がんリスク評価をラット大腸粘膜における aberrant crypt foci の発生状況で検索した結果、閾値は 10 ppm と推定された。

9) 新生児マウスに BOP を単回投与し、26 週後に病理

組織学的に検索した結果、肝臓と肺に高頻度の腫瘍発生が認められた。

10) 新生児マウスに BOP を単回投与後、MeIQX を混餌投与する 26 週間の実験を開始した。

11) 新生児マウスに BOP を単回投与後、PhIP を混餌投与する 26 週間の実験を開始した。

12) p53 ノックアウトマウスに MNNG を飲水投与した結果、胃発がんに対して感受性が高いことを示唆する成績を得た。

13) p53 ノックアウトマウスに MNU を飲水投与し、胃発がんに対する感受性を検討する実験を開始した。

7. 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、喫煙財団研究費）

1) ハムスター肺発がんモデルのポストイニシエーション期にアブラナ科植物成分 PEITC を投与した結果、影響は認められなかった。

2) 水道水中変異原性物質 MX のラット腺胃発がんに対する影響を検索した結果、促進効果を示すことが明らかとなつた。

3) ハムスター肺発がんに対する柑橘類成分 protocatechuic acid の影響を調べる実験を終了し、病理組織学的検索を開始した。

4) ハムスター肺発がんに対する合成イソチオシアネートの影響を調べる実験を終了し、病理組織学的検索を開始した。

5) ハムスター肺発がんに対するアロエの影響を調べる実験を開始した。

6) ハムスター肺発がんに対する柑橘類成分 auraptene の影響を調べる実験を開始した。

7) ハムスター肺発がんに対するショウガ科植物成分 1'-acetoxychavicol acetate の影響を調べる実験を開始した。

8) ハムスターに BOP を投与し、諸臓器における O6-methyl deoxyguanosine の発現を経時的に検索する実験を開始した。

9) 細胞増殖活性を指標とする短期胃発がん検索モデルにより、グルタチオン賦活剤などに抑制効果があることを見出した。

10) ラットに喫煙を負荷し、肝薬物代謝酵素系に対する影響を検索した結果、ハムスターとほぼ同様な影響を示すことが明らかとなつた。

11) 喫煙によって促進されるハムスター上気道腫瘍に対する β-カロチンの影響を検索する実験を開始した。

12) c-Ha-ras 導入および非導入マウスにウレタンを投与した結果、内因性 k-ras 遺伝子の変異はみられなかったが、導入遺伝子の変異が高率にみられた。

13) エチルニトロソウレアをP53ノックアウトマウス(OYC由来)および野生マウスに単回投与した結果、子宮に内膜肉腫が高頻度に誘発され、短期子宮発がんモデルとしての有用性が示唆された。

14) P53ノックアウトマウスにMNURを投与し、肺における誘発腫瘍の組織像とがん遺伝子変異との関連性を検討する実験を行った結果、本系マウスでは遅発性の肝障害により死亡する動物が増加した。

15) MNURによるハムスター肺線維症モデルを用いて、タバコ特異的ニトロサミンであるNNKを飲水投与し、MNUR誘発腫瘍に対する修飾作用について検討した結果、なんら修飾作用はみられなかった。

16) DMBAでイニシエーション処置した高脂肪食摂取ラットにプランタゴオバタを26週間投与する実験を行った結果、乳腺腫瘍をプランタゴオバタが抑制する結果を得た。

8. 特殊化学物質のリスクアセスメントに関する研究 (厚生科学研究補助金)

1) ダイオキシン及びコプラナーPCBのリスクアセスメントに関する文献調査を行い、各物質についての発がん性の特徴を総括した。

2) 環境エストロゲン様化学物質の毒性に関する文献調査を行い、各物質についての毒性の特徴を総括した。

変異遺伝部

部長 祖父尼俊雄

概要

平成9年3月31日をもって定年退官された第2室松井道子主任研究官は平成9年4月1日より客員研究員として当部の業務に協力している。平成9年4月1日より厚生省大臣官房厚生科学課に併任官として赴任していた第1室の本間正充主任研究官は10月1日に併任が終了した。

平成8年4月1日よりHS財団流動研究員として第1室にてトランスジェニックマウスを用いた遺伝子突然変異に関する研究に従事してきた王雪氏、平成8年12月1日より科学技術庁フェローとして第2室で突然変異誘発機構の生化学的研究に従事してきたDr. Petr Gruz、平成9年2月24日より科学技術庁フェローとして第2室においてフレームシフト型自然突然変異の分子機構の研究に従事しているDr. Jerome Wagnerは、それぞれ引き続き研究に従事している。

平成8年10月1日より協力研究員として第3室において培養細胞の形態学的解析および増殖動態に関する研究に従事している松野淳美氏、平成9年1月9日よりHS振興財団からの協力研究員として細胞培養技術等の研究に従事している樽松美治氏は、それぞれ引き続き研究に従事している。

HS財団の研究支援者活用事業の一環として百瀬真希氏が研究支援者として平成10年1月16日より第1室において培養細胞を用いた研究に従事している。

平成9年8月1日より第1室の鈴木孝昌主任研究官は科学技術庁長期在外研究員としてフランス、リヨンの国際がん研究機構(International Agency for Research on Cancer: IARC)のDr. Hiroshi Yamasaki(Unit of Multistage Carcinogenesis)のもとで、生体内での遺伝子突然変異を直接検出する新技術の開発に関する研究に従事している。

第3室の田辺秀之研究員は平成10年3月に北海道大学大学院理学研究科より「FISH法を用いた免疫グロブリンC ϵ 遺伝子の染色体比較マッピングによるヒト及び高等霊長類の核型進化に関する研究」で理学博士の学位を授与された。

短期海外出張としては、林真第1室長は平成9年4月13日～4月18日に米国環境変異原学会年大会に参加し、遺伝otoxicityと一般毒性試験での実験動物の共用に関するシンポジウムで発表を行った。

水沢博第3室長は平成9年6月13日～20日まで米国インビトロバイオロジー学会に出席し、ATCCを中心とした米国細胞バンク委員会において細胞バンク相互の協力体制、品質管理システム、WWWを利用した情報提供システムの構築などの現状について情報交換を行った。

祖父尼俊雄部長は平成9年7月12日～7月20日にベルギー、ブリュッセルで開催されたICH遺伝otoxicity専門家会議及びICH-4に出席し、マウスリンフォーマ試験の国際共同研究の成果について報告した。

祖父尼部長、林室長、能美健彦第2室長、松岡厚子主任研究官は平成9年9月7日～9月12日にフランス、トルーズで開催された第7回国際環境変異原会議に参加し、マウスリンフォーマ試験国際共同研究、末梢血を用いた小核試験の一般毒性試験への適用、新しいトランスジェニックマウスの開発について発表を行った。さらに、トランスジェニックマウスを用いた遺伝子突然変異に関する研究3題、ヒトリンパ球由来細胞株のp53遺伝子変異に起因する染色体組換えに関する研究、B(a)P、DMBAで誘発される数的異常に関する研究、マウス末梢血小核試験の自動測定法に関する研究についてポスター発表を行った。

上記の国際会議のサテライトミーティングとして開催されたフィンランド(平成9年9月2日～5日)とイギリス(平成9年9月14日～16日)の会議に祖父尼部長が、ドイツ(平成9年9月3日～6日)の会議に松岡主任研究官が参加し、さらに林室長がエジプト(平成9年9月15日～9月18日)で行われた4th Alexander Hollaender Training Course in Genetic Toxicologyに参加し、小核試験法の講義を行った。また能美室長はフランス(平成9年9月15日～

9月17日), ストラスブルグのCNRS研究所を訪問すると共にパリのCNRS研究所を訪問し, 新しいトランスジェニックマウスの開発についてセミナーを行った。

平成9年10月28日～10月31日に米国Delaware, Delaware大学で開催された遺伝毒性連盟1997年秋期大会に祖父尼部長が出席し, 改定されたOECD, ICHガイドラインに関するシンポジウムに参加し, マウスリンフォーマ試験国際共同研究の成果について報告すると共に, 遺伝毒性試験の標準的試験の組合せに関する論議に参加した。

平成10年2月13日～15日に米国ハワイ州, マウイ島で開催された日米医学協力研究会平成9年度突然変異・がん専門部会に祖父尼部長が出席し, λ cIIセレクション法を利用したトランスジェニックマウス突然変異検出系について発表した。また, 引き続き3月16日～23日に行われた第4回日米合同がん会議に出席し, 同様の内容についてポスター発表を行った。

祖父尼部長, 林室長, 能美室長, 本間正充主任研究官, 山田雅巳主任研究官は平成10年3月20日～3月28日に米国アナハイムで開催された米国環境変異原学会年大会に出席し, マウスリンフォーマ試験および培養細胞を用いる小核試験の共同研究について, 新しいトランスジェニックマウス系の開発, 遺伝的不安定性とp53遺伝子の変異の関連, 大腸菌の自然突然変異促進に関する遺伝子について, それぞれ発表を行った。

第2室においては, 新しく開発したYG株を国内47アンプル, 国外35アンプルを供給し, エームス菌株は国内50アンプル, 国外2アンプルを供給した。

第3室(細胞バンク)では分譲用細胞の補充のため培養業務を通じてHS財団を支援している。HS財団への分譲作業移管に伴い, 平成9年度後半から新規細胞の登録作業を再開し, 秦野研究所の協力を得てヒト染色体パネル細胞の登録を完了し, さらにヒト由来細胞株など5株の新規登録作業を開始した。特に高品質の細胞株とするためマイコプラズマ除去等を含めそれぞれの細胞株について3～4カ月かけて登録作業を実施している。品質検査として, これまで実施できなかったウイルス汚染検査を東大動物実験施設原澤亮助教授の協力を得て開始し, ウシ下痢症ウイルス(BVDV)で汚染されている細胞の割合が高いことが明らかになった。本ウイルスは血清によって持ち込まれる可能性が高いことから, ウイルスフリー血清の入手経路を確保し, 一部の細胞については除染法を適用しつつある。細胞の同定についてはFISH法を用いた染色体検査を適用し,新たに導入したヒト染色体パネル細胞の確認を行った。さらに, プライマリー細胞の利用が今後増加することを予測し, ヒト組織の研究資源化のために培地の開発や培養技術の開発に取り組んでいる。細胞株の情報については, 新たに性能を強化した専用のサーバーを設置し, 特に個々の培

養細胞の形態や品質管理結果を示す約1600枚の写真データを研究者に提供してきた。細胞バンク保存細胞株のp53遺伝子の状態に関する共同研究結果も一覧表にまとめてWWWに公開し, 細胞入手する際の参考資料として利用できるようにした。

研究業績

1. 食品添加物の変異原性に関する研究

4種類の天然添加物(イヌリン型ポリフラクタン, 魚鱗箔, サバクヨモギシードガム, ダンマル樹脂)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

農薬の低濃度曝露による変異原性を明らかにするため, DNAの酸化的損傷を修復する酵素を欠損した大腸菌株(*mutM*, *mutY*, *soxRS*欠損株およびこれらの遺伝子二重欠損株)を用いて, 農薬および関連物質(paraquat, diquat, menadione, plumbagin, その他)について変異原性を検討した(生活衛生局食品化学課)。

3. 無機砒素化合物の変異原性に関する研究

有機砒素化合物(ジメチルアルシン酸, メチルアルソン酸, トリメチルアルシンオキシド)についてマウスリンフォーマ細胞を用いた遺伝子突然変異試験を行った(環境庁企画調整局環境保健部)。

4. 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

新たに作製したトランスジェニックマウス(*gpt delta*)を用いて, ENUによって誘発された*gpt*突然変異体の突然変異スペクトルを, 同じくENU処理したBig Blueマウスの*lacZ*突然変異スペクトルおよびENU処理した大腸菌の*gpt*突然変異スペクトルと比較した。また, γ 線によって誘発されたSpi-変異体のスペクトルを, Big Blueマウスの*lacZ*突然変異スペクトルと比較し, それぞれ特異性を明らかにした(HS財団受託研究費)。

5. 突然変異誘発促進遺伝子のトランスジェニックマウスへの導入に関する研究

突然変異の誘発を促進する大腸菌*dinP*遺伝子の作用機構について研究を行い, *dinP*が主に自然突然変異を促進することを明らかにした。*dinP*の作用はF'プラスミド上の*lacZ*遺伝子のみならず, λ ファージ*dII*遺伝子でも観察され, -1フレームシフトといくつかの塩基置換変異を増大させていることが明らかになった(HS財団受託研究費(国際共同研究事業))。

6. 化学物質による健康リスク評価法に関する研究

トランスジェニックマウス変異原性試験用の大腸菌の ada_{ST} , oga_{ST} 遺伝子を破壊し, これらの欠損株を作製した。Big Blueマウスより得られたラムダDNAをMMSで処理した後にファージとして回収し, これを ada_{ST} ,

ogt_{ST} 欠損株に感染させたところ、野生株では突然変異の上昇が観察されなかつたが、欠損株では変異頻度が明らかに上昇した（生活衛生局生活化学安全対策室）。

7. 哺乳類培養細胞を用いる試験の開発に関する研究

培養細胞を用いる小核試験の試験プロトコールの確立のためには、顕微鏡観察における小核の識別およびその分類の標準化およびその普及が重要であるとの結論から、代表的な染色体誘発物質で誘発された小核の写真集の作成を行つた（労働省化学物質情報課）。

8. 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

6種類の制がん剤について、MutaTMMouse を用いて遺伝子突然変異誘発性を検討した。今回は5連続投与を行い、*lac* および *cII* 遺伝子における突然変異を調べた。その結果2種類の制がん剤では骨髄および肺において突然変異頻度の明らかな上昇がみられた。また、同一マウスに末梢血小核試験を適用して染色体異常誘発性を検討したところ、4種類の制がん剤で明らかな小核の誘発がみられた（厚生省がん研究助成金）。

9. 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 (MLA) の国際共同研究の結果、通常の短時間処理を行つた場合には MLA が十分に染色体異常誘発物質を検出することができないと結論された。しかし、24時間連続処理法を組み入れると、十分に染色体異常誘発物質を検出できることが判明した。一方、24時間処理で偽陽性が増加することが懸念されたため、本年度は非変異非発がん物質10種について試験を行つた。その結果24時間処理では明らかな陽性結果は得られなかつた（医薬品審査管理課）。

10. 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

イメージアナライザーを用いる魚類小核試験解析システムの精度向上のため、魚類の赤血球の認識および小核認識のアルゴリズムの改良並びにノイズ除去フィルターの開発を行い、精度の良い赤血球および小核の認識・同定が可能になった。実験材料の最適化を行うため、ヒラメのクローン魚を作製し、モデル化合物としてマイトマイシンCの小核誘発性を検討した。しかし、小核の出現頻度が充分上昇しなかつたため、個体間のばらつきを吟味できなかつた。現在、自動解析システムを適用して、観察細胞数を増やし、検出感度を高めて再評価を行つてゐる。神奈川県酒匂川の自然水を数カ所にわたつて採取し、化学分析による汚染度の結果と細胞毒性の成績を比較検討した。その結果、両者の間に相関性のあることが判明した。また、酸性雨で問題となる環境水の酸性化が、タナゴ胚を用いる試験系において化学物質の染色体異常誘発性を増強するという結果が得

られた（国立機関公害防止等試験研究費、環境庁）。

11. 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

新たに開発した突然変異検出用トランスジェニックマウス (*gpt delta*) に放射線を照射し、脾臓における Spi-突然変異頻度を測定すると共に、PCR 法を用いて Spi-変異体の欠失サイズを推定した。また、*gpt delta* マウス同士を交配することによりホモ体を得た。ホモ化したマウスでは両方の16番染色体に導入した遺伝子が挿入されていることを FISH 法により確認した（国立機関原子力試験研究費、科学技術庁）。

12. 突然変異誘発機構の生化学的解析に関する研究

突然変異の誘発を促進する MucB 蛋白質の精製法を確立し、MucB と DNA ポリメラーゼ β サブユニットとの相互作用について検討した（文部省科学研究費）。

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 遺伝子に変異をもつヒトリンパ球由来の WTK-1 細胞を用いて突然変異の特異性を検討し、p53 遺伝子の変異が組換え修復機構に異常をもたらし、遺伝子の不安定化を引き起こすことが明らかになった。

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つた。

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

ヒト上皮細胞の outgrowth 培養系での増殖制御機構を解析するために、増殖停止関連遺伝子のクローニングを行つた。その結果サブトラクションクローニングによって3個の増殖停止に関連する未知の遺伝子が単離された。既知の遺伝子群の解析からサブトラクションクローニングが成功していると考えられる。倫理問題については、基礎的事項として、ヒト材料を用いて研究することの意義、承諾書の問題、倫理・法律の整備、国際社会での問題点などについて、検討を行つた。これらの論議を基に具体的な施策を提案していくことを目指している（HS 財団受託研究費）。

16. CGH 法および染色体ペインティング法による培養細胞株の染色体再配列の解析

FITC と Rhodamine の2色の蛍光色素を使用して CGH (Comparative Genomic Hybridization) 法の実験条件の検討を行い、細胞バンクの各種ヒト培養細胞株について、各染色体ごとにゲノムの増幅および欠失領域の特定を行なつた。染色体数分布の計数とモード数の特定、Q バンド法による核型分析データと CGH データを統合して、染色体再配列の総合的な解析を進めている（文部省科学研究費）。

17. 培養細胞研究資源の高度化と研究資源基盤整備に関する研究

本年度はこれまで実施できなかったウイルスによる培養細胞の汚染検査システムを確立するため、PCR法を用いてウシ下痢症ウイルス（BVDV）による汚染の実態を調査した。約20種類の細胞について調査した段階で、その80%以上が汚染されているという結果が得られた。また、BVDVの除去の可能性について検討を行った。新規細胞の登録は継続して実施しており、本年度は約5種類の細胞が新たに登録された。インターネットへの情報については利用者から高頻度に寄せられる質問を集計し、専門家による解説および実験方法の実技に関する情報の充実を図った。また、画像データについては年間200から300枚程度を新たにデジタルデータとして登録した（厚生科学研究補助金事業）。

18. 培養細胞マスターバンク整備に必須な品質管理手法の開発と情報サーバー構築に関する研究

細胞バンク情報サーバーへのアクセスは昨年に比較して約30%ほど増加し、月間約1,000名を突破した。様々な品質管理手法の情報や画像情報の提供を高く評価しているようである。今年度は容量が大きい画像データをストレスフリーで利用出来るように、サーバーの能力の増強を図り、CPUの二重化とメモリー容量の増強を実施した。その結果、画像データの利用が極めて容易になった。現在までに静止画像のデータは約1600枚となったが、細胞の増殖の様子をムービーで見たいという希望も出てくるようになったので、連続画像としての自動記録システムの動作試験や作成した連続画像ファイルをネットワークで利用するためのフォーマットの検討を行った。現段階では高速通信網が使えない地域を考慮し、圧縮率の高いMPEGフォーマットが最適であるとの結論に達した。一部の画像はホームページ（<http://cellbank.nihs.go.jp/>）に掲載して試験的公開を実施した（厚生科学研究費補助金事業）。

総合評価研究室

室長 長谷川 隆一
前室長 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。

広瀬明彦主任研究官が平成8年5月1日付で厚生省生活化学安全対策室化学物質専門官に併任となった。

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「高生産量化学物質初期評価会議、ステアリング会合及び第26回合同会議」（平成9年6月、フランス）、「ステアリング会合及び第27回合同会議」（平成10年2月、フランス）、「高生産量化学物質初期評価会議」（平成10年3月、オーストラリア）に出席した。また、広瀬主任研究官は、厚生省職員として、国際化学物質安全性計画（IPCS）本部とOECD環境安全課に、化学物質対策に関する協議のため出張した。

化審法GLPの査察には、当室から1カ所、延べ1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で開始された。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、現在後述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8年度は、計画の5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、6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の決議に基づき全体で年間約50物質程度の安全性点検が続けられることが決定され、作業を行っている。

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141物質、高分子化合物75物質、良分解性物質30物質の計246物質についての審査が実施され、その内48物質が指定化学物質相当と判断された。

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及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及び新規化学物質の審査業務によって生じるデータの管理、利用の目的で、総合評価研究室と安全性生物試験研究センター各部の連携で開発したものである。本システムは昨年度末で一応完成したが、本年度もさらに充実したものとするためデータ収集や帳票出力等について改良を加えた。現在までにOECD担当36品目、国内点検38品目について、急性毒性試験37件、28日間反復投与毒性試験38件、反復投与毒性/生殖毒性併合試験15件、簡易生殖毒性試験7件、変異原性試験2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1200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、検索が可能なシステムとなっている。本データベースは、現在新規化学物質の安全性評価作業に非常に有効に利用されている。

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。

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。昨年度までに、前記安全性点検支援システム及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、精巢毒性について、投与物質との構造との相関について研究を行い、本年度は血中コレステロール値の変動等について同様の検討を行い、化学構造と毒性の関連性について多くの知見を得ている(厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告)。

また、本年度は、以前より行われていた厚生科学研究費

による「リスクアセスメント手法の改善と確立に関する研究」(研究班長:大森義仁元センター長)の一環として作成中の「化学物質のリスクアセスメントガイド」の最終取りまとめを当室が事務局となって行い、出版した(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、構造活性相關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)。

医薬品医療機器審査センター

センター長 首藤紘一

平成9年7月1日、医薬品医療機器審査センター設置に当たり、センター長を拝命した。同日付けで、福山圭一企画調整部長、平山一男審査第一部長、池谷壮一審査第二部長、水島忍審査業務室長及び森本和滋審査第一部審査管理官が就任し、センター長以下3部定員45人の体制で審査センターが発足した。苗村光廣審査第二部審査管理官は7月10日に着任した。

審査センターが設置されたということは、明治七年(1874年)3月に医薬品の品質の保証とわが国自前の医薬品製造を目指して国立医薬品食品衛生研究所の前身である司薬場が設立されて以来120年余りの薬事行政の歴史においても特筆されるべきものと言えよう。この組織は、21世紀に向けた新しい時代の中で、よりよい医薬品や医療用具等を世に送り出すために作られたものであり、国民みんなの側に立って、医薬品等を使う立場に立って、業務の執行に当たる所存である。この心構えに立って、適正、迅速な審査を行うことにより、国民医療、国民生活の充実と安全に貢献していくことを考えている。

審査センター発足以来、国立衛研各部や厚生本省、医薬品機構など各方面のご支援をいただき、おかげで、平成9年度の審査センター業務はおおむね順調に推移した。職員の半数以上は厚生本省や医薬品機構から異動した者であることに加え、医薬安全局から多数の職員が審査センターに併任していただき、審査センターはスムーズに立ち上がった。また、審査官には新たに採用された人も多く、7月には新人研修を行い、10月にはICHガイドラインを中心とした審査担当官等高等研修を行った。これらの研修に当た

っては国立衛研各部からも多数講師としてご協力いただいた。

近年医薬品等の開発は世界的規模で行われることが常態となっている状況を受け、承認審査手続きにおける国際的な調和を図っていくことがますます重要になってきている。審査センターにとってもこれは業務執行の仕方に直接影響する大きな課題であることから、平成9年7月にベルギーにおいて開催された日米EU医薬品規制整合化国際会議総会（ICH-4）には平山審査第一部長他5名が、また、平成10年2月に米国で開催されたICH常任委員会等には小職以下7名が出席した。医療用具に関しては、平成9年9月にベルギーにて開催された医療機器国際整合化会議（SG1）には木下審査第二部主任審査官が出席した。

わが国の医薬品や医療機器の審査体制については更に充実強化を図っていく必要がある。平成10年度には審査第三部の設置や12名の増員が認められたところであり、新年度からは、さらに強化された陣容で一層適切に業務を執行していきたい。

企画調整部、審査第一部、審査第二部

企画調整部長 福山圭一
審査第一部長 平山一男
審査第二部長 池谷壮一

概要

医薬品医療機器審査センターにおいては、医薬品、医薬部外品、化粧品及び医療用具について、その製造、輸入の承認や再審査、再評価のため、品目ごとに有効性、安全性及び品質の審査を行っている。新規性のあるものなどについては中央薬事審議会の調査会で審議が行われるが、調査会の事務局としての業務もその一環として行っている。

そのうち、企画調整部においては、承認や再審査、再評価の申請書類の受付、審査を終了したものについて審査結果の厚生本省への送付、治験届や治験中の医薬品等に係る副作用症例報告の受理、審査支援情報の収集や審査官への提供等を行っている。品目ごとの審査の事務は審査第一部及び審査第二部において行い、このうち、審査第一部は、医療用新医薬品のうち、消化器官用薬、泌尿生殖器官用薬、腫瘍用薬、抗生物質製剤、化学療法剤、生物学的製剤などを担当し、審査第二部は、その他の医療用新医薬品（循環器官用薬、中枢神経用薬、呼吸器官用薬、アレルギー用薬等）、医療用後発医薬品、一般用医薬品、医薬部外品、化粧品及び医療用具を担当した。なお、平成10年度からは審査第三部が設置されることから、この分担は平成9年度限りのものである。審査第一部及び審査第二部においては、それぞれの分担に応じ、調査会の事務局業務を行った。

審査センターの設置に伴い、審査の仕方は調査会中心の外部審査から事務局中心の内部審査へ重点を移すこととされている。このため、薬学、医学、獣医学、統計学等各分野の専門知識を有する審査官がチームとなって審査を行うこととし、平成9年4月以降申請された新医薬品について順次審査チームを組織し、審査結果は審査レポートに取りまとめるとした。また、それ以前の申請品目についても専門分野を異にする複数の審査官で各調査会の担当を分担する体制を取った。

センター発足時の1つの問題として、従来からの申請案件に平成9年4月からの改正薬事法施行の直前に大量のいわゆる駆け込み申請が加わり、新薬の承認審査事務に相当の「滞貨」が生じていたことがある。このため、新薬関係調査会の審議の効率化を11月以降各調査会に依頼するとともに、新薬承認審査を迅速に行うための方策を検討し、国立衛研研究部門や医薬品機構との間の連携、協力体制を強化するための施策を平成10年1月以降順次実施しているところである。審査内容の充実を図ると同時に、迅速に審査を行うことは重要な課題であり、新薬のタイムクロックを現行の1年半から1年に短縮すべく、更に努力していきたいと考えている。なお、審査センター発足後1年が経過し、審査事務の処理体制も軌道に乗ってきたことから、申請企業の「待ち時間」は相当に短縮されてきている。

審査センターにおいては、治験計画の届出や治験中の医薬品等についての副作用報告の受付を行っている。治験は届出制であり、あくまで治験の実施は治験依頼企業の判断と責任において行われるものであるが、審査センターとしても、安全性や新たに施行された新GCP適合性の観点から必要に応じ、企業に見解を照会する形で注意喚起する等所要の対応を行っている。また、これらは審査に当たっての参考情報として適宜活用を図っているところである。

以上その他、後発品の審査、海外も含めたGCP査察の実施、再審査・再評価関係の審査事務などもしくるべく実施した。

業務実績

平成9年7月に審査センターが設置されてから同年度末までの9カ月間における各業務の執行状況については次のとおりである。

製造又は輸入の承認申請について審査センターの審査を終了し、審査結果を厚生本省に送付した品目数は、医薬品、医薬部外品、化粧品及び医療用具の合計で6,800余に上る。これらは、更に本省において、必要なものは中央薬事審議会の各部会での審議を経て、最終的に承認の是非が判断され、必要な手続きが取られることとなるものである。

中央薬事審議会の審査関係の調査会は163回開催され、その全てに審査センター職員が事務局として出席した。

医薬品の治験については、計画の変更届（件数としてはこれが大半）などを含め2,677件の届出があった。また、治験中の副作用報告として5,354件の報告があったが、9割以上は海外のものであった。

承認申請品目のうち新有効成分である28成分に係る臨床試験について、申請企業、医療機関合計で84ヶ所に対してGCP査察を実施した。

医薬品再審査については247品目、医薬品再評価については579品目の処理を行った。

大阪支所

支 所 長 野 口 衛
前支所長 小 川 義 之

大阪支所の発展的改組による「国立厚生科学基盤技術開発研究所（仮称）」の創設計画は、平成8年4月に「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」が発足して会合が開かれたがその後中断した。しかし、国立衛研等との連携を図りながら、画期的な医薬品や人工臓器の開発等の基盤となる研究を行うための整備構想の策定に必要な調査研究を厚生科学研究「厚生科学基盤技術政策調査研究」事業として行うための研究班が新たに組織され、主任研究者に寺尾允男所長が任命された。これと並行して、「国立厚生科学基盤技術開発研究所整備構想検討委員会」（座長：石井威望慶應大学大学院教授）が結成されて、2回の委員会が開催された（第1回平成9年10月20日、第2回平成10年3月31日）。この検討会で出される意見を踏まえて、研究班は整備構想の策定を行うこととなっている。

本年度は行政改革・省庁再編計画、財政構造改革等の緊急かつ重要課題が国のレベルで大きく取り上げられたが、今後の厚生省所管7試験研究機関の再編計画や支所の発展的改組計画に対しても大きく影響するものと予想される。また、本所では平成9年7月より医薬品医療機器審査センターが設置されるなどの組織上の大きな変化が見られたが、支所問題はこれらの大変なうねりの中で従前よりもやや比重が低下している感は否めないであろう。支所職員の将来展望を切り開くためには具体的に何を行うべきかについて考えていきたい。

支所の施設設備等の改修工事関係では、平成10年度には老朽化した冷暖房設備の改修が行われることになり、平成8年度の外壁改修・塗装工事と平成7年度に行われた梁補強工事・内壁等塗装工事と相まって、安全面とともに見栄えも改善してきた。

試験研究業務については、支所の担当してきたインスリン製剤9品目の国家検定は平成9年3月30日をもって廃止さ

れ、引き続き平成9年3月31日から2年間は国家検査が実施されることとなっている。本年度も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、標準品製造等の支所3試験部全体としての業務実績は、医薬品国家検査227件、食用タール色素製品検査571件、特別行政試験6件、一斉取締試験38件について実施し、標準品は医薬品試験用41品目（7,127個）、色素試験用品目（450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課題、厚生科学研究6課題、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5課題、創薬科学総合研究3課題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試験部において大阪薬科大学学生（9名、3ヶ月）、大阪医療技術学園専門学校学生（2名、8ヶ月）、WHOフェロー研修生（1名、12日間）に対して行われた。

なお、平成10年3月31日付けで小川義之支所長が定年退職し、引き続いて4月1日付けで野口衛和歌山薬用植物栽培試験場場長が支所長に就任した。また、柴田正食品試験部長が平成10年3月31日付けで定年退職し、後任には4月1日付けで外海泰秀食品試験部第1室長が昇任した。その他、大阪支所庶務課の人事異動は次のとおりである。
 (10.3.31付) 永久保雅弘 総務部庶務課（庶務課会計係）
 (10.3.31付) 酒井 正 定年退職（庶務課庶務係）
 (10.4. 1付) 笠木直一郎 庶務課長（医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構）
 (10.4. 1付) 永堀雅幸 厚生省健康政策局研究開発振興課課長補佐に配置換え（庶務課長）

薬品試験部

部 長 岡 田 敏 史

概要

前年度に引き続き、医薬品の品質規格及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、エマルジョン及びリポソームなど微小分散系製剤の安定性及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、薬物療法の最適化を目指した病因鑑別診断用医薬品の開発に関する研究などを実施した。また、HS財團の第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・修飾及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」及び「分析・解析技術の開発に関する研究」に一課題づつ参加し、それぞれに着実な進展がみられた。

ヒトインスリン製剤の国家検定は、平成9年3月を以て終了し、本年4月より国家検査に移行した。件数は前年度に比べやや増加した。また、ブドウ糖注射液及びリンゲル液の国家検査件数は、ほぼ前年度並みであった。新規標準品としてセクレチンほか5品目を新たに設定した。

谷本室長は、第16回国際糖尿病会議に出席し、糖尿病性網膜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9年7月19～28日、ヘルシンキ）。また、同室長は、JICA専門家としてフィリピンの中規模食品医薬品試験所運営プロジェクトの指導のため、フィリピンに出張した（平成10年4月6～25日、マニラほか）。

業務成績

1. 国家検査

本年よりヒトインスリン製剤は、国家検査に移行した。全179件中、二相性インスリン製剤1件で総溶解インスリン値が規格外と判定され、不適とされた。その他は合格であった。また、ブドウ糖注射液47件、リンゲル液1件であり、すべて合格であった。

なお、ブドウ糖注射液及びリンゲル液の国家検査は、平成10年3月を以て終了した。

2. 一斉取締試験

ウリナスタチンを含有する製剤12件（注射液2件、用時溶解注射剤10件）につき、確認試験及び定量試験を行った結果、全品合格であった。

3. 特別行政試験

腹膜透析用剤6件につき、浸透圧、不溶性微粒子、カルシウム及びマグネシウム含量などの試験を行った結果、全品規格に適合していた。

4. 標準品製造

37品目につき、合計4,327個の標準品の製造を行った。また、新規標準品5品目を新たに設定した：セクレチン、組織培養ウロキナーゼ、ペオニフロリン、酢酸レチノール及びパルミチン酸レチノール。また、本年4月よりリボフラビンほか10品目の日局標準品の製造につき、（財）日本公定書協会への委譲を行った。

5. 國際協力

WHOからの依頼により、ヒトインスリン原薬及び製剤中のポリマー成分試験法の設定及びヘパリンナトリウム国際標準品の力価評価のための国際共同検定に参加した。

国際協力事業団のフィリピン中規模食品医薬品試験所運用プロジェクトに協力した。

6. その他

中央薬事審議会の各種調査会における審議及び日本薬局方、日本抗生物質基準、日本薬局方外医薬品成分規格の改

正作業（医薬安全局審査管理課）、指定検査機関に対する精度管理基準の作成（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

(1) 医薬品の規格及び試験法作成に関する研究

(1)-1 日局一般試験法の改正及び新規設定に関する研究

日局一般試験法「熱分析法」（案）を作成し、薬局方調査会に提出した。既に、調査会審議が終了し、内示案が出された。

「ビタミンA定量法」にHPLC法による定量法を新たに採用し、製剤分析へ応用するための基礎的検討を行った。その結果、錠剤、カプセル剤及び散剤に適用可能な試験条件を明らかにすることことができたので、HPLC法による製剤分析のための試験法案を作成した。

また、生物薬品の品質評価のためのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法及びアミノ酸分析法の国際調和案の作成に協力した。

(1)-2 医薬品の迅速分析法の確立に関する研究

ビタミンA（酢酸レチノール及びパルミチン酸レチノール）含有製剤のHPLC法による簡便、迅速な定量法を確立し、医薬安全局監視指導課に報告した。

(2) 標準品の品質規格の設定に関する研究

(2)-1 組織培養ウロキナーゼ、セクレチン、ペオニフロリン、酢酸レチノール及びパルミチン酸レチノール標準品の各候補品につき、生薬部等を含む複数機関での共同検定による品質評価を行い、それぞれ定量試験用の標準品として確立した。

(2)-2 平成10年度新規製造予定の熱分析用シュウ酸カルシウム・一水和物及びバイカリン標準品製造のための調査研究を行った。

(3) 情報理論に基づいた分析値信頼性評価手法の開発

示差屈折計を検出器として用いる場合、使用するポンプに依存して、ベースラインに周期性ノイズが現れるが、ゼロウインドウをノイズ周期に合わせることにより、FUMI理論の適用が可能であり、実際の繰り返し実験による精度が、理論的に予測される結果とよく一致することを明かにした（HS創薬科学総合研究事業）。

2. 高分子性医薬品及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) 高分子多糖であるヒアルロン酸の超音波照射による分解挙動に及ぼすイオン強度やヒアルロン酸濃度などの影響につき、詳細な検討を行った。ヒアルロン酸濃度が増加し、水溶液中で絡み合いによる高次構造が形成され、特徴的な粘弾性が現れる条件下では、分解（分子量低下）が抑制されることが明かとなった（HS受託研究費）。

(2) ヒアルロン酸の架橋ゲルとカチオン性医薬品との相

互作用につき、ゲルの膨潤-収縮挙動より観察したところ、相互作用の強さは医薬品の臨界ミセル濃度(cmc)に依存し、cmcの小さい医薬品ほど強い相互作用が認められた。この結果、架橋ヒアルロン酸ゲルとカチオン性医薬品との相互作用において、疎水性相互作用が重要な役割を果たしていることが示唆された(HS受託研究費)。

(3) ヒアルロン酸のサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)

による分子量評価法につき検討を行った。この結果、分子量200万以上の高分子画分においては、流速の増加により、みかけ上、分子量の低下することが観察され、SECにおけるクロマト条件設定の重要性を明らかにした(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

脂質微小エマルションの表面膜構造につき、主として蛍光分光法による構造解析を行い、脂質粒子の生体反応(血漿蛋白質との相互作用)や物理化学的安定性との関連性について検討を行った。蛍光プローブの導入によるエマルション表面の微細構造の観察の結果、エマルション表面膜は、二分子膜(リポソーム)と著しく異なる構造をもち、このことが脂質粒子の血漿アボリポ蛋白質による認識や凍結安定性の差異と密接に関連していることが明らかとなった(HS受託研究費)。

4. 創薬基盤技術の開発に関する生物化学的研究

(1) 分子の動的挙動解析に基づくタンパク質製剤の安定化に関する研究

トロンビンをモデルたん白質として、たん白質-多糖相互作用による種々の条件下での安定性につき酵素化学的に検討し、その安定化機構に関する考察を行った(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

糖尿病患者の赤血球アルドース還元酵素(AR)量と糖尿病性網膜症の発症率との関係を明らかにし、糖尿病合併症の発症病因の鑑別指標としてのAR量測定の意義を明らかにした。

(3) 代謝異常疾患治療薬の開発支援のための酵素評価系の確立に関する研究

組換えヒト型ARを用いたAR阻害剤の微量評価系を利用して、AR阻害剤としての新規オキサゾール誘導体のin vitroでの薬効評価を行った。

(4) 代謝性疾患の発症機序の解明に関する分子生物学的研究

糖尿病合併症の発症におけるポリオール経路の関与を明らかにするために、各種臓器のAR及びSDHの存在をRT-PCR法で明らかにし、さらに培養シュワン細胞でのARの発現動態をmRNAレベルで解析し、ARのmRNA

発現は、高血糖下での浸透圧等のストレス負荷により上昇することを明らかにした。

(5) ヒト型試験系に関する研究

糖尿病合併症の治療を目的とした新規化合物の有効性と安全性をin vivoヒト型試験系で評価する目的で、ヒト型AR遺伝子を発現する遺伝子改変マウスを作製することとした。そのため、先ずマウスAR遺伝子のクローニングとターゲティングベクターの構築を行った。

食品試験部

部長 外海泰秀
前部長 柴田正

概要

昨年に引き続きタール色素の製品検査、輸入食品検査、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、新開発食品素材の安全性に関する研究、生体内生理活性物質の生化学的研究業務等を行った。

人事面では平成10年3月31日付けで柴田正前部長が定年退官され、後任に平成10年4月1日付けで外海泰秀第一室長が就任した。同日付けで石光進第二室長が第一室長に、辻澄子主任研究官が第二室長に就任した。平成10年5月1日付けで岡田舞技術補助員が採用された。

海外出張では外海泰秀室長(当時)が平成9年10月27日より平成10年1月6日までフィリピン・農薬モニタリング体制改善計画短期派遣専門家として赴任した。石光進室長は平成9年8月31日から9月5日までカナダ・バンクーバーで開催されたWorld Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences '97に参加し、発表した。また吉井公彦技官は平成10年3月16日から19日まで米国・ヨセミテで開催された10th California Pesticide Residue Workshopに参加し、発表した。

業務成績

1. 製品検査

タール色素571検体(平成9年4月1日~平成10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. 研修

大阪薬科大学研究生3名の3ヶ月(10~12月)の研修を行った。フィリピンからの研究生2名の3日間(3月)の研修及びタイからの研究生1名の2ヶ月(4~5月)の研修を行った。

研究業績

1. 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製

食品添加物公定書と日本薬局方との調和をはかる観点か

ら、日本薬局方ヒ素試験法第4法と同じ操作手順で食用タール色素を用いて検討した。タール色素及びタール色素レーキとも回収率の低い結果が得られたことから、食用タール色素に本法を適用することは困難であると推察した。

(2) 食品中の添加物の分析法に関する研究

“食品中の食品添加物分析法”に記載されているトコフェロールの分析法は順相液体クロマトグラフィーにより、内部標準（IS）としてトコールを使用して行うことになっている。しかし、トコールは市販されていない。そこで、そのISとして2, 2, 5, 7, 8-ペンタメチル-6-クロマノールを用いその問題点を検討した結果、一部の食品に使用できることが判明した。

(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

既存添加物であるクエルセチンはルチン分解酵素によりルチンからも生成するため、クエルセチン及びルチンの同時定量法を検討した。逆相液体クロマトグラフィーにより同時定量が可能となり、そば加工品への添加回収率は90%以上であった。

2. 残留農薬分析に関する研究

(1) 残留農薬基準告示分析法に関する研究

アラクロール及びピリミノバックメチルのイソプロカルブ等既存告示試験法への適用性について検討した。また、アラクロールの類縁化合物であるブタクロール、ジメタクロール、メタザクロール、メトラクロール、プレチラクロール、プロパクロール、テニルクロール、ジエタチルエチル、アセトクロールについても同様の検討を行い、良好な結果を得た。

(2) 残留農薬迅速分析法開発に関する研究

平成9年度告示農薬の通知法（迅速分析法）への適用性について検討した。EPTC、アクリナトリン、アセタミブリド、ジフェンゾコート、シプロコナゾール、シラフルオフエン、テブコナゾール、ピリプロキシフェン、ピリミジフェン、ブチレート、メトラクロールのうち、EPTC、ブチレートは揮散性のため回収不良、アクリナトリン、ジフェンゾコートはGPCで回収不良であった。その他については適用性を認めた。

(3) 食品中残留農薬の簡易分析法の開発に関する研究

アセトニトリル抽出/食塩水分配による抽出、Bond Elut SAX + PSAによるクリーンアップ、UV及びFL同時検出のHPLCによる測定からなる青果物中残留農薬の一斉分析法を作製した。本法を輸入の野菜・果実に適用し、柑橘類からOPP、TBZ、イマザリル、クロルピリホス等を検出した。また、野菜からジメトエート、メタミドホス、DDVPを検出した。

(4) 農産物における複数農薬の残留実態の把握に関する研究

厚生省の既存告示試験法である“アルジカルブ等試験法”及び“メチオカルブ試験法”を統合して改良し、N-メチルカルバメート系農薬21種及びそれらの代謝物または異性体12種の、計33種を同時に定量する方法を確立した。本法ではジクロロメタンを使用せず、分析操作中に酸化される農薬をも検出できる方法とした。また、ポストカラム蛍光検出HPLC法であるため、検出限界は大多数について試料中0.01 ppmと高感度に測定できた。

(5) 残留農薬分析のGLP対応に関するクロマトグラフィー手法の研究

残留農薬のGC分析において問題となるマトリックス効果の詳細と対処法、結果の公開法について検討した。殺菌剤テクロフタラムの代謝物であるテクロフタラムイミドのGC分析においてマトリックス効果を示す主因物質としてリノール酸を検討した。また、殺菌剤トリシクラゾールのGC分析においてリノール酸がマトリックス効果を引き起こすことを明らかにした。さらに、文献調査によってマトリックス効果の起りやすい農薬を検索し、現時点での最良な解決法を探った。これらの結果をホームページ化した。

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

穀類中の残留農薬を超臨界流体抽出（SFE）し、ゲル浸透クロマトグラフィー（GPC）並びに固相抽出ミニカラム（Sep-pak フロリジル）でクリーンアップした後、HPLC及びGCで測定する一斉分析法を作製した。本法により小麦、大麦、とうもろこし等からマラチオン、クロルピリホスメチル、ピリミホスメチル等を検出した。

4. 新開発食品素材の健康影響評価に関する研究

(1) フラボノイド化合物の生体内抗酸化能及び脂質代謝を指標とした安全性評価に関する研究

5週令のWister系雄性ラットにヘスペリジンを0.001-1.0 g/kgの用量で3週間連続経口投与し、血清及び肝臓中の脂質レベルの変化を調べた。食餌摂取量は投与量が0.1 g/kg以上で減少する傾向があったが、ラットの成長には有意な影響はなかった。0.5 g/kg以上で血清トリグリセライド及びリン脂質濃度の減少する傾向が認められたが、その他の血清脂質及び肝臓脂質については顕著な影響はなかった。また、フラボノイド化合物の生理作用等に関する文献調査も行った。

5. 生体内活性物質の生化学的研究

(1) 多価不飽和脂肪酸の安全性に関する研究

自動酸化した多価不飽和脂肪酸中の過酸化脂質の一つである脂肪属アルデヒドのHPLCによる簡易分析法を開発した。また、自動酸化した植物油中の脂肪属アルデヒド生成量と生体内抗酸化物質であるトコフェロールの含有量との関係を調査した。

(2) ヒドロキシルラジカルを生成する食用着色料の安全

性に関する研究

光照射することによりヒドロキシルラジカルを生成する食用着色料について探索したところ、タル色素である食用青色2号（インジゴカルミン）と同様に、リン酸リボフラビンナトリウムからヒドロキシルラジカルの生成することを見出した。また、その生成メカニズムをラジカル補足剤の添加効果等により明らかにした。

生物試験部

部長 川島邦夫

概要

前年度に引き続き、医薬品の規格及び分析法に関する研究、細菌性発熱性物質の構造と作用機序に関する研究、天然由来医用材料の生物学的安全性評価に関する研究、胎児毒性の発現に関する研究、化学物質の生殖細胞形成および受精能に及ぼす毒性学的研究、既存化学物質の生殖毒性発現に関する研究、細胞の増殖・分化制御機構におけるストレス蛋白質の役割に関する研究などを行った。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事業の「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」、同財団による第2期創薬科学総合研究事業の「中枢神経系幹細胞樹立細胞系の開発」、厚生省特別研究の「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」に参加し、それぞれ成果を上げた。

海外出張は、江馬 真第二室長が米国での毒学会第37回年会（平成9年2月27日～3月7日、シアトル）で塩化トリフェニルスズによる着床阻害の原因としての脱落膜反応の抑制について、また、Am. Coll. Toxicol. 第18回年会（平成9年11月8日～16日、マクリーン）でブチルベンジルフタレートの早期胚致死作用の原因としてのラット子宮における脱落膜腫形成抑制についての成績をそれぞれ発表した。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ヶ月）を受け入れて行った。

人事面では平成9年6月1日から田中寿一技官が代謝生化学部との併任官として赴任し、同付けて、前田秀子が非常勤職員として採用された。

業務成績

1. 国家検査

インスリン製剤179件（生物試験、無菌試験）、ブドウ糖注射液47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。

2. 一斉取締試験

ヒアルロン酸ナトリウムを含有する製剤26件（エンドト

キシン試験）を行い、全品目とも合格であった。

3. 特別行政試験

輸液製剤4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2552個、胎盤性性腺刺激ホルモン100個、血清性性腺刺激ホルモン98個、インスリン50個をそれぞれ製造した。なお、平成10年度新規製造予定の低含量エンドトキシン標準品製造のための調査及び予備的研究を行った。

5. その他

日本薬局方の改正（薬務局研究開発振興課）、特にエンドトキシン試験法の日局13改正案及び国際調和案の作成に協力した。

研究業績

1. 発熱性物質に関する研究

i) 医薬品の規格及び分析法に関する研究

エンドトキシン試験法に関する国際調和案の原案作成作業をほぼ完了した。また日局13第1追補のエンドトキシン試験法関係の改正案の作成に携わった。更に、平成10年度新規製造予定の低含量エンドトキシン標準品製造のための調査および予備的研究を行った。

ii) 細菌性発熱性物質の構造と作用機序に関する研究

マクロファージに対する細菌性発熱性物質（エンドトキシン）の作用機構を明らかにする目的で、細胞膜上のエンドトキシンレセプターと考えられるCD14の発現量と細胞のエンドトキシン応答性との相関性と、その応答性に及ぼす血清中のエンドトキシン結合蛋白質の影響などについて検討した。

iii) 天然由来医用材料の生物学的安全性評価に関する研究

天然由来医用材料中のエンドトキシンの定量法について基礎的検討を行った（厚生科学研究補助金）。

2. 医薬品等の有効性、安全性に関する研究

i) 胎児毒性の発現に関する研究

(1) 船底の防汚剤として使われてきた tributyltin chloride をラット胎児の器官形成期に1回経口投与して奇形胎児発現の感受期について検討したところ、妊娠8日及び妊娠11～14日に投与したときに奇形胎児が発現することが明らかになった。

(2) 可塑剤として使われている dibutyl phthalate をラット胎児の器官形成期に1回経口投与して奇形胎児発現の感受期について検討したところ、妊娠8～9日及び妊娠15日に投与したときに奇形胎児が発現することが明らかになった。

(3) 可塑剤として使われるフタル酸エステルの代謝物の一つである phthalic acid をラット胎児の器官形成期に投与して発生毒性について検討したところ、発生毒性を示さ

ないことが明らかになった。

(4) tributyltin chloride をラットの妊娠初期に経口投与して生殖障害作用について検討したところ、生殖障害作用は妊娠の早い時期に投与したときに強く発現することが明らかになった。

ii) 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

サイトカインの産生誘導因子であるエンドトキシンの検出手法として、従来より汎用されているリムルス試験法の有効性と限界ないし弱点を明らかにすると共に、その弱点を補完するべく、ヒト健常人の全血培養系やマクロファージ細胞株の培養系でのサイトカイン産生誘導能を指標とする検出手法を新たに考案、設定し、これらの手法を組み合わせることによるエンドトキシン検出システムの構築について検討した (HS 振興財団受託研究費)。

iii) 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

可塑剤 butyl benzyl phthalate (BBP) を妊娠ラット及び偽妊娠ラットに投与して BBP の胚致死作用と脱落膜反応抑制作用とを比較したところ、両作用はよく相関し、妊娠初期における胚致死は脱落膜反応抑制に起因することが示唆された (厚生省特別研究)。

iv) 既存化学物質の生殖毒性発現に関する研究

10週齢雄ラットに diheptyl phthalate を 4 週間投与し、雄性生殖能を調べたところ、精巣毒性は極めて弱く、雄の生殖能に影響しないことを明らかにした。

v) 化学物質の生殖細胞形成に及ぼす毒性学的研究

ethinylestradiol を妊娠後期のラットあるいは雄ラットに投与した場合、合成卵胞ホルモン剤は、雄の精子形成過程を障害するだけでなく、雌胎児の男性化を惹起することが明らかになった。

vi) 化学物質の受精能に及ぼす毒性学的研究

正常ラット精子を用いたハムスター卵貫通性試験の培養条件は、精子の前培養時間 5 時間、ハムスター卵への媒精時間 4 時間、トリプシン処理時間 1 分が最適であった。

3. 創薬研究及び創薬研究資源の開発に関する研究

i) 中枢神経系幹細胞樹立細胞系の開発

ラット胎生 12 日胚神経管より調製した神経上皮細胞は、EGF 添加培地中で浮遊性の細胞塊 (sphere) を形成しながら増殖した。この sphere は、シングルセルへの分散が可能で、分散した細胞は凍結保存および再培養による増殖が可能であった。この sphere の細胞マーカー遺伝子の発現を検討すると、中枢神経系幹細胞マーカーの強い発現が認められた一方で、神経細胞マーカーの発現は弱く、sphere が、主として未分化の中枢神経系幹細胞より構築されていることが示された。更に、この sphere を構成する細胞が培養条件により、神経およびグリアへの分化能を

保持しており、中枢神経系の研究に極めて有用な素材であることが示された (HS 振興財団受託研究費)。

ii) 細胞の増殖、分化制御機構におけるストレス蛋白質の役割に関する研究

ヒトメラノーマ細胞に各種の分化誘導剤を作用させ、ストレス蛋白質の一種である HPS70 の発現量の増減と細胞内分布の変化について検討した。

北海道薬用植物栽培試験場

場長 畠山好雄

概要

平成 9 年 7 月 1 日に国立衛生試験所が国立医薬品食品衛生研究所へ名称変更になったことに伴い、門柱名板・標識等の更新を行った。

また、昭和 63 年に購入したトラクターが性能劣化したため、平成 9 年 8 月に更新した。人事面では、初めて作業長会議が東京で開かれ、澤井清道作業長が出席して、栽培試験場行(二)職の人事異動に関する討議がなされた。

研究業務としては、厚生省麻薬課の委託研究である「けしの直接抽出法に関する研究」、同開発振興課の委託である「薬用植物栽培・品質評価指針に関する諸試験」を行い、各報告書、指針案を提出した。なお、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」は終了した。

業務成績

1. 種子交換

採 取	280種	(筑波試験場へ送付)
受け入れ	3件	25種
分 譲	38件	43種

2. 指導業務

ケシの講習会が平成 9 年 7 月 29 日に下川町で開催され、一般耕作者および関係機関に対し講習を行った。その他、例年どおり、多数の来場者に薬用植物の情報提供を行った。

研究業務

1. けしの直接抽出法に関する研究

けし栽培にはアヘン採取を目的とする栽培法と朔果の収穫を目的とする方法の 2 つがあり、後者では機械化による大規模経営が原則である。その場合、従来の条播・間引きという管理は不可能であり、直播・不間引か育苗・移植が考えられる。古来、けしの移植は不可能とされていたが、成型苗を利用すれば 80% 以上活着することは昨年、実証したので、今年もこの方法を利用した。温室にて早期育成した成型苗は直播・標準苗に比べ、収穫期の草丈・朔果の大きさ、茎重・果重が大きく、10a 当りの果数も多く、有効な方法であることを確認した。実用化するためには今後、

ビニールハウス内で育苗する技術を開発する必要があろう。我が国の栽培品種である「一貫種」はアヘン多収性品種であり、直接抽出法では朔果の多収性と朔果中アヘンアルカロイド高含量性の品種を育成しなければならないが、品種育成に当たって、特性分類審査基準が作成されていない。そこで、草型・子葉の形状・茎の形状・葉の形状・花の形状・果実の形状・種子の形状・早晩性・環境耐性・病虫害抵抗性・成分を重要形質とする47項目の審査基準案を作成した。

2. 薬用植物栽培・品質評価指針に関する研究

トリカブトに対するリン酸肥料の効果について検討した。2年生の株当たり母根重は6月下旬から収穫期にかけて減少し、子根重は同期間、直線的に増加した。母根重・子根重に対するリン酸施用量の影響は小さかった。また、収穫期における母根径・子根径・子根長、10a当たり収量に対する効果も認められなかった。

これまで継続して行った研究結果と合わせ、繁殖法・肥料・栽植密度・病害虫・収穫・調製・収量・特性分類による栽培と品質評価指針案を提出した。

他に、同様の書式によりクマコケモモの指針案も作成提出了。

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9年10月15日付で、栗原孝吾圃場作業長が伊豆試験場の圃場作業長に配置替えになり、後任として伊豆試験場の関根勉圃場作業長が着任した。また、宇都幸生圃場作業員が和歌山試験場に配置替えになった。

本年度の施設整備としては、研究本館の冷房用冷凍機2台が経年劣化による腐食で水漏れがはげしい状態であったため、筑波研究施設特別整備費で更新工事を実施した。

研究業務としては、前年度に引き続き、ヒューマンサイエンス振興財団の受託研究・官民共同プロジェクト研究の一環として、「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」及び「薬用植物の人为的交雑種における遺伝子の発現機構に関する研究」のほか、厚生科学研究費補助金により「けし及び関連植物のモレキュラーレベルでの解析」、「薬用植物の遺伝的・形質的多様性の極長期保存技術構築に関する研究」、及びヒトゲノム・遺伝子治療研究事業による「薬用生物資源の保存及び保護に関する研究」も実施した。また、厚生省医薬安全局麻薬課の委託研究「けしの直接抽出法に関する研究」、厚生省健康政策局研究開発振興課の委託研究である「薬用植物栽培・品質評価法に関する栽培試験」を実施した。

実習生の受け入れとしては、Singapore Polytechnic (Chemical Process & Biotechnology Department) のMiss Lee Moh Heng が平成9年5月12日から7月5日まで育種生理研究室でバイオテクノロジーに関する研修を、またJICAから派遣された鈴木みのり氏が平成9年6月16日から8月29日まで海外青年協力隊の事前研修として栽培研究室で研修を、さらに、香川県の安藤千代純氏が平成9年9月16日～11月14日及び平成10年3月16日～5月15日まで栽培研究室で研修をそれぞれ終了した。千葉大学からの実習生東野薰氏は平成9年4月1日～、筑波大学からの研究生中尾伸子氏は平成9年6月1日～、それぞれ研修中である。

なお、科学技術庁から派遣されている科学技術特別研究員のDr. Mia Md. Wahiduzzaman 及びヒューマンサイエンス財団から派遣の流動研究員南基泰氏は、前年度に引き続き栽培研究室で研究中である。

平成10年3月10～11日、当試験場の会議室において、寺尾所長、斎藤副所長、清水総務部長、佐竹生薬部長出席のもとに、平成9年度薬用植物栽培試験場業務打ち合わせ会議を開催し、報告及び連絡事項、平成9年度試験研究業務報告及び平成10年度試験研究計画等について討議を行った。

平成9年7月10日、昨年に引き続き「第7回薬用植物栽培技術フォーラム」を開催した。本多義昭京都大学教授、斎藤和季千葉大学教授、草野源次郎大阪薬科大学教授及び渡辺久昭北海道立中央農業試験場果樹部長を招き、講演を行ったほか、当所5試験場の研究報告を行った。全国から145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、下村講一郎育種生理研究室長が平成9年6月20日から同年6月29日まで、植物培養細胞による有用物質生産に関する共同研究のため、フランスに出張し、柴田敏郎栽培研究室長が平成9年11月7日から同年11月11日まで、韓国に出張し、韓国薬用作物学会における特別講演並びに農村振興庁芍薬栽培試験場における薬用植物栽培に関するセミナーで講演を行った。また、酒井英二研究員は平成9年12月4日から同年12月10日まで、二国間国際共同研究「漢方薬基原植物の解明とその品質に関する研究」の研究打ち合わせ及び市場調査を行うため、中国に出張した。

業務成績

種子保管数(貯蔵庫)	380種類、延べ1,850缶
交換用種子保管数	1,216種類/1998年
	1,119種類/1997年
入手種子数	105件、延べ 487種類
分譲種子数	197件、延べ4,766種類
種子目録配布数	68ヶ国、446機関

研究業績

1. 薬用植物の栽培に関する研究
 - 1) カワラヨモギ、茵陳蒿生産に関する研究

(1) 地域間差について

茵陳蒿の生産に先立ち、野生のカワラヨモギを全国から集め、その地域間差を明らかにし、栽培に適した系統の選抜を行うことを目的に栽培2年目の花穂の大きさ、開花期の比較検討、評価のための成分の定量、DIG-RAPD法による遺伝子解析を行った。

その結果、花穂の大きさは、系統間に有意差が認められ、海岸タイプで大きい傾向がみられた。開花期に関しては、海岸、河岸タイプでの明確な違いは認められなかつたが、草型（匍匐型、直立型）については、海岸、河岸タイプで違いが確認できた。また、Dimethylesculetin 及び Capillarisin の含量は系統間で有意差が認められ、主成分分析の結果大きく4つのタイプに分かれた。さらに、DIG-RAPD法を用いた系統分類では、海岸、川岸タイプに分類できた。

(2) 人為的交配種における早期F1作出確認法の確立

交配による優良系統・品種（多収、成分の安定）を効率的に育成する上で、F1個体を早期に確認する技術は不可欠である。日本国内より収集し、その形態的特徴や成分を明らかにした植物群を材料にして、生育の極初期段階でのF1作出の確認法について検討し、併せてF1及び自殖により得た個体群の純度の検討を試みた。

その結果、今回行った検定の範囲では人為的な自殖体は、遺伝的に均一であった。また、人為的交配種の作出の確認をDNAレベルで行えることが示唆された。

2) ケシの生育期及び切傷処理が植物体中のアルカロイド含量・収率に及ぼす影響

モルヒネ・コデインなどのアヘンアルカロイドをケシ植物体より効率よく安定的に得る方法を確立すべく、環境を制御した室内条件下・水耕栽培で、植物体各部位における上記アルカロイドの経時的な含量変化並びに切傷処理がアルカロイド含量に及ぼす影響について検討を行った。

その結果、モルヒネやパパベリン、ノスカピンは成熟株の乳液（アヘンを含む）やさく果中に、コデインは若い株の乳液やさく果中に、テバインは乳液（アヘンを含む）や細根中で高い含有率を示した。また、全草からのモルヒネ収量は、蕾期で株当たり4.8 mg（乾燥全草当たり0.09%）、開花期で13.8 mg（同0.12%）、アヘン採取期で50.5 mg（同0.25%）であった。アヘン採取期にさく果よりアヘンを採取した場合の全草からのモルヒネ収量は、アヘンを採取しなかつた場合と統計的に有意な差は認められなかつた。

2. 薬用植物の組織培養に関する研究

1) 各種条件下でのベラドンナ馴化植物体におけるLittorineの消長

Littorineはトロパンアルカロイドの中間体であり、hyoscyamineの前駆物質の候補の一つである。ベラドンナはhyoscyamineを根や葉に蓄積し、種々の培養系も確立されている。それら培養物及び植物体におけるトロパン

アルカロイド組成については多くの研究がなされてきたがベラドンナにおけるlittorineの存在は長い間確認されていなかった。そこで、本年度 shoot culture の馴化・栽培過程におけるlittorine含量の変動を各種栽培条件下で検討した。

その結果、培養植物体では茎葉部・根部とともにトロパンアルカロイドはほとんど認められなかつた。また、馴化後の圃場栽培株の根ではlittorineの含量とhyoscyamine含量の急激な上昇が認められた。一方、葉においてはhyoscyamineや 6β -hydroxyhyoscyamine、scopolamineの含量増加は認められたが、littorineは全く検出されなかつた。以上の結果より馴化後初期のベラドンナの根ではlittorineが高濃度で存在し、その消長は栽培条件により大きく影響を受けることが明らかとなつた。

2) 薬用植物の超低温保存に関する研究

ベラドンナ毛状根を、ガラス化法によって超低温保存（-196°C液体窒素中）を行い、保存後における毛状根のDNAの安定性を評価する目的で試験を実施した。

その結果、1か月間の超低温保存後、再増殖してきた毛状根のうち、トロパンアルカロイド含量の低かったクローン、超低温保存していない対象区と変わらない含量を示したクローン及びコントロールにおいてT-DNAバンドが確認され、T-DNA領域は安定に保存されていた。また、RAPD法による分析の結果、今回、分析に使用したプライマーを用いる限りにおいては、超低温保存したベラドンナ毛状根ではDNAの変異は認められなかつた。これらの結果より、ベラドンナの毛状根のDNAにおいては、超低温保存後も安定に保存されており、ガラス化法による超低温保存におけるDNAの安定性に関しては、少なくともベラドンナ毛状根においては、全く問題がないものと結論できる。

3) Riプラスミドによる薬用植物形質転換に関する研究

オウレンの形質転換（毛状根）培養によるプロトベルベリン型アルカロイドの生産について試験を行つた。

その結果、固形培地上の毛状根及びゴールのアルカロイド含量は、圃場栽培株の根と同程度であったが、いずれの培養物においても、圃場栽培株に比べcptsine含量が低かつた。また、各種基本培地（RCW2, WPG, HBM2）を用い、20°C及び25°Cで液体培養を行つたところ、HBM2培地、20°Cで培養したものが最もアルカロイド含量が高く、アルカロイド収量も多かつた。最も根の形態を維持していたRCW2基本培地に、種々の無機塩類（塩化カリウム、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム）を添加して培養を行うと、アルカロイド含量には影響が認められなかつたが、アンモニア体を含む区（NHCL及びNHSO）では生育が著しく阻害されたため、アルカロイド収量が減少した。

伊豆薬用植物栽培試験場

場長 飯田修

概要

人事関係では、平成9年10月15日付けで関根勉作業長が伊豆から筑波へ、栗原孝吾作業長が筑波から伊豆へ、山田和也技官が和歌山から伊豆へ、さらに平成10年4月1日付けで井上修技官が伊豆から筑波へとそれぞれ各栽培試験場へ配置換えとなった。

平成9年8月1日付けで、高上馬希重氏が科学技術振興事業団の科学技術特別研究員として派遣され着任した。

施設整備関係では、ガラス温室3棟が新築され、平成10年3月20日に引渡しされた。既存温室を1号棟、2号棟としているため、新温室の呼称を3、4、5号棟とした。3号棟(65.59 m²)は無加温、4、5号棟(各87.97 m²)は加温温室で、5号棟の一部にはミスト機能を設けた。同工事の一環で、源泉タンク及び囲障フェンス(118m)の更新等を行った。

研究関係では、厚生省研究開発振興課の委託研究である薬用植物栽培・品質評価指針作成に関する栽培試験を行い、「カミツレ」の報告書を提出した。

業務成績

1. 種子交換

採種 159種(筑波試験場へ送付)

内訳 野生植物 80種

標本植物 60種

温室植物 19種

受入 10件 19種

分譲 11件 35種

2. 指導業務

平成9年11月20日、ケシの講習会が南伊豆町湊で開催され、耕作者、関係機関に対し講習を行った。

3. 薬用植物の自生地調査

例年どおり、伊豆半島各地の野生植物の植生調査を行った。

研究業績

1. カミツレの栽植密度試験

カミツレは1株の生長量を大きくすると下位節の分枝が増加し、頭花の生産性が高まる。一方、開花期間が長くなるため適期一斉収穫が難しく、収穫に多大な労力を要することとなる。そこで、収量を低下させず、収穫労力の軽減を図る目的で、短期間に一斉開花させ収穫する密植栽培法を試みた。

畝幅60cm、株間15cmを慣行として、幅90cmの床に1m²当たり播種量を(1)0.125g、(2)0.25g、(3)0.50g

の3段階で散播した密植試験区を設けた。上記(1)~(3)の密植区の株数には播種量程の差が得られなかつたが、頭花収量は密植ほど高く、いずれの密植区も開花が揃い一斉収穫が可能であった。しかしながら、密植により草丈が高くなり徒長したため倒伏が起り、腐敗株が発生し、頭花を付けた有効株率は50~65%であった。今回の結果を参考に、適正な栽植法は幅90cmの床に、15cm四方程度に1株の割合での移植栽培が望ましいと考える。

2. ゲンノショウコの産地別種苗分類特性

前年度に作成したゲンノショウコの種苗分類特性表を用い、産地別種苗の特性調査及び茎葉の生産性を検討した。供試した種苗は当場保存種、伊豆半島自生3種、新潟、富山、茨城、山梨、熊本の各県自生の各1種及び種子島自生の2種を用いた。

最も特徴的な形質である花色は熊本と種子島の2種が赤色であったが、他はすべて白色であった。赤花系統は白花に比べ開花が遅く、茎葉重が大きい傾向にあった。茎、葉のゲラニイン含量は新潟産が最も高く、また全体的に葉の含量は茎の2~3倍高かった。

3. ウコンの種苗分類特性

薬用植物の種苗の長期保存方法等に関する研究の一環として、当場保存のウコンの種苗分類特性調査及び生産性を検討した。

供試系統は、種子島、武田、ジャワ1、ジャワ2、インド及びスマトラの6系統を用い特性調査を行い、スマトラを除く5系統について、種根茎を主根茎、側根茎一次及び側根茎二次の3部位に分け、部位別及び種根茎生重と収量の関係を調査した。スマトラ系統は種苗用の種根茎量が少なかったため特性調査のみ行った。

最も特徴的な主根茎の切断面の色は種子島、武田及びジャワの各系統が黄橙色、インド系統が橙色の濃い黄橙色、スマトラ系統が橙色であった。またインド系統には紡錘根がわずかに見られた。

和歌山薬用植物栽培試験場

場長事務取扱 斎藤行生
前場長 野口衛

概要

当場では、薬用植物の栽培法並びに調製加工法の生薬の品質に及ぼす影響の検討を中心課題として研究を進めているが、本年度は近隣の研究機関や研究者との共同研究がかなり前進し、キキョウ、トウキ、シャクヤク、コウボク、エンゴサク等について実験に着手することができた。

また、野口前場長は神奈川県東洋医学会(平成9年6月15日)にて「漢方薬原料植物の栽培・調製加工法とその品

質」、また生薬分析シンポ（平成9年11月14日）にて「中国薬膳の処方解析」について講演する等、学会活動、理論化活動面にも力を注いだ。

人事面では、平成9年10月、圃場作業員山田和也が伊豆試験場へ移動、かわりに宇都幸生が筑波より着任した。また、平成10年4月、野口場長は支所長として大阪支所へ配置換えとなり、斎藤行生副所長が和歌山試験場長事務取り扱いの任についた。

施設面では、下畑の道路ぎわ三方にキハダ苗を植え付け、景観を整えることとした。また、組織の名称変更に伴い案内板、玄関の表札を取り替え、さらに、旧堆肥舎を取り壊し、現在跡地の利用法を考えているところである。

業務成績

1. 種子交換

採種	122
受入	5
分譲	6

2. 指導業務

野口前場長は、地域住民への啓蒙普及活動として、当場が長い間力を入れてきた地元住民サークル「薬草を食べる会」の10年間の活動を総括した講演「薬草を食べる—住民運動10年の経験から」を発表（京都、平成9年9月28日）、また薬草栽培を農業経営、農業運動の側面から考察した「薬草と農業」（平成9年1月26日）や「身近にある薬草とその育て方」（平成9年6月1日）等地元の一般市民向けの講演会にも力を注ぎ、平成10年4月29日には、地元の住民サークル「ハーブを楽しむ会」の発足に際し、記念講演を行った。

さらに、地方公害研協議会主催の酸性雨情報交換会（白浜、平成9年7月24日）では「紀州の薬草について」という演題で当場の研究活動の到達点を報告した。

さらに平成9年2月11日には、当場のかつての業務に関連して「ケシの栽培法とアヘンの効能」について講演を行った。また、場の団体見学並びに外部依頼計9回、参加者延べ270人に薬草に関する講義、指導を行った。

研究実績

1. トウキの栽培法とその品質に関する研究

1) 目的

移植の効果を明らかにするため、各種土壌にて直植え、移植栽培を試み、根の形態及び精油含量を比較した。

2) 栽培法

平成8年11月14日に和歌山薬用植物栽培試験場の、山砂、川砂、砂質畳土、粘土質畳土、山粘土の5種の土壌と常用量の肥料を入れた枠試験区圃場（1m²）にヤマトトウキ種子を播種し、平成9年6月21日に苗を取り、写真撮影した後、砂質畳土より得た苗を直に上述の5種の土壌に各9本ずつ縦植え及び舟植えし、同年12月26日に掘り上げた。

3) 精油含量

試料間の精油の含有量をGC-MSを用いて比較検討した。

4) 研究成果

a) 苗の段階では、川砂では主根は小さく、細いひげ根が多くでたが、それ以外の土壌では主根はやや太く、ひげ根は少なくなり、粘土質土壌でのこの傾向は大きくなつた。

b) 移植苗より得たトウキは、砂質土壌では細根が良く発達しているのに対し、粘土質土壌では、細根はややいじけたようにチリチリになっており、また縦植えに比べて舟植えでは形がやや変形しているが、細根はやや長いようであつた。

c) 砂質畳土区でそのまま栽培した対照区は根頭から数本が分枝した太いごぼう状を呈した。

d) それぞれの根について精油含量を分析したところ、土壌の種類により、精油含量及び組成に相違が現れた。

5) 考察

以上の結果から、一般に畠地では直植えではごぼう状であるが、移植すれば細根を生じ、また、砂地では直植えでも細根の多いものが得られることが分かるが、「古方薬品考」（1841、内藤尚賢）には「当帰には自生家生の2種があり、家生のものは根は肥大して尾が多い（馬尾当帰）のに対し、自生のものは根は桔梗に似て皮は紫黒色で、此を伊吹当帰と為す」と記載され、また田中らは、「自生当帰は川沿いあるいは渓流の岩場に分布している」と報告しており、移植のない自生品でも砂地であれば馬尾状という形状のものが生じてもおかしくないと推測される。

6) 結論

トウキの根の細根は、苗を移植することにより形成されるが、砂質土壌を用いれば直植えでも細根ばかりのものを作成することができる。

2. 薬膳に関する文献調査

前年と同様に、「中国薬膳大全」の文献調査を行った。

1) 本書に収載された料理の数は、菜肴類154、薬膳酒69、その他（粥類、餅、面、飲料、薬膳糖）合計254を含め総数477品目であった。

2) これら料理中の各生薬の出現頻度は、枸杞子が菜肴類46、薬膳酒その他9と一番多く使用され、以下山茱萸、砂仁、茯苓、人参、黃耆、桂皮と続いた。

3) 靈芝、菟丝子、肉蓯蓉、杜仲、冬虫夏草、鎖陽等の強壮生薬はかなり多く現れるものの、麻黄、大黃、柴胡、杏仁、知母、貝母等治療効果の明確な生薬は料理には極稀にしか用いられず、また、毒性の強い附子を用いる料理が5例だけであるが発見された。

4) 食材としては、猪肉、鶏肉が多く用いられ、海参、猪腎、魚翅がこれに続き、鹿、兔肉、鮑、团魚、蝦もしばしば用いられた。

5) 用法は、炒め物の場合は粉末or細末を材料に振りか

け、煮物では、予めスープを取りこれを料理に用いるか、生薬を袋に入れ、材料と一緒に煮る形式のものが多い。但し、一部、鶏の腹の中に入れて煮込むものもみられた。

6) 生薬の組み合わせは基本的に漢方薬の処方と類似しており、漢方処方そのものも見られた。

(十全大補湯、四物湯、六味地黄丸一牡丹皮、etc.)

7) 料理の効能は、配合する生薬群が同じなら近似した。但し、これらはすべて中国の処方であり、日本では薬としてあまり用いない強壮生薬もしばしば用いられている。

種子島薬用植物栽培試験場

場長 香月茂樹

概要

当薬用植物栽培試験場は空港に隣接しているが、防風林の生長に伴い、滑走路からの勾配が航空法に抵触する部分が生じている。このため、場入口の北西の部分について、平成10年2月支障木の地上部を法規に収まる範囲で、管理者の中種子町が伐採した。

人事面では、鎌木紘一技官が平成9年11月26日～28日の日程で筑波試験場・本所で会議・研修を行った。

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、「オオカラスウリ」に関する原案を提出した。厚生省麻薬課の委託研究である「ケシの直接抽出法に関する研究」、厚生科学的研究費補助金による「薬用植物種子の長期保存に関する研究」等を実施した。

研修生の受け入れをし、国際協力事業団の海外派遣予定の鈴木みのりさんが8月3日から8月9日まで在場し、主として熱帯系薬用植物の栽培法について指導した。

気象面では、梅雨の期間は6月2日から7月20日の49日間で、総降雨量は459.5 mmであった。台風の接近・通過は6個あり、特記すべきものは下記のとおりである。被害は樹木・栽培植物等に見られただけで軽微であり、施設への被害はなかった。

6月27日～28日 8号

最大瞬間風速 31.8 m/s・総降雨量 27.5 mm

9月14日～16日 19号

最大瞬間風速 40.2 m/s・総降雨量 398.5 mm

業務成績

1. 種子交換

採種 368種(筑波試験場へ送付)

内訳 野生種 248種

栽培種 120種

露地 118種

温室 2種

受入 17件 47種

分譲 40件 119種

2. 指導業務

見学者 40件 272名以上

問い合わせ件数は21件以上あり、内訳(重複あり)は種苗の入手法5、栽培法7、植物鑑定3、薬効・用法3、その他5件であった。

研究業績

1. ケシの直接抽出法に関する研究(尿素の葉面散布時期とその効果に関する研究)

1993年伊豆試験場より導入した「一貫種」の継代栽培した1996年産種子で、1月31日に播種した。肥料条件は10a当たり、基肥として化学肥料(IB化成 10-10-10) 46.8 kg、追肥として化学肥料(同) 30.0 kgを4月1日に側条施肥した。密度は条間75 cm、最終株間15 cmとした。尿素濃度は20 g/lで地上部の全面散布とし、試験区は対照、切傷前8日、4日、前日、当日朝とした。

生育むらが生じ、有効株数とあへん収量の相関関係は見られなかった。モルヒネの含量は4日前の午後処理で特に高かった(17.9%、対照12.8%)。

2. 薬用植物の品質評価法に関する研究

1) ウコンの催芽処理と収量に関する研究

インドネシア系の1996年収穫の主根茎の約30 g のものを用い、4月23日株間30 cm・条間80 cmで定植(地表下約15 cm)した。基肥として堆肥1,500 kg、化学肥料 (IB化成 10-10-10) 100 kg を種イモと同位置に、追肥として硫安11.9 kg・塩化カリ14.05 kg を6月26日に側条施肥した。

出芽は、乾燥・湿潤状態いずれも35℃でもっとも早く、25℃・対照区と続き15℃がもっとも遅かった。主根茎数の形成は乾燥状態での各温度処理間の差異は少なく、湿潤状態では25℃で3.7個、35℃で3.5個、対照区で3.2個、15℃で2.7個であった。収量は生体重・乾物重いずれでも湿潤状態の25℃で最高で、生体重は主根茎で1,199 kg/10a、側根茎で549 kg であった。収量に占める主根茎の比は各処理間の差異はほとんどなく、約70%であった。

2) オオカラスウリの栽培化のための基礎的研究

局方カラコン・カラニンの基原植物であるが、過去に栽培例はない。1995年11月採種した種子島産の種子で、1996年8月7日ポット苗を株間90 cm・条間100 cmで定植した。基肥として堆肥1,000 kg/10a、化学肥料 (IB化成 10-10-10) 100 kg を施用した。

発芽適温(恒温状態、12時間照明: 庫内中央で約10,000 lx)は約30℃で、発芽は播種後11日目から緩慢に推移した。1年生で開花・結実する個体もみられた。2年生の収量は、根の利用部位の生体重で460 kg/10a、カラコンとして136 kg、カラニンでは85 kg であった。種子は1果当たり109粒であった。害虫として、ウリハムシ・ネコブセンチ

ユウが見られたが、被害は軽微であった。

3. 薬用植物種子の長期保存に関する研究（薬用植物種子の発芽に関する研究）

昨年度に引き続き、種子島試験場で保存している植物について、導入に関するデータ、生葉名、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の作成を継続し、筑波試験場で編集され、植物目録1997年版として発行した。

ゲンノショウコの発芽試験を、合成樹脂の透明容器で濾紙を2枚敷き、水を飽和状態とし12時間照明の条件下で実施した。無処理の発芽は30℃以上では困難であった。種子処理（濃硫酸・傷付け）により、短期間でそろった発芽をした。濃硫酸処理では、胚軸・根の伸長不良、クロロシス、子葉の展開不良等の異常発芽の個体が多く、特に高温時に著しかった。

4. 野生・未栽培種の栽培化に関する研究

ペルー産生薬 Yawar piripiri は花が白色で夕刻に開花し、深夜には綴じること、球根が紅紫色であることなどから、*Eleutherine americana* Merr. アカネスイセンと同定できた。繁殖は球根の分球により、1球が4～数10球になった。冬季は地上部は枯死するが、露地での越冬は可能なことが確認された。

同 *Piripiri* (*Cyperus* spp.) は7系統を栽培し、草姿がシチトウ型・カヤツリグサ型・カヤツリグサ型で内生菌が寄生するものの3型に大別でき、いずれも冬季に地上部の一部が枯死するものの、地下部は無事越冬することが確認された。

Costus spicatus Sw. は固まった茎の挿し木と株分けによる繁殖が可能であった。低温に弱く、約15℃で葉縁部・若い部分の枯死を生じ、無加温ハウスでは地上部が完全に枯死した。このことから、種子島での露地栽培は困難である。

平成9年度所外研究員等受け入れ名簿

平成10年3月31日

(客員研究員) 10名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
岡本季彦	(財)結核予防会・八王子血液センター	衛生微生物部	2. 5. 1	9. 7. 31	男	
熊田秀文	神奈川歯科大学	療品部	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	
前川昭彦	(財)佐々木研究所病理部長	毒性部	7. 4. 1	10. 3. 31	男	
吉田あや	元京都大学	生薬部	8. 6. 10	9. 6. 2	女	
田中悟		毒性部	9. 4. 1		男	
福岡正道	昭和薬科大学	生物薬品部	9. 4. 1		男	
松井道子		変異遺伝部	9. 4. 1		女	
三木敬三郎	テルモ株式会社開発センター医科学研究所	化学物質情報部	9. 8. 1		男	

(協力研究員) 8名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
西尾俊幸	日本大学農獸医学部講師	有機化学部	6. 12. 1	9. 11. 30	男	
小林茂樹	昭和薬科大学	有機化学部	8. 6. 1		男	
松藤寛	日本大学	食品部	8. 6. 10		男	
松野淳美	昭和大学	変異遺伝部	8. 10. 1		男	
榑松美治	(財)ヒューマンサイエンス振興財団	変異遺伝部	9. 1. 9	10. 1. 8	女	
Chung Youn Son	九州大学薬学部物理化学教室	環境衛生化学部	9. 10. 1		女	
香川聰子	北里大学薬学部公衆衛生学教室	環境衛生化学部	9. 10. 1		女	
平塚秀明	三菱化成安全科学研究所	環境衛生化学部	9. 12. 1		男	

(流動研究員) 9名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
中井雄治	(財)ヒューマンサイエンス振興財団	薬品部	8. 4. 1	9. 12. 15	男	
山本雅幸	(財)ヒューマンサイエンス振興財団	生物薬品部	8. 4. 1	10. 3. 31	男	
王雪	(財)ヒューマンサイエンス振興財団	変異遺伝部	8. 4. 1		男	
王春仁	(財)ヒューマンサイエンス振興財団	療品部	8. 9. 4		男	
橋本統	(財)ヒューマンサイエンス振興財団	生物薬品部	9. 4. 1		男	
中村高敏	(財)ヒューマンサイエンス振興財団	食品部	9. 4. 1	10. 3. 31	男	
近藤俊哉	(財)ヒューマンサイエンス振興財団	生薬部	9. 4. 1	10. 3. 31	男	
南基泰	(財)ヒューマンサイエンス振興財団	筑波試験場	9. 4. 18		男	
百瀬真希	(財)ヒューマンサイエンス振興財団	変異遺伝部	10. 1. 16		男	

(科学技術特別研究員) 5名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
上野伸哉	科学技術振興事業団	薬理部	7. 10. 1		男	
引間知広	科学技術振興事業団	薬理部	8. 10. 1		男	
Mia, Md Wahiduzzama	科学技術振興事業団	筑波試験場	8. 10. 1		男	
高上馬希重	科学技術振興事業団	伊豆試験場	9. 8. 1		男	
小村純子	科学技術振興事業団	薬品部	9. 9. 1		女	

(重点研究支援協力研究員) 7名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
佐々木晴代	科学技術振興事業団	代謝生化学部	8. 8. 1		女	
豊田淑江	科学技術振興事業団	生物薬品部	8. 8. 1		女	
小木美恵子	科学技術振興事業団	生物薬品部	9. 4. 1	10. 3. 31	女	
柴山理恵	科学技術振興事業団	生物薬品部	9. 4. 1		女	
ナディア・エル・ボライ	科学技術振興事業団	生物薬品部	8. 8. 1	9. 10. 30	女	
高木加代子	科学技術振興事業団	機能生化学部	8. 8. 26		女	
日向須美子	科学技術振興事業団	生物薬品部	9. 11. 1		女	

(科学技術庁フェロー) 4名

氏名	国籍	所属	受入部	入所	退所	性別
Y.LUO Petr Gruz	中国 チェコ	Beijing University Institute of Experimental Botany Academy of Sciences of the Czech Republic	薬品部	8. 7. 8	9. 7. 7	男
			変異遺伝部	8.12.1		男
Wagner Gerome	フランス	IRCAD	変異遺伝部	9. 2.24		男
KYUNG - SUN KANG	韓国	Michigan State University	毒性部	9. 5.20		男

(医薬品機構・派遣研究者) 1名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
金秀良	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	変異遺伝部	9.11.17		男	

(研究生) 34名

氏名	依頼者	受入部(室)	入所	退所	性別	備考	
坂口圭介	早稲田大学教育学部兼理工学総合研究センター教授	薬品	8.11.11	9.11.10	男		
松浦克子	国立予防衛生研究所食品衛生微生物部長	変異	9. 2. 1	9.12.31	女		
一鬼勉	福岡大学医学部教授	病理	9. 9.22	9.12.31	男		
高橋基子	農林水産省農薬検査所長	毒性	9. 9.16	9.12.17	女		
岸高美紀	川崎市健康福祉局衛生研究所長	変異	9.10. 1	9.10.31	女		
濃野正典	横浜検疫所長	食添	9.10. 1	9.12.31	男		
安井義徳	東京農林水産技術センター所長	食添	9. 8. 1	9.10.31	男		
安住聰子	昭和女子大学教授	衛微	1室	5. 4.26	10. 3.31	女	
太田利子	相模女子大学芸術部助教授	衛生	3室	6.12. 1	9.11.30	女	
小菅旬子	麻布大学獣医学部教授	衛微		7.10. 4	10. 3.31	女	
伊藤理恵乃	東邦大学薬学部	薬理	後世	7. 9.20	10. 3.31	女	
上山寿之	東京医科大学薬理学教室	薬理		8. 7.31	10. 3.31	男	
高橋美樹	東京医科大学薬理学教室	薬理		8. 7.31	10. 3.31	女	
池田久宜	麻布大学教授	病理		9. 4. 1	男		
堀田尚子	昭和女子大学大学院教授	病理		9. 4. 1	女		
堀口隆	東京農業大学農学部教授	変異		9. 4. 1	女		
丸若重	昭和大学教授	生物		9. 4. 1	男		
高木久	東京大学薬学部教授	代謝		9. 3.24	女		
田宜啓	麻布大学教授	病理		9. 4. 1	男		
上野紀子	日本獣医畜産大学教授	病理		9. 5. 1	男		
樋口人融	昭和大学薬学部長	環境		9. 4.14	男		
李瀬淳	東亞大学大学院長	生薬		9. 4. 1	男		
秦英代	日本大学生物資源科学部教授	生薬		9. 4. 1	男		
須井代	明治薬科大学第三薬理学教室	機能		9. 4. 8	男		
糸井哉	財団法人人民政科学協会理事長	療品		9. 5.26	女		
糸敏一	財団法人食品薬品安全センター	変異		9. 9. 1	男		
糸島淳	鳥取大学農学部	病理		9.10. 1	男		
糸島一	日本大学生物資源科学部教授	食添		9.10. 1	男		
糸村創	日本大学生物資源科学部教授	食添		9.11.21	男		
糸澤正彦	東京大学農学生命科学研究科教授	衛微		10. 2. 1	男		
糸谷早映子	東京大学大学院理学系教授	機能		10. 3. 1	女		
糸田誠	星薬科大学理学教室助教授	薬理		10. 3. 1	男		
東野薰	筑波大学大学院バイオシステム研究科	筑波		9. 4. 1	10. 3.31	女	
中尾伸子	筑波大学教授	筑波		9. 6. 1	10. 3.31	女	

(実習生) 47名

氏名	依頼者	受入部(室)	入所	退所	性別	備考
金秀良	東京都立大学理学研究科教授	変異	8.10. 1	9.11.16	男	
富川ゆり子	麻布大学環境保健学部長	衛微	9. 1. 6	9.12.30	女	
阿部雅美	日本大学生物資源科学部教授	食添	9. 3. 4	10. 2.28	女	
酒井信夫	日本大学生物資源科学部教授	食品	9. 3.10	10. 3. 9	男	
藤田薰子	昭和大学教授	生物	9. 4.15	9.12.31	女	
上村智美	北里大学医療衛生学部長	食品	9. 4.28	10. 2.28	女	

氏名	依頼者	受入部(室)	入所	退所	性別	備考
川村 久高	東京家政大学教授 東京家政大学教授 共立薬科大学長 共立薬科大学生化学教室教授 共立薬科大学長	食品 食品 食添 代謝 薬理	9. 5. 6 9. 5. 6 9. 5. 5 9. 4. 30 9. 5. 12	10. 3. 12 10. 3. 12 9. 12. 26 9. 12. 27 9. 12. 27	女 女 女 女 女	
松喜	実践女子大学生活科学部教授 実践女子大学生活科学部教授 実践女子大学生活科学部教授	食品 食品 食品	9. 6. 2 9. 6. 2 9. 6. 2	9. 12. 26 9. 12. 26 9. 12. 26	女 女 女	
竹端	日本大学理工学部長	環境	9. 5. 19	10. 2. 28	男	
柴登	日本大学理工学部長	環境	9. 5. 19	10. 2. 28	男	
伊忠	日本大学理工学部長	環境	9. 5. 19	10. 2. 28	男	
前石	昭和薬科大学教授 お茶の水女子大学生活科学部	衛微 衛微	9. 8. 11 8. 6. 24	9. 12. 26 10. 3. 31	女 女	
中大	昭和女子大学教授 昭和女子大学教授 昭和女子大学教授	衛微 衛微 衛微	8. 9. 1 8. 9. 1 8. 9. 1	10. 3. 31 10. 3. 31 10. 3. 31	女 女 女	
伊大	昭和女子大学教授 昭和女子大学教授 昭和女子大学教授	食添 食添 有機	8. 9. 1 8. 9. 1 8. 9. 1	10. 3. 31 10. 3. 31 10. 3. 31	女 女 女	
井畑	昭和女子大学教授 昭和女子大学教授 昭和女子大学教授	有機 食品	8. 9. 1 9. 4. 1	10. 3. 31 10. 3. 31	女 女	
甲斐	昭和女子大学大学院教授 日本大学生物資源科学部学部長	有機	9. 4. 1		男	
阿加	日本大学生物資源科学部学部長	有機	9. 4. 1		女	
駒尾	東京理科大学薬学部長 昭和大学教授	環境 生物	9. 4. 8 9. 4. 15		女 女	
藤佐	中央大学理工学部長	情報	9. 4. 1		男	
佐々	中央大学理工学部長	情報	9. 4. 1		男	
飯萩	中央大学理工学部長	情報	9. 4. 1		男	
木永	中央大学理工学部長	情報	9. 4. 1		男	
高三	東京理科大学薬学部講師 東京理科大学薬学部講師	生薬 生薬	9. 4. 1 9. 4. 1		女 女	
金互	共立薬科大学教授 星薬科大学教授	有機 生物	9. 5. 15 9. 5. 26		女 女	
小楣	星薬科大学教授 昭和女子大学大学院教授	生物	9. 5. 26		女	
大久保	昭和女子大学大学院教授 北里大学理学部教授	有機 衛微	9. 8. 18 10. 3. 1		女 女	
渡福	昭和女子大学大学院教授 日本大学生物資源科学部教授	食添 食添	9. 8. 1 10. 3. 2		女 女	
醉山	昭和女子大学大学院教授 日本大学生物資源科学部教授	衛微 食品	9. 9. 9 10. 3. 2		女 女	
安藤	日本大学生物資源科学部教授 筑波薬用植物栽培試験場長	食品	10. 3. 2		女	
		筑波	10. 3. 16		男	

鹿庭なほ子、青柳伸男、小嶋茂雄：試験室共同実験による溶出試験結果の変動性の研究

医薬品研究, 28(7), 505-511(1997)

7品目の医薬品の溶出試験結果の併行精度及び室間再現精度を、試験室間共同実験により検討した。併行精度は、医薬品により異なった。室間再現精度が悪かった医薬品5品目のうち、2品目はその原因が分析法の室間再現精度が悪かったことにあった。残りの品目については、原因が不明であり、このような医薬品の溶出試験においては、溶出試験の条件を厳密にコントロールする目的で、カリブレータの導入の必要性が示唆された。

Keywords : dissolution test, inter-laboratory variation, intra-laboratory variation

城道修、脇野克彦*、吉岡武男*、鹿庭なほ子：ステロイドの高速液体クロマトグラフィー(HPLC)分析系における検出限界及び定量限界に関する研究

医薬品研究, 28(9), 654-663(1997)

ステロイド系医薬品の合成原料であるデヒドロエピアンドステロンをモデル化合物に取り、検出限界及び定量限界の評価実験を行い、検出限界以下の領域で、レスポンスと濃度との関係が不連続関数となる系における、検出限界及び定量限界の考え方を示した。

Keywords : detection limit, quantitation limit, validation

* メルシャン株式会社

Katori, N., Aoyagi, N. and Kojima, S. : Effects of codeine on the agitating force and gastrointestinal transit time in dogs, for use in drug absorption studies

Biol. Pharm. Bull., 21, 418-420(1998)

イヌの経口吸収モデル動物としての欠点を改善し、よりヒトに近い消化管条件に近づけるために、消化管の運動を抑制するリン酸コデインの前投与を試みた。その結果コデイン投与後はイヌ消化管の運動が抑制され、ヒトに近似した経口薬物の放出挙動が示された。このことから、コデインによる前投与により、イヌの経口吸収モデル動物としての欠点を改善出来る可能性が示唆された。

Keywords : codeine phosphate, drug absorption study, GI motility

香取典子、鹿庭なほ子、青柳伸男、小嶋茂雄：溶出試験の判定基準の問題点および改善

日本薬局方フォーラム, 4, 17-24(1998)

日本薬局方溶出試験の判定基準について統計学的な背景を考察し、より良い試験法とはなにかについて述べると共に、新たな判定基準を提案した。この新判定基準は溶出率の平均値を規定でき、かつ消費者危険をロットのばらつきにかかわらず一定のレベルに保てるという利点を有する。

Keywords : dissolution test, confidence limit, Japanese Pharmacopoeia

Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: Softening temperature of lyophilized bovine serum albumin and γ -globulin as measured by spin-spin relaxation time of protein protons

J. Pharm. Sci., 86, 470-474(1997)

凍結乾燥品中のタンパク質プロトンのスピニスピニ緩和時間(T_2)が大きく変化する温度(T_2 の限界温度)は、タンパク質の運動性が大きく変化する温度であり、タンパク質凍結乾燥品の安定性を反映する重要なパラメータである

ことを明らかにした。牛血清アルブミンおよび γ グロブリンの凍結乾燥品について T_2 の限界温度を測定した結果、凍結乾燥品中のタンパク質の変性凝集は、 T_2 の限界温度以上の温度で著しく増大し、保存時の安定性が低下することが分かった。分子運動性の限界温度とし一般に用いられている熱分析によるガラス転移温度(T_g)はタンパク質の凍結乾燥品のように非晶質の状態が不均一な系ではしばしば測定が困難であることから、NMRで測定される T_2 の限界温度は凍結乾燥品の分子運動性の評価の指標として有用であると考えられた。

Keywords : NMR relaxation, protein stability, molecular mobility

Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S. : Dependence of the molecular mobility and protein stability of freeze-dried γ -globulin formulations on the molecular weight of dextran

Pharm. Res., 14, 736-741(1997)

デキストランを添加剤として用いた牛血清 γ グロブリン凍結乾燥製剤の安定性がデキストランの分子量に大きく依存し、その影響は分子運動性の差に起因することを明らかにした。製剤中のデキストランプロトンは、ある温度以上で固体プロトンによるガウス型緩和に加えて液体プロトンによるロレンツ型緩和を示すことが分かった。製剤の分子運動性が急激に変化するこの温度を、NMR緩和に基づく分子運動性の限界温度(T_{mc})と定義した。デキストランの分子量が高くなるにしたがって T_{mc} は上昇し、製剤の運動性が低下することが示された。さらに、分子量の増大による分子運動性の低下によって、製剤中のタンパク質の保存安定性が高くなった。高分子量のデキストランを添加剤として用いることによって製剤を安定化できることが明らかになった。

Keywords : NMR relaxation, protein stability, molecular mobility

Yoshioka, S., Aso, Y., Nakai, Y. and Kojima, S. : Effect of high molecular mobility of poly(vinyl alcohol) on protein stability of lyophilized γ -globulin formulations

J. Pharm. Sci., 87, 147-151(1997)

タンパク質凍結乾燥製剤は、分子運動性の高い高分子を添加するとのその保存安定性が低下することが明らかになった。ポリビニルアルコールを添加剤として用いた牛血清 γ グロブリン凍結乾燥製剤は、デキストランを用いた製剤に比較して、NMR緩和に基づく分子運動性の限界温度(T_{mc})が低く、分子運動性が高いために、タンパク質の安定性が低いことが分かった。さらに、タンパク質は製剤がミクロに液体化する T_{mc} 以上の温度では、ガラス転移温度(T_g)以下であっても凝集変化を示し、その温度依存性は、ガラス転移温度(T_g)の項に T_{mc} を代入したWLF式によって表すことができた。 T_{mc} は T_g より密接に安定性を反映するパラメータであることが明らかになった。

Keywords : NMR relaxation, molecular mobility, protein stability

Aso, Y., Tang, S., Yoshioka, S. and Kojima, S. : Amount of mobile water estimated from ^2H spin-lattice relaxation time, and its effects on the stability of cephalothin in mixtures with pharmaceutical excipients

Drug Stability, 1, 237-242(1997)

結晶セルロースとセファロチニンの混合粉体中に吸着した水分子のスピニ格子緩和時間から動きの良い水の量を算

出した。セファロチンの分解速度が混合粉体中の全水分量ではなく、動きの良い水の量に比例することを明らかにした。

Keywords: spin-lattice relaxation time, stability, water

Izutsu, K., Heller, M.* and Randolph, T. W.* and Carpenter, J. F.*: Effect of salts and sugars on phase separation of polyvinylpyrrolidone-dextran solutions induced by freeze-concentration.

J. Chem. Soc., Faraday Trans., **94**, 411-418(1998)

ポリビニルピロリドン(PVP)とデキストランを含む水溶液の凍結状態での相分離と低分子添加剤の影響を検討した。両者を含む凍結溶液の熱分析では各高分子由来の二つのアモルファス相軟化温度(T_g)が観察された。凍結相分離は水性2相分離と同様に高分子間の反発力が原因と考えられるが、必要な濃度から凍結濃縮による高分子濃度上昇の寄与が強く示唆された。塩類や二糖類の添加で混合ポリマー凍結溶液の T_g は接近・融合した。塩の作用は Hofmeister の離液順列に従い salting-in 作用の大きい塩ほど低濃度で相分離を抑制することから、凍結溶液中の高分子間反発力変化を介すると考えられた。

Keywords: phase separation, freeze-concentration, thermal analysis

* University of Colorado, USA

Kikura, R. and Nakahara, Y.: Hair analysis for drug abuse XVI. Disposition of Fenethylline into rat hair and human hair.

J. Anal. Toxicol., **21**, 291-296(1997)

覚せい剤類似医薬品であるフェネチリンは体内で代謝を受けて、一部覚せい剤となり、尿に排泄されるため、覚せい剤検査の混乱の原因となっている。フェネチリン使用と覚醒剤アンフェタミン使用の識別法を確立するため、ラットにフェネチリンを5 mg/kg 投与し、毛髪及び血液を採取し、GC-MSで分析した。フェネチリン及びアンフェタミンの毛髪濃度は、それぞれ52及び4.9 ng/mgで、血漿AUCはそれぞれ55.9及び22.3 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$ であった。このデータはフェネチリンがアンフェタミンより毛髪移行性向が明らかに高いことを示している。次いで、ヒトに50 mg経口で、1日及び3日間投与し、25日後に頭髪を採取した。根元側1 cmを分析した結果、フェネチリン及びアンフェタミンの毛髪濃度は、3回投与でそれぞれ0.51及び0.35 ng/mgで、単回投与でそれぞれ0.25及び0.11 ng/mgであった。フェネチリンは代謝が速く、フェネチリン使用者の尿からフェネチリン検出することが困難であることから、毛髪を用いることにより、両者の識別が可能になることが明らかとなった。

Keywords: hair analysis, fenethylline, amphetamine

Nakahara, Y., Takahashi, K., Sakamoto, T., Tanaka, A.*¹, Hill, V. A.*² and Baumgartner, W. A.*²: Hair analysis for drug abuse XVII. A Proof of PCP active use by Hair Analysis.

J. Anal. Toxicol., **21**, 356-362(1997)

PCPの使用を確認するため、ヒト毛髪中からPCP及び代謝物PCHPとPCPdiolを同時に検出・定量する試験法を確立した。毛髪からのPCP及び代謝物の抽出を検討した結果、メタノール-5 N 塩酸(20:1)を用いる方法が最も良好な抽出効率を示した。本法を8人のPCP使用者の頭髪試料の分析に応用した結果、PCPは0.33~14.0 ng/mg, PCHPは0.02~0.12 ng/mg, PCPdiolは0.09~0.45

ng/mgの濃度レベルであった。先に報告した動物実験と異なり、PCPdiolの毛髪濃度は常にPCHPのそれを上まつており、PCPdiolはヒトでのPCP使用の証明の重要な代謝物であることが明らかになった。PCPとともに代謝物を同時に検出する本法を用いれば、しばしば喫煙乱用されるPCPの場合、常に懸念される外部からの汚染と識別することが可能であることを示した。

Keywords: hair analysis, PCP, GC-MS

*¹ 昭和薬大

*² Psychmedics Corporation, USA.

Nakahara, Y. and Kikura, R.: Hair analysis for drug abuse:XVIII. Hair root analysis for acute MDMA poisonings

Biol. Pharm. Bull., **20**, 969-972(1997)

急性MDMA中毒の検査に毛根を利用する方法を動物モデルにより検討した。有色毛を有するDAラット(各群6匹)に急性中毒量(20, 40, 60, 80 and 100 mg/kg)のMDMAを投与し、5分、30分、1時間、2時間、6時間、24時間に毛根から採取し、メタノール-5 N 塩酸(20:1)で4時間超音波下に薬物を抽出した。抽出残渣を誘導体化処理を行い、GC-MSで分析した。全ての試料からMDMA及び代謝物のMDAを検出した。高投与量ではより多くのラットが死亡したが、死亡したラットの毛髪中薬物濃度はその後はほぼ不变となり、生き残ったラットでは6時間まで濃度は上昇し、その後、24時間まで暫時減少した。また、時間と共に、薬物は徐々に毛幹に取り込まれていく経緯が観測され、死亡したら、その取込が停止することも観測された。更に、時間と共に代謝物の増加が観測され、死亡したら代謝物の生成が停止することも確認された。生命活動である代謝や毛髪への物質取込が毛根中ではっきりと観測することができ、急性薬物中毒の研究に毛根が有用な試料となることを確認した。

Keywords: hair roots, methylenedioxymethamphetamine, GC/MS

Sekine, H.*¹, Nagao, S., Kuribara, K.*², and Nakahara, Y.: Behavioral Effects and Principal Role of N-Cyanomethylmethamphetamine, a Product from Smoking Methamphetamine with Tobacco, in Mice and Rats

Pharmacol. Biochem. Behav., **57**, 167-172(1997)

タバコに混ぜた覚醒剤メタンフェタミン(MA)の喫煙により生成するN-cyanomethylmethamphetamine(CMMA)の興奮薬理活性をマウスとラットの常同行動と自発運動量の測定により検討した。1~10 mg/kg 腹腔内投与では、覚醒剤MAとほぼ同等の強い興奮作用と常同行動誘発作用を示した。180分間の血中薬物モニタリングとモウスとラットの行動活性の比較により、CMMAの興奮作用の本体は代謝により生じるMA及びアンフェタミン(AP)であると推定された。CMMAの代謝にはマウスとラットでは明確な種差が見られた。マウス血漿中では、主代謝物はMAとAPであったが、ラット血漿中では主代謝物は薬理活性のないと推定されるN-formylmethamphetamine(FMA)であり、この代謝の種差がCMMAの興奮活性がマウスのほうがラットのそれより大きく上回ることを示していた。

Keywords: methamphetamine, pharmacology, smoking

*¹ 埼玉県科搜研

*² 群馬大学医学部

Scarcella, D.*¹, Tagliaro, F.*¹, Turrina, S.*¹, Manetto, G.*¹, Nakahara, Y., Smith, F. P.*² and Marigo, M.*¹: Optimization of a simple method for the chiral separation of phenethylamines of forensic interest based on cyclodextrin complexation capillary electrophoresis and its preliminary application to the analysis of human urine and hair.

Forensic Sci. Inter., **89**, 33-46 (1997)

フェネチルアミン類の合成や代謝研究において、光学活性の純度や識別は重要な要素であるため、 β -シクロデキストリンを用いて、フェネチルアミン類の光学異性体分離のキャピラリー電気泳動法を検討した。最適条件の検討の結果、40 cm, 50 μ m I.D.のfused silicaカラムを用い、15 mM beta-cyclodextrinを含む150 mMリン酸緩衝液(pH=2.5)を移動相にして、電圧：10 kV、温度：17.5°Cで、200 nmの紫外部吸収検出により行った。この条件下で、amphetamine, methamphetamine 及びephedrineは光学異性体のベースライン分離が可能となった。検出限界は300 ng/mlで、migration times の再現性(RSD)は、日内、日間がそれぞれ0.45%及び0.58%であった。ヒト尿及び毛髪中のamphetamine の光学異性体分離分析にこの方法を応用した。

Keywords: chiral separation, phenethylamines, capillary electrophoresis

*¹ Institute of Forensic Medicine, University of Verona

*² Department of Justice Sciences, The University of Alabama

Nakahara, Y. and Kikura, R.: Hair analysis for drug abuse XIX. detection of ephedrine and its homologs in rat hair and human hair.

J. Chromatogr. B., **700**, 83-91 (1997)

動物及びヒト毛髪中のエフェドリン(EP), フェニルプロパノールアミン(PPA)及びメチルエフェドリン(ME)の高感度分析法を開発した。毛髪検体(10 mg)は洗浄後、重水素標識の内標を加え、5 N塩酸-メタノール(1:20)で抽出処理し、誘導体化後、GC-MSで分析した。エフェドリン(EP)とメタンフェタミン(MA)の識別のための誘導化法の検討に、TFA化とPFP化を比較したところ、TFA誘導体はクロマトグラフ上で分離しなかったが、PFP誘導体が明確な分離を示した。検量線は、0.5から50 ng/mgまで直線性($r=0.998$)を示し、いずれもオンカラムで50 pgまで検出可能であった。5 mg/kg/day 腹腔内投与(10回)のラット毛髪中の薬物の定量に本法を用い、3種の薬物の毛髪濃度を測定すると共に、毛髪移行性の指標を求めたところ、EP(0.10)>PPA(0.07)>ME(0.03)の順であった。エフェドリン(EP)を50 mg/kg 経口で3日間、ヒトに投与し、28日後に頭髪を採取して、分析した結果、平均2.25 ng/mg 検出され、ヒト髪中には1~19 ng/mg の濃度範囲で、初回投与後14日まで検出された。更に、妊娠中 ME を含むブロン液を乱用していた母親から生まれた新生児の頭髪を分析し、ME と EP の検出に成功した。

Keywords: ephedrine, methylephedrine, hair

Sakamoto, T., Tanaka, A.* and Nakahara, Y.: Disposition of PCP and its hydroxylated metabolites in rat hair.

Life Sci., **62**, 561-570 (1998)

幻覚剤PCP及び3種の主代謝物(PCHP, PCHP, PCPdiol)のラット毛髪への分布について、血中の分布と比較検討した。DA 雄性ラットに薬物を0.5 mg/kg/day で、10日間腹腔内投与し、28日後に毛髪を採取した。前報の方法に従い、毛髪中の薬物を抽出し、GC-MS にて分析した。4種の薬物の血中 AUC を求めたところ、PCP(2.03 μ g·min/ml) > PCPdiol(0.60 μ g·min/ml) > PCHP(0.11 μ g·min/ml) > PCHP(0.065 μ g·min/ml)の順であったが、それらの毛髪濃度は、PCP(7.51 ng/mg) > PCHP(1.22 ng/mg) > PCHP(0.10 ng/mg) > PCPdiol(0.05 ng/mg)の順であった。血中 AUC に対する毛髪取率を求めるとき、PCP(2.29) > PCHP(0.79) > PCHP(0.36) > PCPdiol(0.32)の順となり、PCP は代謝物に比べ、毛髪への分布性向が高く、一方、dihydroxy 代謝物のPCPdiolのそれは最も低いことが認められた。水溶性代謝物は血中に多く、脂溶性のPCP は毛髪に多く分布するこの現象から脂溶性が毛髪への分布と密接な関係があると結論した。

Keywords: phencyclidine, phencyclidine metabolites, rat hair

* 昭和薬大

Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: Assessment of shelf-life equivalence of pharmaceutical products

Chem. Pharm. Bull., **45**, 1482-1484 (1997)

製剤のロット間、包装間、処方間における安定性の変動を有効期間の推定値のレンジから評価する方法について、通常の分散分析法と比較検討した。レンジに基づく同等性評価法の検出力は分散分析法の検出力とは異なり、定量誤差の影響を受けにくいことが明らかになった。

Keywords: shelf-life, equivalence, ANOVA

Kawakami, N.*, Takemasa, H.* Yamaguchi, T., Hayakawa, T., Shimohama, S.* and Fujimoto, S.*: Indication of a protein kinase C-independent pathway for NADPH oxidase activation in human neutrophils

Arch. Biochem. Biophys., **349**, 89-94 (1998)

チロシンホスファターゼの阻害剤であるpervanadateを用いてヒト好中球活性酸素生成酵素の活性化機構の解析を行った。ヒト好中球にpervanadateを添加すると、活性酸素生成の誘導と細胞質因子p47phox及びp67phoxの細胞膜への移行が引き起こされる。一方、C-キナーゼの阻害剤であるH-7はこの細胞質因子の膜移行を顕著に阻害するものの活性酸素生成には影響を与えたなかった。以上の結果は、活性酸素生成酵素の活性化にはC-キナーゼ依存的な経路と非依存的な経路が存在することを示唆している。このC-キナーゼ非依存的な経路にはチロシンリン酸化が関与していることが推察された。

Keywords: pervanadate, NADPH oxidase, neutrophil

* 京都薬科大学

Mizuguchi, H.*¹, Nakagawa, T.*¹, Morioka, Y.*¹, Imazu, S.*¹, Nakanishi, M.*², Kondo, T.*³, Hayakawa, T. and Mayumi, T.*¹: Cytoplasmic gene expression system enhances the efficiency of cationic liposome-mediated in vivo gene transfer into mouse brain

Biochem. Biophys. Res. Commun., **234**, 15-18 (1997)

非ウイルスベクター(リポソーム)を用いた遺伝子導入法の開発を目的として、T7RNAポリメラーゼとT7プロモーターを持つプラスミドとの組み合わせにより細胞質内で遺伝子を持続的に発現させる系を構築し、マウス脳での遺伝子発現を検討した。その結果、遺伝子発現に核移行を必要とする従来のプラスミドでは導入遺伝子の発現がほとんどみられなかったのに対して、T7ポリメラーゼを用いた系では効率の良い遺伝子発現が可能であることが明らかとなり、この方法が中枢神経系への遺伝子導入法として有用であることが示された。

Keywords: cytoplasmic gene expression, cationic liposome, central nervous system

*¹ 大阪大学薬学部

*² 大阪大学微生物病研究所

*³ 大阪バイオサイエンス研究所

Hayakawa, T.: "Global Perspective on Specifications for Biotechnology Products-Perspective from Japan:-Development of Specifications for Biotechnology Products"

Dev. Biol. Stand., **91**, 15-23(1997)

バイオテクノロジー応用医薬品の評価とその品質確保を図るために国際標準の確立に向けての方策について最新の科学的成果を基に検討した。とくに、1) 医薬品製造工程の妥当性の検証とその恒常性の確保に必要な要素、2) 目的産物の構造・組成や特性解析を行う上の留意事項と必要な技術、3) 糖タンパク質における糖鎖の意義と構造解析技術、4) 迷入物質や有害因子、不純物の除去方法の評価と試験方法、5) 製品における規格及び試験方法の設定に必要な要件などについて着目し、その研究成果を示した。

Keywords: biotechnology products, specifications, quality control

Kunisawa, J.* Nakanishi, T.* Hayashi, A.* Tsutsumi, Y.* Hayakawa, T. and Mayumi, T.*: **Fusogenic liposome functions as an efficient immunoadjuvant in inducing humoral immune-responses to soluble antigen**

Drug Delivery System, **13**, 21-26(1998)

膜融合リポソームのワクチンアジュバントとしての有効性を追求する目的で、抗原タンパクを封入した膜融合リポソームをマウスに免疫し、膜融合リポソームの抗体産生促進能を検討した。その結果、抗原を膜融合リポソームに封入することにより抗体産生が高まることが明らかとなり、膜融合リポソームがワクチンアジュバントとして有効であることが示された。

Keywords: fusogenic liposome, vaccine, humoral immunity

* 大阪大学薬学部

Nakanishi, T.* Kunisawa, J.* Hayashi, A.* Tsutsumi, Y.* Hayakawa, T. and Mayumi, T.*: **Fusogenic liposome directs an exogenous antigen into class I major histocompatibility complex antigen-presenting pathway**

Drug Delivery System, **13**, 27-33(1998)

膜融合リポソームを cytotoxic T lymphocyte の誘導が可能なワクチンベクター/アジュバントとして開発することを念頭に、膜融合リポソームによって細胞質内に導入された封入抗原が major histocompatibility complex (MHC) class I 抗原提示経路に送達されうるかについて検討した。その結果、膜融合リポソームにより抗原を導入した細胞では、抗原が MHC class I 提示されることが明らかとなり、膜融合リポソームが新たなワクチンベクター/アジュバントとして有望であることが示された。

Keywords: fusogenic liposome, class I major histocompatibility complex, cytotoxic T lymphocyte

* 大阪大学薬学部

Suzuki, R.* Nakagawa, T.* Mizuguchi, H.* Imazu, S.* Nakanishi, T.* Nakagawa, S.* Nakanishi, M.* Hayakawa, T. and Mayumi T.*: **The optimization of cytoplasmic gene expression system with T7 RNA polymerase**

Drug Delivery System, **13**, 87-93(1998)

非ウイルスベクター(リポソーム)による高効率な遺伝子導入法の開発を目的に、細胞質での遺伝子発現系の構築を行った。その結果、T7 ポリメラーゼ、T7 プロモーターの下流に T7RNA ポリメラーゼを組み込んだプラスミド、T7 プロモーターの下流に目的遺伝子を組み込んだプラスミドの三者を共に細胞に導入することにより、効率よく導入遺伝子が発現されることが明らかとなった。

Keywords: cytoplasmic gene expression, T7 RNA polymerase, T7 promoter

*¹ 大阪大学薬学部

*² 大阪大学微生物病研究所

Kawasaki, N., Morimoto, K. and Hayakawa, T.: **Control of hemoglobin synthesis in erythroid differentiating K562 cells. 2. Studies of iron mobilization in erythroid cells by high-performance liquid chromatography-electrochemical detection**

J. Chromatogr. B, **705**, 193-201(1998)

先に我々は、K562 細胞の赤芽球分化過程において、鉄がヘモグロビン(Hb)合成の律速酵素であるδ-アミノレブリン酸シンターゼ(ALAS)を調節することによって Hb 合成を調節していることを見出した。そこで、電気化学検出HPLC を用いて細胞内鉄を測定し、赤芽球分化過程における鉄動態およびその役割について検討した。その結果、K562 細胞を酪酸で刺激すると、まず、トランスフェリン受容体(TfR)発現量が増加し、続いて total 鉄、Hb 含量および ALAS 活性がほぼ同時に増大することが確認された。しかし、この際、非ヘム鉄および低分子量鉄錯体量に変動は認められなかった。また、酪酸処理細胞および未処理細胞にトランスフェリン鉄を添加すると、δ-アミノレブリン酸(ALA)含量と Hb 含量は増加するが、ヘミンを添加した場合、すべての鉄分子種および Hb 含量が増加している一方で、TfR 発現量および ALA 含量は低下していることが明らかになった。以上のことから、Hb 合成は TfR 発現によって調節されており、ヘム合成は、ヘムまたは Hb が分解されることによって遊離した鉄が TfR 発現量を低下させることによって抑制されることが示唆された。

Keywords: K562 cell, HPLC-EC, iron

Kawasaki, N. and Lee, Y. C.*: **Europium labeling of natural and synthetic glycopeptides**

Anal. Biochem., **250**, 260-262(1997)

放射性標識法に代わる標識法として、ユーロピウム等のランタノイド錯体を用いた蛍光標識法が注目されている。そこで、無水二エチレン三アミン五酢酸を用いて糖ペプチド $\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2\text{Asn}$ や合成糖ペプチド YEE(ahGalNAc)₃ をユーロピウム標識する方法を確立した。

Keywords: Europium, DTPA anhydride, glycopeptide

* Department of Biology, Johns Hopkins University

Suzuki, N.* Tsai, I. I.* Kawasaki, N. Chou, C. L.* and Lee, Y. C.*: **Colorimetric determination of subnanomolar carbohydrate using periodate and 2,4,6-tri-2-pyridyl-S-triazine(TPTZ)**

Carbohydrate Lett., **2**, 335-342(1997)

2,4,6-tri-2-pyridyl-S-triazine(TPTZ) の暗紫色は、過ヨード酸酸化によってすみやかに消失する。そこで、糖を過剰の過ヨード酸で酸化し、残存している過ヨード酸量を TPTZ を用いて測定することによって、微量の糖を定量する方法を確立した。また、マイクロタイプレートを用いることによって、本分析法の簡便化及び高感度化を図る

ことができた。

Keywords: TPTZ, carbohydrate

* Department of Biology, Johns Hopkins University

Kasugai, I., Morimoto, K. and Hayakawa, T.: A variant of the HL-60 cell line expressing a high level of PTP1C exhibits increased susceptibility to differentiation by phorbol 12-myristate 13-acetate

Cancer Lett., **120**, 223-227(1997)

HL-60 細胞株のバリエントの一つ, HL-60/MCSFR4D2 が親株細胞の二倍の PTP1C を発現していることが immunoblotting および immunoprecipitation により明らかになった。phorbol 12-myristate 13-acetate(PMA)処理後, HL-60/MCSFR4D2 細胞のマクロファージ様分化を接着性の出現により検討した。HL-60/MCSFR4D2 細胞は, 1% FCS 存在下, 0.5 ng/ml の PMA で48時間処理すると細胞の20%が, 1.0 ng/ml で60%, 5.0 ng/ml で80%が接着性を示した。それに対して同様の処理で親株 HL-60 細胞はほとんど接着性を示さなかった。さらに、アンチセンス PTP1C オリゴヌクレオチドは、PMA が誘導する HL-60/MCSFR4D2 細胞の接着性の発現を減少させた。これらの結果は、HL-60 細胞における PTP1C の高発現が、マクロファージ様分化の感受性の増大に関係している可能性を示唆している。

Keywords: HL-60 cell, PTP1C, PMA

Kasugai, I., Morimoto, K., Kawanishi, T. and Hayakawa, T.: Establishment of a human leukemia HL-60 cell line that expresses high levels of M-CSF receptors

In Vitro Cell. Dev. Biol.-Animal, **34**, 93-96(1998)

M-CSF レセプター遺伝子, c-fms を発現するプラスミド pSMc-fms をヒト白血病 HL-60 細胞に導入することにより、M-CSF レセプターの高発現株 HL-60/MCSFR4D2 を得た。HL-60/MCSFR4D2 細胞は、FCS 非存在下で50 ng/ml の M-CSF で処理すると、未処理細胞に比べて培養初期において10%ほど細胞数の増加を示した。これは、M-CSF による一時的な増殖刺激や血清欠乏による細胞死の抑制によるものと推定される。一方、M-CSF は抗 Fas 抗体及び CalphostinC の引き起こすアポトーシスに影響を及ぼさなかった。さらに、HL-60/MCSFR4D2 細胞は、PMA によるマクロファージへの分化に対して著しく感受性が増大していることが判明した。以上から、HL-60/MCSFR4D2 は PMA による分化のシグナル伝達や M-CSF の作用機構を解析する上で有効な細胞株であると考えられる。

Keywords: HL-60 cell, M-CSF, c-fms

Yamaguchi, T., Yamaguchi, T., Kogi, M., Yamamoto, Y.* and Hayakawa, T.: Bioassay of human granulocyte colony-stimulating factor using human promyelocytic HL-60 cells

Biol. Pharm. Bull., **20**, 943-947(1997)

ヒト白血病 HL-60 細胞を DMSO 処理した細胞を用いることにより、G-CSF の生物活性を測定することが可能なことを示した。また、このアッセイを用いることにより、糖鎖の存否は G-CSF の活性に影響を与えないことも確認された。

Keywords: G-CSF, HL-60 cell, bioassay

* 都臨床研

Yamaguchi, T., Yamaguchi, T. and Hayakawa, T.:

Granulocyte colony-stimulating factor promotes functional maturation of O²⁻ generating system during differentiation of HL-60 cells to neutrophil-like cells

Arch. Biochem. Biophys., **353**, 93-100(1998)

ヒト白血病 HL-60 細胞は DMSO やレチノイン酸刺激により好中球様細胞へと分化するが、G-CSF は活性酸素生成能やレセプター発現を指標としたこの HL-60 細胞の好中球への分化を顕著に亢進することを見いだした。さらに、G-CSF による活性酸素生成能の亢進は活性酸素生成酵素の活性化に共役したジアシルグリセロール生成系の up-regulation によることを示唆する結果が得られた。

Keywords: G-CSF, HL-60 cell, differentiation,

Watabe, A., Ohta, M., Matsuyama, N.* Mizuno, K.* El Borai, N., Tanimoto, T., Kawanishi, T. and Hayakawa, T.: Characterization of plasmin-induced platelet aggregation

Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol., **96**, 341-352 (1997)

Tissue-plasminogen activatorなどの血栓溶解剤の副作用として問題となっている血栓溶解後の再閉塞に関連して、その原因と考えられているプラスミンによる血小板凝集について検討した。プラスミンによる血小板凝集は、セリンプロテアーゼ阻害剤、及び、リジン結合部位の阻害剤によって阻害された。また、細胞外からの Ca²⁺流入、RGDS 配列に依存した接着が凝集に関与していた。プラスミンの作用は高分子量のトロンビンアンタゴニストによって阻害されたが、低分子量のトロンビンアンタゴニストによっては阻害されず、プラスミン固有の作用部位がトロンビンレセプターの近傍に存在すると考えられた。プラスミンの血小板への結合にはプロテアーゼ部位とリジン結合部位が関与していることが示唆された。

Keywords: plasmin, platelet, aggregation

* 日本商事株

Tanaka, H.*¹, Nishimaru, K.*¹, Sekine, T.*¹, Kawanishi, T., Nakamura, R.*², Yamagaki, K.*² and Shigenobu, K.*¹: Two dimensional millisecond analysis of intracellular Ca²⁺ sparks in cardiac myocytes by rapid scanning confocal microscopy: Increase in amplitude by isoproterenol

Biochem. Biophys. Res. Commun., **233**, 413-418(1997)

ラット心室筋細胞におけるカルシウムスパークを高速走査型共焦点レーザー顕微鏡を用いて約 4 msec の時間分解能で画像に捉えた。カルシウムスパークは細胞質領域でランダムに生じ、約 10 msec で最大まで上昇し、30-40 msec で静止レベルまでもどった。ライノジン (1 μM) ではスパーク発生は完全に抑制されたが、3 μM のニカルジピンではまったく影響をうけなかった。1 μM のイソプロテレノールでは、発生頻度および発生部位は変化しなかったが、細胞内カルシウムイオン上昇幅が増強された。以上の結果は、カルシウムスパークは筋小胞体からのカルシウムイオン放出を反映しており、この放出に関わるライノジン受容体チャネルの機能は β-アドレナリン刺激によって調節されることを示唆している。

Keywords: calcium spark, cardiac myocyte, confocal microscopy

*¹ 東邦大学薬学部

*² ニコン(株)

Tanaka, H.*¹, Sekine, T.*¹, Kawanishi, T., Nakamura, R.*² and Shigenobu, K.*¹: Intrasarcomere [Ca²⁺] gradients and

Shigenobu, K.^{*1}: Intrasarcomere $[Ca^{2+}]$ gradients and their spatio-temporal relation to Ca^{2+} sparks in rat cardiomyocytes

J. Physiol., **508**, 145-152(1998)

ラット単離心室筋細胞において、電気刺激による細胞内カルシウムイオン濃度($[Ca^{2+}]_i$)上昇およびカルシウムスパークを、高速走査型共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡のライン走査で画像に捉えた。電気刺激による $[Ca^{2+}]_i$ 上昇を画像化してみると、細胞の長軸方向に約2 μm間隔の周期で $[Ca^{2+}]_i$ の速い上昇開始部位があることが確認された。この部位はDi-2ANEPEQで染色される部位、即ちT-管領域と一致した。次にカルシウムスパークの発生部位と、電気刺激によるカルシウム上昇において速く $[Ca^{2+}]_i$ 上昇が生じる部位との空間的関係を同一細胞で解析した。その結果、カルシウムスパークが生じる部位は、電気刺激で速く $[Ca^{2+}]_i$ 上昇が観察される部位と一致し、またスパーク発生部位では、発生直後には電気刺激による $[Ca^{2+}]_i$ 上昇が欠落していた。T-管の電位依存性カルシウムチャネルはカルシウム貯蔵部位であるRy-Rに近接して存在することが知られており、以上の結果から、カルシウムスパークはその開口を反映していることが示唆された。さらに $[Ca^{2+}]_i$ 上昇の不応期が発見されたことから、カルシウムスパークは正常な興奮収縮連関において $[Ca^{2+}]_i$ 上昇の一単位であることが強く示唆された。

Keywords: calcium spark, cardiac myocyte, confocal microscopy

^{*1} 東邦大学薬学部

^{*2} ニコン(株)

Uchida, E., Morimoto, K., Kawasaki, N., Izaki, Y., Said, A. A. and Hayakawa, T.: Effect of active oxygen radicals on protein and carbohydrate moieties of recombinant human erythropoietin

Free Rad. Res., **27**, 311-323(1997)

生理活性糖蛋白質に対する活性酸素の影響を遺伝子組換えヒトエリスロポエチンをモデルに解析した。Fenton反応により生成した活性酸素はエリスロポエチンの *in vivo* 及び *in vitro* の生物活性を消失させるが、これは活性酸素が糖鎖部分よりも蛋白質部分と主に反応するためであること、特にトリプトファンの損傷が活性消失を反映することを明らかにした。また、エリスロポエチンの糖鎖を除去すると活性酸素感受性が高まるところから、糖鎖はこのような活性酸素傷害に対してある程度の保護効果を示すことが示唆された。

Keywords: erythropoietin, oxygen radicals, glycoprotein

Chung, J.*¹, Uchida, E., Grammer, T. C.* and Blenis, J.*: STAT3 serine phosphorylation by ERK-dependent and independent pathways negatively modulates its tyrosine phosphorylation

Mol. Cell. Biol., **17**, 6508-6516(1997)

EGFなどの増殖因子やIL-6などのサイトカインの情報伝達系では、転写因子であるSTAT(signal transducers and activators of transcription)のチロシンリン酸化が重要な役割を果たしているが、セリンリン酸化も活性制御に関与することから、STATのセリンリン酸化に関与するキナーゼについて検討した。その結果、増殖因子刺激ではERKファミリーのMAP kinaseがSTAT3の727番目のセリンを直接リン酸化する責任酵素であること、STAT1はMAP kinaseではリン酸化されないことを *in vitro*, *in vivo* において証明した。一方、IL-6刺激ではMAP

kinaseとは異なるキナーゼがSTATをセリンリン酸化することを明らかにした。さらに、STAT3の727番目のセリンのリン酸化は、STAT3の2量体化、核移行、DNA結合活性に重要であるチロシンリン酸化に対して負の制御を行っている可能性を示した。

Keywords: signal transducers and activators of transcription, phosphorylation, MAP kinase

* Department of Cell Biology, Harvard Medical School

Niimi, S., Yamaguchi, T. and Hayakawa, T.: Regulation of glucocorticoid receptor by the tyrosine kinase inhibitor herbimycin A in the cytosolic fraction of primary cultured rat hepatocytes.

J. Steroid Biochem. Mol. Biol., **61**, 65-71(1997)

チロシンキナーゼが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(GR)に及ぼす作用についてチロシンキナーゼの阻害剤であるハービマイシンA(HA)を用いて調べた。HAは細胞質におけるグルココルチコイドの高親和性結合部位数を低下させ、その低下はGRタンパクの減少によることが示された。一方、タンパク合成の阻害剤はGRタンパクレベルに影響を与えるなかった。また、核においてHAはGRタンパクを若干上昇させたが、その増加は細胞質における減少よりはるかに少なかった。これらの結果からHAによる細胞質GRタンパクの減少がGRタンパク合成あるいは細胞質から核への移行の阻害によるものではないことを示された。以上チロシンキナーゼの阻害剤を用いた実験結果からチロシンキナーゼが細胞質におけるGRタンパクレベルの維持に必要であることを示され、その機構としてGRタンパク安定性の増加によりGRタンパクレベルを維持している可能性が示唆された。

Keywords: glucocorticoid receptor, tyrosine kinase, primary cultured rat hepatocytes

Ozaki, Y., Rui, J., Tang, Y. and Satake, M.: Anti-inflammatory effect of *Forsythia suspensa* Vahl and its active fraction

Biol. Pharm. Bull., **20**, 861-864(1997)

中国で種々の炎症の治療に用いられている処方構成生薬のレンギョウ(*Forsythia suspensa* Vahl)の抗炎症作用を検討した。レンギョウの70%メタノールエキスは経口投与でマウスを用いての酢酸誘発色素透過性亢進の抑制、酢酸誘発writhingの抑制、ラットを用いてのカラゲニン誘発浮腫および綿球誘発肉芽組織形成の抑制などの抗炎症作用および鎮痛作用を示した。さらに、活性成分を検討するためにメタノールエキスを水とヘキサンで分配して水およびヘキサン可溶画分エキスを得た。両エキスのうちヘキサン可溶画分のみが経口投与によりマウスでの酢酸誘発色素透過性亢進の抑制作用を示し、ヘキサン可溶画分のみに抗炎症作用が認められた。これらのことから、レンギョウは炎症過程での比較的早い過程および遅い過程で作用し、この抗炎症作用の活性成分は脂溶性成分であることが示唆された。

Keywords: *Forsythia suspensa* Vahl, antiinflammatory effect, hexane fraction

Sakamoto, A.*^{1,2}, Ono, K., Abe, M.*¹, Jasmin, G.*³, Eki, T.*¹, Murakami, Y.*¹, Masaki, T.*⁴, Toyo-oka, T.*² and Hanaoka, F.*¹: Both hypertrophic and dilated cardiomyopathies are caused by mutation of the same gene, δ -sarcoglycan, in hamster: An animal model of disrupted dystrophin-associated glycoprotein complex.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **94**, 13873-13878(1997)

心筋症(cardiomyopathy, CM)は心筋が一次的変成を起こす疾患であり、その外観に基づき伝統的に肥大型(HCM)と拡張型(DCM)とに分けられる。ヒトの遺伝性心筋症の代表的モデルである心筋症ハムスターには共通の祖先から派生したHCMとDCMの系統があるが、本論文では両者に共通の遺伝子欠損が、未だその機能的役割のわかつていないデルタ-サルコグリカン(δ -SG)の遺伝子中に存在することを突き止めた。欠損の原因となるブレークポイントとは δ -SG遺伝子の第二エクソンの5'上流6.1 kbにあり、そこから5'上流側の、authenticな第1エクソンを含む27.4 kb以上の領域が欠損していた。この領域は主たる転写開始領域を含んでいるため、全てのCMハムスターで第2エクソンから始まる δ -SG蛋白のコード領域が保存されていたにも関わらず、 δ -SGのメッセンジャーは欠損し、その結果 δ -SG蛋白質が失われることがわかった。更に、 δ -SGを含むジストロフィン関連糖蛋白質群の相互の結合様式を調べた結果、 δ -SGに細胞膜を安定化させる役割があることがわかった。本研究により、CMハムスターの原因遺伝子が判明したのみならず、ヒトの心筋症の遺伝子診断及び治療のための新たな標的が明らかとなった。

Keywords: δ -sarcoglycan, mutation, cardiomyopathy, hamster

*¹ 理化学研究所細胞生理

*² 東京大学医学部

*³ モントリオール大学医学部

*⁴ 京都大学医学部

Kawahara, N., Nozawa, M., Flores, D., Bonilla, P.¹, Sekita, S., Satake, S. and Kawai, K.²: **Nitidasin, a novel sesterterpenoid, from the peruvian folk medicine "Hercampuri" (*Gentianella nitida*)**

Chem. Pharm. Bull., **45** (10), 1717-1719 (1997)

ペルーにおいて民間薬として肝炎等の治療の目的で用いられている薬用植物 Hercampuri (*Gentianella nitida*)の成分検索を行った。本植物の全草ジクロロメタン抽出エキスより nitidasin と命名した新規セスタテルペノイド誘導体を単離し、X線結晶構造解析を含めた各種スペクトルデータ解析よりその立体構造を決定した。

Keywords: *Gentianella nitida*, Hercampuri, nitidasin

*¹ サンマルコス大学

*² 星薬科大学

Morita, H.*¹, Yun, S.-Y.*¹, Takeya, K.*¹, Itokawa, H.*¹ and Shirota, O.: **A Cyclic Heptapeptide from *Vaccaria segetalis*.**

Phytochemistry, **42**, 439-441 (1996)

Vaccaria segetalis の種子より新規ヘプタペプタイドである、segetalin E (*cyclo*[-Gly-Tyr-Val-Pro-Leu-Trp-Pro-])を単離し、その構造を二次元NMRの広汎な手法や化学分解によって解析した。

Keywords: cyclic octapeptide, segetalin E, *Vaccaria segetalis*

* 東京薬科大学薬学部

Morita, H.*¹, Gonda, A.*¹, Takeya, K.*¹, Itokawa, H.*¹ and Shirota, O.: **Conformational preference of cycloleonripeptides A, B, and C. Three proline-rich cyclic nonapeptides from *Leonurus heterophyllus***

Chem. Pharm. Bull., **45**, 161-164 (1997)

Leonurus Heterophyllus の果実から単離された3種のプロリンリッチ・ノナペプタイド、cycloleonripeptides A (*cyclo*

[- Gly - Pro - Pro - Pro - Tyr - Pro - Pro - Met - Ile -]), B (*cyclo*[- Gly - Pro - Pro - Pro - Tyr - Pro - Pro - Met(O) - Ile -]), C (*cyclo*[- Gly - Pro - Pro - Pro - Tyr - Pro - Pro - Met(O) - Ile -])の重水素化ジメチルスルフォオキシド(DMSO)中での三次元構造を、NMRデータからのディスタンスジオメトリー計算と拘束エネルギー極小化により決定した。272個の異なる初期構造を用いた計算により、一つの比類ないバックボーン・コンフォメーションを平方根平均二乗偏差が0.57Åの値を得た。cycloleonripeptides A, BおよびCのバックボーン構造は、Pro³-Pro⁴の間で一つの β IV-ターン、Pro⁷-Met⁸の間で一つの β Iターンの、二つの β ターンを形成する。また、Tyr⁵-NHとPro²-COとの間に対角4→1バックボーン水素結合に加えて、 β -バルジ・コンフォメーションの形成に関与するGly¹-NHとPro⁶-COとの間と、Ile⁹-NHとPro⁶-COとの間に二つの分子間水素結合の存在が観測された。

Keywords: cyclic nonapeptide, cycloleonripeptide, *Leonurus heterophyllus*

* 東京薬科大学薬学部

Shirota, O., Sekita, S. and Satake, M.: **Two Phenylpropanoid Glycosides from *Sparganium stoloniferum*.**

Phytochemistry, **44**, 695-698 (1997)

中国の生薬である山稜 (San Leng), *Sparganium stoloniferum* より二つのフェニルプロパノイド・グリコサイドを単離し、それぞれ、 β -D-(1-O-acetyl-3,6-O-diferuloyl)fructofuranosyl α -D-2',6'-O-diacytetylglucopyranosideと β -D-(1-O-acetyl-6-O-feruloyl)fructofuranosyl α -D-2',4',6'-O-triacetylglucopyranoside であると決定した。

Keywords: *Sparganium stoloniferum*, Sparganiaceae, phenylpropanoid glycosides

Yagami, T., Sato, M., Nakamura, A., Komiyama, T.*¹, Kitagawa, K.*¹, Akasawa, A.*² and Ikezawa, Z.*³: **Plant defense-related enzymes as latex antigens**

J. Allergy Clin. Immunol., **101**, 379-385 (1998)

天然ゴムラテックスから植物の生体防御に関与すると考えられる三種の加水分解酵素 (β -1,3-グルカナーゼ、キチナーゼ/リゾチーム、カルボキシエステラーゼ)を分離した。プロモシンアン分解で得られた β -1,3-グルカナーゼの断片化ペプチドは、ラテックスアレルゲン Hev b 2 に一致するアミノ酸配列を有していた。また、キチナーゼ/リゾチームのN-末端アミノ酸配列は、hevamineの配列に一致した。一方、カルボキシエステラーゼは、複数のサブユニットからなる高次構造体として存在した。各酵素の抗原性をイムノプロット法とELISA法で調べたところ、いずれもラテックスアレルギー患者や食物アレルギー患者のIgE抗体によって特異的に認識される蛋白質であることがわかった。この結果は、植物の生体防御蛋白質群が交差反応をも引き起こすアレルゲンとなる可能性を示すものである。

Keywords: latex allergy, cross reactivity, defense-related protein

* 新潟薬科大学

* 国立小児病院小児医療研究センター

*³ 横浜市立大学医学部

矢上 健, 配島由二, 中村晃忠, 小宮山忠純*, 北川幸己*: β -1,3-グルカナーゼ活性を有するラテックス抗原 (Hev b 2)の糖鎖部分の役割

日本ラテックスアレルギー研究会会誌, **1-2**, 67-71 (1997)

天然ゴムラテックスに含まれる塩基性 β -1,3-グルカナ

ーゼをコンカンナバリンAのアフィニティークロマトグラフに適用し、糖鎖に関する構造が異なる三種のイソ酵素(GI, GII, GIII)として分離した。各イソ酵素をイムノプロット法で調べた結果、糖鎖を有する蛋白質(GI, GII)のみがラテックスアレルギー患者のIgE抗体によって特異的に認識されることがわかった。さらに、過ヨウ素酸ナトリウムで糖鎖構造を酸化分解したGI及びGIIには患者のIgE抗体がほとんど結合しないことを、ELISA法を用いて確認した。以上の結果は、IgE抗体による β -1,3-グルカナーゼの特異的な認識に、その糖鎖部分が重要な役割を果たすこと示すものである。

Keywords: latex allergy, β -1,3-glucanase, sugar chain

* 新潟薬科大学

大砂博之¹, 山本美穂¹, 高橋さなみ¹, 武川るみ¹, 宮沢めぐみ¹, 大沼すみ¹, 大沢純子¹, 北村和子¹, 池澤善郎¹, 椿 和文², 矢上 健: 多種の食物にも感作された、ラテックスアレルギーの1例—第2報 ラテックス成分による検査結果を中心に

日本ラテックスアレルギー研究会会誌, 1-2, 72-77(1997)

植物の生体防御に関与すると考えられる三種の加水分解酵素(β -1,3-グルカナーゼ, キチナーゼ/リゾチーム, カルボキシエステラーゼ)を天然ゴムラテックスから分離し、そのアレルゲン性をヒスタミン遊離テストとプリックテストで調べた。その結果、ヒスタミン遊離テストではいずれの酵素も、またプリックテストでは β -1,3-グルカナーゼとカルボキシエステラーゼが陽性反応を示した。この実験結果から、少なくとも β -1,3-グルカナーゼとカルボキシエステラーゼの二種は、実際にアレルギー反応を引き起こす蛋白質であることが示された。

Keywords: latex allergy, defense-related protein, prick test

*¹ 横浜市立大学医学部

*² AFT研究所

Futaki, S.¹, Ishikawa, T.², Niwa, M.², Kitagawa, K.³, and Yagami, T.: Embodying a stable α -helical protein structure through efficient chemical ligation via thioether formation

Bioorganic & Medicinal Chemistry, 5, 1883-1891(1997)

ハロアセチル化したヘリックススペプチドを、ケミカルリゲーションによりシステイン含有ヘリックス構造体に次々と導入するという、人工蛋白質の新しい構築法を開発した。この手法では合成中間体となるペプチドに多くの保護基を導入する必要がなく、HPLCを用いて簡単に精製することができる。また、導入したセグメント間にジスルフィド架橋を形成させることも可能であった。新規構築法で化学合成したfour-helix-bundle proteinは、カオトロピックイオンによる変性や熱変性に対して安定であり、また酵素活性に対しても抵抗性を示した。

Keywords: α -helical protein, chemical ligation, artificial protein

*¹ 京都大学化学研究所

*² 徳島大学薬学部

*³ 新潟薬科大学

伊佐間和郎, 鹿庭正昭, 中村晃忠: ゴム製品中の2-Mercaptobenzimidazole系老化防止剤の分析

衛生化学, 44, 99-106(1998)

MBI系老化防止剤であるMBI, 4MMBI, 5MMBIのHPLCによる同時分析法について検討した。メタノール及びテトラヒドロフランを移動相に用いた場合は4MMBI

と5MMBIが分離しなかったが、アセトニトリルを移動相に用いた場合はこれらが分離した。さらに0.1Mリン酸塩緩衝液を移動相に用いたところ、4MMBIと5MMBIの分離が大きく改善された。最大の分離が達成されたのは、移動相に0.1Mリン酸塩緩衝液(pH 6.5)/アセトニトリル(87/13)を用いた場合であり、この時の4MMBIと5MMBIの分離度は1.1であった。また、ゴム製品中からMBI系老化防止剤を抽出する溶媒としてはメタノールが最も適していた。市販のゴム長靴12製品について分析したところ、MBIは4製品に含まれており、その含有量は11.5~67.7 $\mu\text{g/g}$ であった。しかし、4MMBI及び5MMBIはいずれの製品にも含まれていなかった。

Keywords: 2-mercaptobenzimidazole, rubber, antioxidant

中島晴信¹, 大森裕子², 伊佐間和郎, 浅野陽子², 寺地吉弘², 松永一朗¹, 宮野直子¹, 鹿庭正昭: 抗菌防臭加工剤の安全性評価に関する研究—大阪府下における抗菌加工製品の市場実態調査一

大阪府立公衆衛生研究所研究報告, 35, 109-117(1997)

抗菌防臭加工剤の安全性評価の研究の一環として、平成3年度から6年間に亘って大阪府下の販売店で抗菌加工製品の市場実態調査を行ってきた。調査した店舗は47店舗で、調査件数は1,113件になった。その結果、加工薬剤の表示のある製品は20.3%しかなく、ブランド名などから推測しても39.2%の製品の薬剤しか判明しなかった。つまり市販製品に使用されている薬剤は殆ど表示されていないため、消費者が抗菌薬剤の情報を知らされていない実態が明らかとなつた。

Keywords: antimicrobial and deodorant agents, marketing research, data base system

*¹ 大阪府立公衆衛生研究所

*² 大阪府環境保健部

中島晴信¹, 大森裕子², 伊佐間和郎, 松永一朗¹, 宮野直子¹, 浅野陽子², 寺地吉弘², 鹿庭正昭: 抗菌防臭加工製品の市場調査手法の確立と調査結果

衛生化学, 44, 138-149(1998)

抗菌防臭加工剤の安全性評価の研究の一環として、研究機関と行政機関が協力して平成3年度から6年間に亘って大阪府下の販売店で抗菌加工製品の市場実態調査を行ってきた。この調査結果は研究用に作成した「抗菌防臭データベースシステム」に含まれる「市場調査データベース」に入力し、他の調査結果のデータベース(薬剤データベースなど)とリンクさせ、評価解析を行った。その結果、加工薬剤の表示のある製品は20.3%しかなく、ブランド名などから推測しても39.2%の製品の薬剤しか判明しなかった。この調査結果は他の調査(分析調査等)を行う際に活用し、家庭用品の安全性確保に役立ててきた。

Keywords: antimicrobial and deodorant agents, marketing research, data base system

*¹ 大阪府立公衆衛生研究所

*² 大阪府環境保健部

Nakaoka, R., Tsuchiya, T., Kato, K.* and Nakamura, A.: Studies on tumor-promoting activity of polyethylene: inhibitory activity of metabolic cooperation on polyethylene surfaces is markedly decreased by surface modification with collagen but not with RGDS peptide

J. Biomed. Mater. Res., 35, 391-397(1997)

種々のタンパク質で表面修飾を行ったポリエチレンフィルムの発癌プロモーション活性を、細胞間連絡機能阻害活

性を指標として評価した。その結果、未修飾のフィルムでは細胞間連絡機能の阻害が認められたが、コラーゲンを修飾することによりその阻害は大きく抑制されることが認められた。しかしながら、細胞接着に関連するRGDSペプチドを表面修飾したフィルムでは、その阻害活性の低下は認められなかった。これらのことより、コラーゲン修飾による細胞間連絡機能阻害活性の抑制は、修飾によってポリエチレンフィルムの細胞接着性が改善されたためではなく、細胞間の認識がコラーゲン分子によって何らかの影響を受けたためであることが示唆された。

Keywords: tumor promotion, gap-junctional intercellular communication, collagen immobilization

* 京都大学生体医療工学研究センター

Nakaoka, R., Tabata, Y.*, Yamaoka, T.* and Ikada, Y.*: **Prolongation of the serum half-life period of superoxide dismutase by poly(ethylene glycol)modification**

J. Controlled Release, **46**, 253-261(1997)

種々の分子量をもつポリエチレングリコール(PEG)を用いて、種々の修飾率のPEG-スーパーオキシドディスクターゼ(SOD)結合体を調製した。これらの結合体の静脈投与後の体内動態をマウスを用いて検討したところ、PEG修飾により腎臓への分布が低下し血中半減期が増大することが認められた。また、血中半減期に関しては、用いたPEGの分子量および結合体のPEG修飾率にかかわらず、結合体分子の見かけの大きさに最も影響を受け、その半減期は同程度の大きさをもつPEG分子から予想できることが明らかとなった。

Keywords: poly(ethylene glycol), chemical modification, serum half-life period

* 京都大学生体医療工学研究センター

土屋利江: **高分子材料のin vitro発癌プロモーション活性**
高分子論文集, **55**, 314-322(1998)

高分子材料の発癌性評価方法を確立するために、*in vitro*試験系を導入し、材料に接着した細胞の癌化過程を明らかにした。ポリウレタンをモデル材料として検討し、弱い発癌イニシエーション作用と比較的強い発癌プロモーション作用が存在することを明らかにした。さらに、この発癌プロモーション作用には、細胞間連絡に重要なコネキシンの機能阻害が密接に関わっていること、また、この機能を阻害する強度が、材料の腫瘍原生強度と高い相関性があることを示した。

Keywords: connexin, tumor-promoting activities, biomaterials

Tsuchiya, T., Nakamura, A., Ohshima, Y., Kobayashi, E.*; Doi, H.*; Yoneyama, T.* and Hamanaka, H.*: **Chondrogenic cellular responses to titanium and zirconium alloy in vitro**

Tissue Engineering, **4**, 197-204(1998)

塩化チタンと塩化ジルコニウムをラット肢芽細胞培養系で試験した結果、塩化チタンの方が塩化ジルコニウムに比べて、軟骨分化を阻害した。純チタン、純ジルコニウム、チタンジルコニウム合金(1/1)のディスク上で肢芽細胞を培養した結果、純チタン金属上の細胞の軟骨分化が最も阻害された。一方、チタン金属上に被膜として存在する酸化チタンでは、そのような阻害作用は、我々の実験条件下ではほとんど認められなかった。従って、チタン金属では、細胞の腐食作用により、チタンイオンが溶出し、その結果軟骨分化が阻害されたものと考えられる。一方、チタン

ジルコニウム合金、純ジルコニウムでは耐食性が高いためにイオンの溶出少なくその結果、分化阻害が生じにくい事が明らかになった。

Keywords: chondrogenesis, titanium, zirconium

* 東京医科歯科大学・医用器材研究所

浜中人士*, 土屋利江: **生体材料としてのステンレス鋼とチタン合金**

ふえらむ, **2**, 508-514(1997)

ステンレス鋼とチタン合金の生体適合性について、問題点を明らかにした。ヒトに使用したステンレス鋼の腐食例を示した。ステンレス鋼の基本的組成であるFe-Cr系について、クロム含有量を段階的に変化させたCr-Fe合金の板を、動物に埋植した。4ヶ月後の血液、腎臓および肝臓中のCrイオン濃度を調べた結果、10-20%Crを含む合金で溶出しやすい傾向があることを示した。ステンレス鋼に比べて、チタン合金は耐食性が良く、生体適合性の優れた金属材料として期待できる。

Keywords: stainless steel, titanium alloy, biomaterials.

* 東京医科歯科大学・医用器材研究所

鹿庭正昭: **ゴムによる遅延型アレルギーの原因究明: 現状と今後の課題**

日本ラテックスアレルギー研究会会誌, **1(2)**, 10-18(1997)

1980年初めから、ゴムによる遅延型(IV型)アレルギーであるアレルギー性接触皮膚炎事例の原因究明に取り組んできた。すなわち、臨床皮膚科医が患者でのパッチテストを、毒性学者が実験動物での皮膚テストを実施するとの並行して、原因製品の化学分析を行うというシステムで、アレルギー性接触皮膚炎の原因究明の研究を進めてきた。その成果について、最近のゴムによる即時型(I型)アレルギーの話題等とともに、概説した。

Keywords: delayed type allergy, rubber, causative chemical investigation

入江和夫*, 前田典子*, 吉田啓子*, 鹿庭正昭: **学校、公園遊具から収集した塗膜中の鉛分析**

日本家政学会誌, **48(12)**, 1103-1109(1997)

中学校、小学校、幼稚園、保育園及び公園において塗膜を採取し、原子吸光光度法により鉛濃度を定量した。その結果、試料44点中42点が米国消費者製品安全委員会(CPSC)による基準である0.06%を越えていた。また、44点中34点が、1992年に鉛による健康被害防止のための目安値とされた0.5%を越えていた。以上のように、日本においても、子供たちの周辺に存在する鉛濃度は、いまなお健康影響が懸念されるレベルにあることを明らかにした。

Keywords: lead, paint, school

* 山口大学教育学部

Shintani, H.: **The use of two or more microorganisms versus one microorganism in the carrier materials for biological indicators**

Biomedical Instrumentation Technology, **31**, 387-390(1997)

製品上に存在する生育微生物数を国際規格(ISO)ではバイオバーデンと称している。一般的の製品に対する滅菌保証はバイオバーデン菌の死滅で確認する。バイオバーデン菌の存在は多菌種/同一担体の生物指標に相当する。しかしながらISO規格では同一担体に種々の菌体が混在すると菌の干渉で抵抗性が変化するという理由で1菌種/1担体

のみの生物指標が認められた。もし菌の間で干渉の可能性が考えられるとすれば1菌種/1担体のみの生物指標の抵抗性は多菌種/同一担体と同一であるバイオバーデンの滅菌保証の指標にはならないことになる。それゆえ干渉の有無を種々の菌株並びに滅菌方法も変え、培地も変化させて影響を調べた。その結果推察されたような菌体間の干渉に拠る菌の抵抗性の差は認められなかった。

Keywords: Biological indicator, Bioburden, Resistance interference

Shintani, H: Pretreatment and analysis of toxic compounds in body fluids

Polish J. Environm. Studies, **6**, 59-61(1997)

尿毒症に罹患すると血中に尿素等の尿毒症成分が蓄積するためそれらを除去する必要がある。その除去効果は血中尿素等を精度よく測定することによって行える。その目的のためには選択的な前処理法の開発が必要である。尿素は親水性の成分であるため、血中親水性成分との分離が必要である。そのために固相抽出、液一液抽出、限外ろ過などの前処理の効果を比較した。同時に尿素分析のため逆相高速液体クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー並びにミセル電気泳動での分離能を比較した。その結果、イオン交換樹脂による固相抽出と従来型のイオン交換クロマトグラフィーとの組合せが一番分離能がよかった。

Keywords: Urea, Ion exchange chromatography, Solid phase extraction

中村晃忠: 医療用具・機器のスタンダードと ISO

未来医学, **14**, 28-32(1998)

医療用具・機器の性能、安全性、品質の保証体系における各種スタンダードの意義と国際規格(ISO)との関連性について以下のように論述した:(1)医療用具スタンダードの必要性;(2)医療用具の多様性、国際化とISO;(3)国内事情と矛盾しない良質なISOの条件;(4)階層的な医療用具スタンダード作り;(5)ISOは国際戦略の場でもある;(6)国内体制整備の提言;(7)インターネット利用の提案。

Keywords: Standards of medical devices, ISO

Hayashi, Y. and Matsuda, R.: Measurement of uncertainty and discrimination limit in purity tests of drug quality

J. Pharm. Biomed. Anal., **15**, 697-708(1997)

濃度の異なる2つのサンプルを測定でどの程度精度よく区別できるかという問題を扱った。用いた分析機器の精度の濃度依存性が分かれれば、2つの濃度を区別できる確率を計算できることを理論的に示した。

Keywords: discrimination limit, precision, 1/f noise

Poe, R.B., Hayashi, Y. and Matsuda, R.: Precision-optimization of wavelengths in diode-array detection in separation science

Anal. Sci., **13**, 951-962(1997)

キャピラリー電気泳動における多波長検出では、ある波長(単独)または波長の組み合わせによって測定値の精度が変化する。この精度をそれぞれ波長のシグナル強度とベースラインノイズから予測する理論を導き、実測値と比較した。結果は良好であった。

Keywords: capillary electrophoresis, precision, 1/f noise

徳永裕司, 内野 正, 安藤正典: エチルパラベンを透過指標物質とする界面活性剤のモルモットの剥離皮膚への影響

香粧品科学会誌, **21**, 114-120(1997)

界面活性剤の皮膚に対する安全性あるいは経皮的な透過増強活性を研究するため、8種類のアニオン性、9種類のカチオン性及び12種類の非イオン性界面活性剤のモルモットの剥離皮膚に対する影響をFranz型拡散セル及び透過指標物質としてエチルパラベン(EP)を用いて検討した。Sodium dodecylsulfonate, cetyltrimethyl ammonium chloride, polyoxyethylene(20) sorbitan monolaurate及びpolyoxyethylene(10) oleyl etherはpositive controlのsodium dodecyl sulfateより大きなEPの皮膚透過速度を与えた。アニオン性界面活性剤の皮膚に対する影響は脂肪族炭化水素鎖の炭素数に依存し、炭素数12のものが最も大きな影響を与えた。この結果は、既に報告したメチルパラベンあるいはサリチル酸を透過指標物質に用いて検討した結果と一致していた。非イオン性界面活性剤の親水性親油性バランスとEPの透過速度の間には相関関係は観察されなかつた。

Keywords: ethylparaben, skin, surfactants

Natori, Y.*¹, Natori, Y.*¹, Nishimura, T., Yamabe, H.*², Iyonaga, K.*³, Takeya, M.*³ and Kawakami, M.*⁴: Production of monocyte chemoattractant protein-1 by cultured glomerular epithelial cells: Inhibition by dexamethasone *Exp. Nephrol.*, **5**, 318-322(1997)

糸球体腎炎の原因の一つは、糸球体上皮細胞が障害を受けた結果、サイトカインの働きにより单球親和性タンパク質(MCP-1)の合成が促進され、单球もしくはマクロファージの糸球体での通過不良が引き起こされるためであろうと考えられている。この推定を証明するために、单球親和性タンパク質の合成変化を培養糸球体上皮細胞を用いて調べた。糸球体上皮細胞をサイトカイン処理することによりmRNAの発現が見られ、デキサメザン処理により発現抑制がかかった。タンパク合成の変動もmRNAの変化と同様の結果となった。グルココルチコイドによる治療効果は、このタンパク質の生合成抑制の作用によるものと示唆される。

Keywords: chemokine, glomerular epithelial cell, monocyte

*¹ 国立国際医療センター研究所

*² 弘前大学医学部

*³ 熊本大学医学部

*⁴ 自治医科大学大宮医療センター

Hanioka, N., Jinno, H., Nishimura, T., Ando, M.: Changes in cytochrome P450 enzymes by 1,1-dichloroethylene in rat liver and kidney *Arch. Toxicol.*, **72**, 9-16(1997)

1,1-ジクロロエチレンの毒性発現機構を解明するための一環として、ラットに1,1-ジクロロエチレン(200, 400及び800 mg/kg)を1日1回4日間腹腔内投与し、シトクロムP450(肝臓及び腎臓)の変動について検討した。肝臓のテストステロン2a-ヒドロキシラーゼ活性及びCYP2C11レベルは、1,1-ジクロロエチレン(800 mg/kg)で有意に減少した。一方、腎臓のクロルゾキサゾン6-ヒドロキシラーゼ活性及びCYP2E1レベルは1,1-ジクロロエチレン(800 mg/kg)で有意に増加した。以上の結果より、1,1-ジクロロエチレンの毒性発現には、肝CYP2C11及び腎CYP2E1が関与している可能性が示唆された。

Keywords: 1,1-dichloroethylene, cytochrome P450

Hanioka, N., Jinno, H., Nishimura, T., Ando, M.: Changes in hepatic cytochrome P450 enzymes by cis- and trans-1,2-

dichloroethylene in rat*Xenobiotica*, **28**, 41-51(1998)

1,2-ジクロロエチレンの毒性発現機構を解明するための一環として、雌雄ラットに7.5 mmol/kg の cis-及び trans-1,2-ジクロロエチレンを1日1回4日間腹腔内投与し、肝シトクロムP450の変動について検討した。雄ラットのテストステロン2a-ヒドロキシラーゼ活性は、いずれの異性体でも有意に減少し、その活性は、対照群の53及び63%であった。抗ラットCYP2C11/6を用いたウエスタンブロッティングからもこれら化合物投与によるCYP2C11レベルの有意な減少が認められた。雄ラットのテストステロン6b-ヒドロキシラーゼ活性及びCYP3A2レベルは、cis-1,2-ジクロロエチレン投与でのみ有意に減少した。一方、1,2-ジクロロエチレンは、CYP1A2及びCYP2B2の酵素活性及びアポプロテインレベルを誘導し、雄ラットにおいて1,2-ジクロロエチレンによる肝シトクロムP450分子種の変動パターンは異性体により異なることが示唆された。しかし、雌ラットの肝シトクロムP450はいずれの異性体でも影響を受けなかった。以上の結果より、1,2-ジクロロエチレン毒性発現には、雄特異的P450分子種の変動が何らかの形で関与していることが示唆された。

Keywords: 1,2-dichloroethylenes, cytochrome P450

Jinno, H., Hanioka, N., Onodera, S.*¹, Nishimura, T. and Ando, M.: **Irgasan® DP 300 (5-chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy) phenol) induces cytochrome P450s and inhibits heme biosynthesis in rat hepatocytes cultured on Matrigel**
Xenobiotica, **27**, 681-692(1997)

典型的な2-クロロフェノキシフェノール(プレダイオキシン)化合物であるイルガサンDP300のラット肝細胞に対する影響を検討した。イルガサンDP300は肝細胞の7-ベンジルオキシレゾルフィンO-デベンジラーゼ活性及び7-ペントキシレゾルフィンO-デベンチラーゼ活性を顕著に誘導した。また、抗ラットCYP抗体を用いたウエスタンブロッティングでもCYP2B1/2タンパク質の増加が確認されたことから、イルガサンDP300はフェノバルビタール型のP450誘導物質であることが明らかになった。一方、イルガサンDP300は5-アミノレブリン酸存在下で肝細胞のウロポルフィリンI蓄積を引き起こした。ラット肝細胞質画分を用いた*in vitro*での実験から、イルガサンDP300はウロポルフィリノーゲンⅢシンターゼの阻害によってウロポルフィリンIを蓄積させることができた。

Keywords: rat hepatocytes, cytochrome P450, heme biosynthesis

* 東京理科大学薬学部

Jinno, H., Hanioka, N., Nishikawa, S.*¹, Yoda, R.*¹, Toyo'oka, T.*², Nishimura, T. and Ando, M.: **Hepatotoxicity of diisopropyl ester of malonic acid and chloromalonic acids, disinfection by-products of the fungicide isoprothiolane**
Arch. Toxicol., **71**, 550-555(1997)

殺菌剤イソプロチオランの塩素処理生成物であるマロン酸ジイソプロピル(DM), クロロマロン酸ジイソプロピル(DCM)及びジクロロマロン酸ジイソプロピル(DDCM)の細胞毒性を、マトリケル上で培養した肝細胞を用いて検討した。その結果、DCMとDDCMはエステラーゼによる加水分解で解毒されること、エステル型のDMとDDCMは脂質過酸化によって肝細胞死を引き起こすことが明らかになった。また、各種誘導剤で処理したラット肝ミクロゾームを用いた*in vitro*脂質過酸化の実験から、

DCMの代謝活性化にはデキサメサゾンで誘導されるP450分子種、恐らくCYP3Aが関与していることが示唆された。

Keywords: rat hepatocytes, cytochrome P450, lipid peroxidation¹ 共立薬科大学² 静岡県立大学薬学部

Jinno, H., Hanioka, N., Takahashi, A.*¹, Nishimura, T., Toyo'oka, T.*² and Ando, M.: **Comparative cytotoxicity of the aqueouschlorination products of thiobencarb, a thiocarbamate herbicide, in cultured rat hepatocytes**
Toxicol. in Vitro, **11**, 731-739(1997)

除草剤チオベンカーブ(TBC)の塩素処理生成物である4-クロロトルエン(CT), 4-クロロベンジルクロライド(CBC), 4-クロロベンジルアルコール(CBAL), 4-クロロベンズアルデヒド(CBAE)及び4-クロロ安息香酸(CBAD)の肝細胞毒性をチオベンカーブと比較した。その結果、24時間暴露のLC50は CBC < TBC < CT < CBAL, CBAE < CBADの順であり、CBC, BYC及びCBAEの肝細胞毒性には膜脂質の過酸化が関与している可能性が示唆された。また、これらの化合物の肝薬物代謝酵素に対する影響について検討した結果、CBADはCYP1A1依存性の7-エトキシレゾルフィンO-デエチラーゼ活性、CBAEはCYP2B1/2依存性の7-ペントキシレゾルフィンO-デベンチラーゼ活性を誘導することが明らかになった。

Keywords: rat hepatocytes, lipid peroxidation, cytochrome P450¹ (財)食品薬品安全センター秦野研究所² 静岡県立大学薬学部

Matsuda, R., Hayashi, Y., Sasaki, K., Saito, Y., Iwaki, K.*¹, Harakawa, H.*¹, Satoh, M.*¹, Ishizuki, Y.*² and Kato, T.*²: **Deductive Prediction of Precision in Measurement, Calibration and Standard Addition Method in Atomic Absorption Spectrometry for Cadmium**
Anal. Chem., **70**, 319-327(1997)

原子吸光法によるカドミウム分析値の標準偏差(SD)を、シグナルの揺らぎからFUMI理論を用いて予測した。予測したSDはくり返し分析により求めたSDの値とよく一致した。原子吸光分析値のSDは濃度の増加と共に直線的に増加することが明らかとなった。各濃度でのSDから、標準添加法における、添加デザインと得られた濃度の関係が計算できる。これを用いて、最も精度の高い添加方法を推定した。

Keywords: atomic absorption spectrometry, precision of measurement, standard addition method¹ Center of Technology Department, Ebara Research Co. Ltd.² Analytical Instruments Calibration Cooperative Society

石川雅章*, 松田りえ子, 林 譲, 佐々木久美子, 豊田正武: **高速液体クロマトグラフィーにおける検出下限の推定法の比較**

分析化学, **47**, 267-271(1998)

高速液体クロマトグラフィーにおける検出下限を求めるための以下の5種類の方法を比較した;(1)ベースライン揺らぎに基づく方法、(2)測定値の標準偏差に基づく方法、(3)測定値の相対標準偏差と濃度の関係に基づく方法、(4)検量線の残差分散に基づく方法、(5)ベースラインノイズの強度に基づく方法。5方法は同等の検出下限を与える。

た。(2)~(4)の方法はくり返し分析により空試験の標準偏差を推定する方法で、精密な推定のためには測定回数を多くする必要があり、全測定に長時間を要した。(5)の方法は空試験の標準偏差との理論的関係がない。(1)は理論的に空試験の標準偏差を予測する方法で、測定時間が短く、機器の日常管理に応用可能であった。

Keywords: limit of detection, FUMI theory

* Numadzu Health Center

Nemoto, S., Sasaki, K., Toyada, M. and Saito, Y.: **Effect of Extraction Conditions and Modifiers on the Supercritical Fluid Extraction of 88 Pesticides**

J. Chromatogr. Sci., **35**, 467-477(1997)

残留農薬の多成分分析に対する超臨界流体抽出(SFE: Supercritical Fluid Extraction)条件の影響について、珪藻土(セライト)を用いて、88農薬(有機素系農薬16、ピレスロイド系農薬8、有機リン系農薬33種、カーバメート系農薬12、その他19)について検討した。モディファイヤーを用いない場合には極性の高い農薬はセライトから十分に回収されなかつた。農薬の回収率を上げるには、検討したモディファイヤーのうち水の添加が最も効果的であった。また、メタノールも効果が見られたがこの場合には、添加によりカプタホール、キャプタン、ホスマット及びキノメチオネットの回収率の減少が見られた。検討により求めたセライト2gを用いた場合の最適なSFE条件は次の通り: モディファイヤーとして水4mL添加、CO₂密度0.70 g/mL、CO₂流速2.0 mL/分、抽出温度50°C、平衡化時間2分、抽出時間20分、トラップ温度30°C。今回求めたSFE条件におけるセライトからの農薬の回収率は79農薬で90%以上であり、残りの9農薬のうちアセフェート、メタミドフォス、プロバモカルブを除いた6農薬では70%以上であった。

Keywords: supercritical fluid extraction(SFE), pesticides, modifier

根本了、高附巧、松田りえ子、佐々木久美子、豊田正武: GC/MS(SIM)による魚介類中の重油関連汚染物の分析

食品衛生学雑誌, **39**, 31-38(1998)

魚介類中の重油関連汚染物の分析を実施した。重油汚染の指標として、7種のn-アルカンベンゾ(a)ピレン(B(a)P)等7種の多環芳香族炭化水素(PAH)及びジベンゾチオフエン(DBT)を選び、GC/MS(SIM)による系統分析法を確立した。検出限界は、n-アルカンは2~3 ppb、PAHは0.1~0.2 ppb、DBTは0.2 ppbであった。

本分析法を用いて、流出重油による汚染を受けていない魚介類のバックグラウンド調査を実施し、可食部から合計量でnd~531 ppbのn-アルカン及びnd~15.5 ppbのPAH(DBTを含む)を検出した。また、イカ及びホタテの内臓は可食部よりn-アルカン及びPAH濃度が高かった。

Keywords: fish, n-alkane, polycyclic aromatic hydrocarbon

Suzuki, T., Yamamoto, I.*¹, Yamada H.*², Kaniwa, N., Kondo, K. and Murayama, M.: **Accumulation, Metabolism, and Depuration of Organotin Compounds in the Marine Mussels *Mytilus grayanus* and *Mytilus edulis* under Natural Conditions**

J. Agric. Food Chem., **46**, 304-313(1998)

自然条件下、汚染の生物指標として用いられるイガイ *Mytilus grayanus*, *Mytilus edulis*について約60-70日間にわたりトリ-n-ブチルスズ(TBT)の蓄積、代謝、排泄につい

て調べた。低濃度汚染海域で採取した*M. grayanus*を高濃度に汚染した海域に移植し、逆に高濃度汚染海域で採取した*M. edulis*を低濃度汚染海域に移植した。この結果、*M. grayanus*は蓄積過程において10,500の濃縮係数を示した。*M. edulis*の主代謝物であるDi-n-butyl(3-oxobutyl)tinは減衰過程で親化合物のTBT(4.82日)よりも長い半減期(8.13日)を示した。一方、もう一つの代謝物di-n-butyl(3-hydroxybutyl)tinは短い半減期(3.98日)を示した。TBTとその代謝物の半減期の相違がサンプリング時のイガイの代謝パターンの相違として現れることが判明した。

Keywords: TBT, organotin, blue mussels

*¹ 北海道立衛生研究所

*² 水産庁中央水産研究所

Ueno, S.*¹, Suzuki, T., Susa N.*¹, Furukawa, Y.*¹ and Sugiyama, M.*²: **Effect of SKF-525A on liver metabolism and hepatotoxicity of tri- and dibutyltin compounds in mice**

Arch. Toxicol., **71**, 513-518(1997)

SKF-525Aで前処理したマウスにtri-n-butyltin chloride(TBTC)及びdi-n-butyltin dichloride(DBTC)を投与し、肝毒性を代謝との関連において検討した。SKF-525Aで前処理したマウスにTBTCを投与した時、肝のTBTCのレベルは4~10倍に増加し、脱ブチル化体、特にDBTCの量は3及び6時間後にコントロールの60及び37%となり、同時に24時間後の肝毒性を完全に阻止した。TBTC処理後、24時間後にはDBTCおよびその誘導体の量はSKF-525Aの処理の有無と無関係となり、48時間後に肝毒性を生じた。またDBTC処理群では、肝において95%以上がDBTCのまま存在しており肝毒性はSKF-525Aの前処理とは無関係に現れた。このことから肝毒性にはDBTCが関与していると考えられた。

Keywords: butyltin compounds, hepatotoxicity, Cytochrome P450

*¹ 北里大学獣医畜産学部

*² あすなろ薬品

近藤一成、穠山浩、合田幸広、豊田正武: **HPLCによるモロヘイヤ及びその加工品中の強心作用成分の分析**
食品衛生学雑誌, **38**, 412-417(1997)

健康食品として注目されているモロヘイヤとその加工品について、それらの安全性を確保する目的でストロファンチジンをアグリコンとする強心配糖体のHPLC分析法を検討した。モロヘイヤ及び数種加工品の強心配糖体含有量を調査した結果、種子には多量に含まれていた。莢には微量含まれるもの、茎や野菜モロヘイヤ、加工品である健康茶及び健康食品からは検出されなかった。

Keywords: *C. olitorius*, cardiac glycoside, HPLC

Yamada, M.*¹, Kato, Y.*¹, Nakamura, M.*¹, Yamada, T., Maitani, T. and Goda, Y.: **Structural determination of unknown subsidiary colors in Commercial Food Reds Nos. 2 and 102**

Chem. Pharm. Bull., **46**, 494-499(1998)

市販食用赤色102号及び2号中の主付随色素として、それぞれ色素A、B及び色素C、Dの単離を行った。各種機器分析の結果から、色素A、B、Cの構造を trisodium salt of 7-hydroxy-8-(6-sulfonaphthyl-2-azo)-1,3-naphthalene-disulfonic acid, disodium salt of 4-amino-3-(4-sulfonylphenyl-1-azo)-1-naphthalenesulfonic acid, trisodium salt of 3-hydroxy-4-(6-sulfonaphthyl-2-azo)-2,7-naphthalene-

disulfonic acid acid と決定した。色素 D は色素 B と同一化合物であった。

Keywords : Food Red No.102, Food Red No.2, subsidiary color

* 三栄源エフ・エフ・アイ(株)

合田幸広, 鈴木淳子, 米谷民雄: ベニバナ黄色色素の主色素成分の構造決定及び市販製品中の主色素成分含量
日食化誌, 4, 54-58(1997)

天然着色料ベニバナ黄色色素の主色素成分である safflomin A の構造は、従来報告されていた構造ではなく、hydroxy safflor yellow A と同じであることを、主に NMR と HPLC-フォトダイオードアレイの分析結果より明らかにした。また、HPLC による定量結果より、市販製品中の主色素成分は、safflomin A, B であり、両色素ともほぼ等モルずつ含まれていることを示した。

Keywords : safflower yellow, Carthamus tinctorius, hydroxysafflor yellow A

山田真記子*, 加藤喜昭*, 中村幹雄*, 山田 隆, 米谷民雄, 合田幸広: HPLC による市販食用赤色 2 号及び 102 号中の副成色素, 原料物質の実態調査
日食化誌, 4, 107-113(1997)

HPLC を用い、食用黄色 5 号中の副成色素、原料物質及び反応中間体の実態調査をおこなった。その結果市販色素は、副成色素の存在パターンで、すべての副成色素が少ないもの、副成色素 A が多いもの、副成色素 B が多いもの、どの副成色素も比較的多いが、とくに RS-SA が多いものの 4 つのタイプに分類されることが判った。

Keywords : Food Yellow No.5, Sunset Yellow FCF, HPLC

* 三栄源エフ・エフ・アイ(株)

合田幸広, 中村裕道, 坂元(佐々木)史歩, 石川恵子*, 米谷民雄, 山田 隆: トウガラシ色素成分の光安定性について
食衛誌, 38, 240-247(1997)

トウガラシ色素の主色素成分の lauroylmyristoyl-capsanthin (LM-CP) と capsanthin (CP) の光安定性について、パプリカ粉末中、市販色素溶液中、単体溶液中で比較した。25℃の条件下、4,000 Lux の光照射後、HPLC を用い経時に、両色素量を分析した結果、両色素ほぼ同様の安定性をもつことが明らかとなった。また、パプリカ粉末、市販色素溶液で観察された光照射初期の全トランス LM-CP の増加傾向は、シス異性体の構造変化の結果生じた可能性が高いことが判明した。溶媒を変えて実験を行った結果、溶液中の LM-CP 及び CP の安定性は、使用溶媒により大きく影響をうけることが判明した。

Keywords : esterified capsanthin, paprika color, photo-stability

* 千葉大園芸学部

Matufuji, H.*¹, Kusaka, T.*¹, Tukuda, M.*¹, Chino, M.*¹, Kato, Y.*², Nakamura, M.*², Goda, Y., Toyoda, M. and Takeda, M.*¹: Structural determination of subsidiary colors in commercial Food Blue No.1(Brilliant Blue FCF) product

J. Food Hyg. Soc. Japan, 39, 7-12(1998)

市販食用青色 1 号 (B1) に含まれる付随色素について、フォトダイオードアレイ検出 HPLC を用い分析したところ、5 つの付随色素の存在が確認された。それらの中で、比較的存在量の多い色素 C, D, E を分取し、単離した。

NMR 及び MS の分析結果より、C は、B1 のメタ位のスルホナト基がパラ位に置換した異性体、D は、スルホナト基がオルト位に置換した異性体、E は、スルホナトベンジル基が脱離した構造であることが判明した。

Keywords : Food Blue No.1, subsidiary color, Brilliant Blue FCF

*¹ 日本大学生物資源科学部

*² 三栄源エフ・エフ・アイ(株)

Akiyama, H., Chen D., Miyahara, M., Goda, Y. and Toyoda, M.: A rapid analysis of ochratoxin A in coffee beans and cereals

J. Food Hyg. Soc. Japan, 38, 406-411(1997)

コーヒー豆、米、大麦、小麦、とうもろこし中のオクラトキシン A の迅速でクロロホルムを使用しない分析法を開発した。食品試料からアセトニトリル-1%リン酸(9:1)でオクラトキシン A を抽出し、陰イオン交換前処理カラム(Bond Elut DEA カラム)でクリーンアップした。調整された試料溶液は蛍光検出高速液体クロマトグラフで測定した。HPLC 分析はカラムに Capcell Pak C8、移動相にアセトニトリル-水-酢酸(40:58:2)を用いて、蛍光検出により行った。食品試料における 10 ng/g と 50 ng/g における平均添加回収率は各々 93.9% ± 3.9%, 96.1% ± 3.5% であった。検出限界はコーヒー豆、米、大麦、小麦、とうもろこし試料で 0.05 ng/g であった。

Keywords : ochratoxin A, high-performance liquid chromatography (HPLC), solid-phase extraction

星野香織*, 稲山 浩, 合田幸広, 谷村顕雄*, 豊田正武: 3 種 *in vitro* 試験法による 10 種野菜抽出液の抗アレルギ活性評価について
食衛誌, 39, 72-77(1998)

ジュースに用いられる 10 種野菜のメタノール抽出物の HP-20 の 70% エタノール溶出画分について、3 種 *in vitro* 試験法(ラット腹腔肥満細胞及び RBL-2H3 細胞を用いたヒスタミン遊離抑制試験、ヒアルロニダーゼ阻害活性試験)による抗アレルギ活性評価を行った。その結果、キャベツ抽出液は 3 種の試験法で、トマト、アカキヤベツ及びクレソン抽出液は 2 種の試験法で 40% 以上の抑制活性を示すことが判明した。したがって、これら 4 種の野菜は、一連の I 型アレルギー反応において複数の作用点で抑制的に働くことが推定され、抗アレルギ機能を有する可能性が示唆された。

Keywords : antiallergic effect, rat basophilic leukemiacell, vegetable extract

* 昭和女子大学生活機構研究科

佐藤恭子, 永山暢子, 坂元(佐々木)史歩, 米谷民雄: ビートレッドの成分分析及び加熱実験

日本食品化学学会誌, 4, 120-125(1997)

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて市販ビートレッド 9 製品及びビート(Beta vulgaris LINNE)根水抽出液について、色素成分の分析を行った。市販色素及びビート根水抽出液の主色素成分はベタニンとイソベタニンであり、ベタニジンとイソベタニジンは検出されなかった。ビート根水抽出液のベタニンとイソベタニンの含量比は 4 : 1 であったが、市販色素では、すべてほぼ 1 : 1 であった。ベタニンとイソベタニンの含量和を JECFA 規格の赤色色素含量値と比べたところ、含量和(0.12~0.65%)は赤色色素含量(0.14~0.70%)の 67~95% に相当した。ベタニン溶液の加熱実験により、ベタニン脱炭酸体と考えられる

化合物及びいくつかの黄色分解物が生成した。ベタニン脱炭酸体と考えられる化合物は加熱処理したビートレッド試葉溶液においても検出された。また、市販色素製品の中には、ベタニン脱炭酸体を含むものがあった。

Keywords : beet red, betanin, degradation product

Kubota, H., Sato, K., Yamada, T., Maitani, T.: **Separation of respective species of phytochelatins and their desglycyl peptides(class III metallothioneins) and the precursors glutathione and γ -glutamylcysteine with capillary zone electrophoresis**

J. Chromatogr. A., **803**, 315-320(1998)

セイヨウアカネ培養根の培地中に金属を添加したときに誘導されるフィチケラチン(PC)類について、キャピラリーエキシブリオによる分離を試みた。従来のHPLCを用いた方法では、分析に約20分の時間を要し、グルタチオン(GSH)と γ -グルタミルシスティン(γ EC)を分離できないなどの問題点があったが、本分析法では、EDTAを添加することにより、各PC類を6分以下と短時間に分離、検出できた。さらに、GSHと γ ECについても良好な分離を示した。

Keywords : phytochelatin, capillary zone electrophoresis, Rubia tinctorum

Sugimoto, N., Goda, Y., Suzuki, J., Kuroyanagi, M.*, Yamada, T., Yoshihira, K. and Maitani, T.: **Structures of Minor Pigments in Cochineal Dye**

Nat. Med., **52**, 135-139(1998)

コチニール色素原料のコチニールカイガラムシ中の主色素成分カルミン酸の含量を求めた。また、微量色素成分の構造を傾斜磁場各種二次元NMR測定法により、desoxyerythrolaccin(1,3,6-trihydroxy-8-methylanthraquinone)、と新規化合物1,3-dihydroxy-8-methylanthraquinoneと確定した。

Keywords: *Coccus cacti* L., carminic acid, 1,3-dihydroxy-8-methylanthraquinone

* 静岡県立大学

河村葉子、辻 郁子、杉田たき子、山田 隆：**ステンレス製器具及び食器からの金属の溶出**

食品衛生学雑誌, **38**, 170-177(1997)

ステンレス製器具及び食器からの鉄、クロム、ニッケル、鉛及びカドミウムの溶出について検討を行った。鉄、クロム、ニッケルにおいては、溶出溶媒では水<4%酢酸<0.5%クエン酸、溶出条件では室温24時間<60℃30分間<95℃30分間<沸騰2時間の順に、溶出量が多くなった。市販及び使用中の器具及び食器について、4%酢酸で60℃または95℃30分間の溶出試験を行ったところ、新品では鉄50~1,110 ppb、クロム5~28 ppbの溶出が認められたが、使用中の製品では検出頻度、検出値ともに低く、繰り返しの使用により溶出量が低下するものと考えられた。また、鉛は使用中の製品1検体から検出されたが、25 ppbと微量であった。一方、カドミウム及びニッケルはいずれの製品からも検出されなかった。

Keywords : iron, chromium, nickel

河村葉子、渡辺一成、左山佳代、武田由比子、山田 隆：**GC/MSによるポリエチレン中のポリマー用添加剤の一斉分析法**

食品衛生学雑誌, **38**, 307-318(1997)

ポリエチレン製品中の酸化防止剤21種類、紫外線吸収剤

9種類、滑剤20種類及び可塑剤3種類の合計53種類の添加剤について、GC/MSによる一斉分析法を検討した。無極性のヒューズドシリカまたはステンレスキャピラリーカラム長さ5mを用い、50℃から300℃までの昇温分析を行った。また、できるだけ特異性の高いフラグメントイオンを用いることにより、ほぼすべての添加剤の分別定量が可能となった。回収率はDSTDP及びhexacosaneを除き、200 μ g/g添加で70.0~123.3%，1,000 μ g/g添加で72.4~127.0%と良好であった。また定量限界は50~500 μ g/gであった。さらに、市販のポリエチレン製品中の添加剤の残存について調査を行った。

Keywords : antioxidants, ultraviolet stabilizers, lubricants

河村葉子、杉本直樹、武田由比子、山田 隆：**食品用ポリスチレン製品に残存する未知物質の同定**

食品衛生学雑誌, **39**, 110-119(1998)

食品用ポリスチレン製品に頻出する未知物質群について、GC/MS及びNMRにより同定を行った。これらのうち13化合物は、1,3-diphenylpropane、スチレンダイマーである1,2-diphenylcyclobutaneのシス及びトランス体、2,4-diphenyl-1-butene、スチレントリマーである2,4,6-triphenyl-1-hexene、1-phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralinの異性体、triphenylcyclohexane、スチレンテトラマーである2,4,6,8-tetraphenyl-1-octeneの異性体、スチレンペントマーである2,4,6,8,10-pentaphenyl-1-deceneと確定または推定された。これらの化合物は、ポリスチレン製造工程における副生成物であり、その後の工程においても除去されることなく、最終製品中に残存したものと考えられる。

Keywords : polystyrene, styrene dimers, styrene trimers

Ishiwata, H., Nishijima, M.*¹, Fukasawa, Y.*², Ito, Y.*³, Yamada, T.: **Evaluation of the contents of antifungal agents allowed as food additives in foods and the daily intake deduced from the results of the official inspection in Japan in fiscal year 1994**

J. Food Hyg. Soc. Japan, **38**, 296-306(1997)

1994年度の全国の行政検査の結果を基に、食品添加物として指定されている防かび剤(ジフェニル、イマザリル、オルトフェニルフェノール、チアベンダゾール)の使用実態と推定摂取量を求めた。全検査件数は6,633検体であった。かんきつ類中の濃度は、使用基準の各々0.3%，12.2%，3.9%，9.5%であったバナナ(全果)中のイマザリルは0.2%，チアベンダゾールは0.2%，果肉中0.5%であった。1日摂取量は、全てのかんきつ類が皮ごと喫食されたとして、上記の順に、2.64, 8.77, 14.1, 34.5 μ g/人で、ADIの0.7%以下であった。摂取量に対する加工食品(マーマレード、ジャム)の寄与率はジフェニルの24.6%以外は2.1%以下であった。不検出試料中の濃度を検出限界値と仮定したときの摂取量はADIの0.8%であった。

Keywords : antifungal agent, content, daily intake

*¹ 東京都立衛生研究所

*² 山梨県衛生公害研究所

*³ 武庫川女子大学薬学部

Ishiwata, H., Kato C.*¹, Suigita, T., Kawasaki, Y., Yamada, T.: **Substitutive solvents for chloroform in the identification test for ergocalciferol and cholecalciferol in the Japanese Standards for Food Additives**

J. Food Hyg. Soc. Japan, **38**, 190-192(1997)

食品添加物公定書中のエルゴカルシフェロールとコレカルシフェロールの確認試験におけるクロロホルムの代替え

溶媒の検討を行った。ジエチルエーテル、酢酸エチル、n-ヘキサン、トルエン、キシレンのうち、トルエンを用いた場合に、発色時における色調の変化と発色強度はクロロホルムを使用したときに最も近い結果が得られた。また、無水酢酸の量を増加することにより、操作及び観察上の容易さが認められた。

Keywords: Japanese Standards for Food Additives, identification test for vitamin D, chloroform

* 麻布大学環境保健学部

Ishiwata, H., Nishijima, M.*¹, Fukasawa, Y.*², Ito, Y.*³, Yamada, T. : **Evaluation of preservative contents in foods and the daily intake deduced from the results of the official inspection in Japan in F.Y. 1994**

J. Food Hyg. Soc. Japan, **38**, 145-154(1997)

1994年度の全国の行政検査の結果を基に、保存料である安息香酸、デヒドロ酢酸、p-ヒドロキシ安息香酸エステル、プロピオン酸及びソルビン酸の使用実態と推定摂取量を求めた。検査検体数は72,606検体であった。使用が許可されている食品中の保存料の濃度は、使用基準の各々8.8%, 0.7%, 8.8%, 2.8%, 16.2%であった。1日摂取量は上記の順に、11.0, 0.0769, 1.37, 3.88, 32.9 mgで、ADIの5%以下であった。摂取量に対して最大の寄与率を占めた食品は、上記の保存料の順に清涼飲料水86.8%, 菓子55.7%, 醤油51.8%, パン87.0%, 魚肉練り製品28.3%であった。

Keywords: preservative, concentration, daily intake

*¹ 東京都立衛生研究所

*² 山梨県衛生公害研究所

*³ 武庫川女子大学薬学部

大田光恵*, 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*, 長谷川眞住*, 宮田昌弘*, 鎌倉和政*, 前田憲二*, 乙益道隆*, 石綿肇: GC/MSによるチュインガム中のBHA, BHT 及びTBHQの分析法

食品衛生学雑誌, **38**, 78-84(1997)

チュインガム中のブチルヒドロキシアニソール、ジブチルヒドロキシトルエン、ターシャリーブチルヒドロキノンについて、GC及びGC/MSによる一斉分析法を検討した。酸化防止剤をアセトニトリルで抽出し、溶媒留去後、酢酸エチルに溶解し試験溶液とした。抽出操作が簡易で、ガムベースの試験溶液への移行も抑制できた。試料中の濃度として100 ppmを添加したときの回収率はブチルヒドロキシアニソール及びジブチルヒドロキシトルエンで80%以上、ターシャリーブチルヒドロキノンで70%以上であった。検出限界はGCで1 ppm, GC/MSで0.1 ppmであった。

Keywords: antioxidant, chewing gum, GC/MS,

* 神戸検疫所輸入食品・検疫検査センター

Kurihara, M., Ishii, K., Kasahara, Y., Kameda, M., Pathak, A. K. and Miyata, N. : **Stereoselective epoxidation of acyclic allylic ethers using ketone-Oxone system**

Chem. Lett., 1015-1016(1997)

均一系溶媒中、ケトン-オキソ系を用いた鎖状アリルエテール化合物の立体選択性のエポキシ化反応を開発した。また、アリルエテールの構造と選択性の関係を明らかにした。

Keywords: dioxirane, stereoselective epoxidation, allylic ether

Miyata, N. and Yamakoshi, Y.: **Biological Actions of [60]Fullerene under Photoirradiation Conditions**

Recent Advances in the Chemistry and Physics of Fullerenes and Related Materials, **5**, 345-357(1997)

[60]フラーイは光増感作用があり、光照射下で効率良く活性酸素種を発生する。光起動した[60]フラーイの生物作用を調べ、ポリビニルピロリドン水溶化した[60]フラーイが、変異原性、脂質過酸化、8-OH-dGの生成やDNA鎖の切断などのDNA損傷作用を示すことを明らかにした。これらの生物作用の発現メカニズムについても解析を行った。

Keywords: fullerene, biological activity, photoexcitation

Yamakoshi, Y., Yamazaki, E., Sueyoshi, S. and Miyata, N. : **Hemolytic Effect of Photoexcited [60]Fullerene**

Recent Advances in the Chemistry and Physics of Fullerenes and Related Materials, **5**, 238-243(1997)

光照射下においてフラーイ類の生体膜への影響を調べる目的で、ウサギ赤血球を用いて溶血実験を行った。その結果、C₆₀, C₇₀とともに可視光の照射下でのみ濃度依存的に溶血が見られた。活性は還元剤の存在下で強められ、スーパーオキサイドの関与したType Iのメカニズムによるものと考えられた。

Keywords: fullerene, hemolysis, superoxide

Iwata, N.*¹, Mukai, T.*^{1,2}, Yamakoshi, Y., Hara, S.*¹, Yanase, T.*¹, Shoji, M.*², Endo, T.*^{1,2} and Miyata, N. : **Effect of C₆₀, a fullerene, on the activities of glutathione S-transferase and glutathione-related enzymes**

Fullerene Sci. Technol., **5**, 213-226(1998)

C₆₀がグルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST)活性やグルタチオン還元酵素活性等に及ぼす影響を解析し、C₆₀がエタクリン酸やフェニルブテノンを基質とするGST活性を阻害することを明らかにした。精製したGST-paiを用いた実験により、C₆₀によるGST阻害は基質であるエタクリン酸に対して非拮抗的であることが明らかになった。

Keywords: fullerene, glutathione S-transferase, enzyme inhibitor

*¹ 東京医科大学法医学

*² 東京都監察医務院

Nakajima, O., Hachisuka, A., Takagi, K., Yamazaki, T., Ikebuchi, H. and Sawada, J. : **Expression of opioid-binding cell adhesion molecule(OBCAM) and neurotramin(NTM) in *E. coli* and their reactivity with monoclonal anti-OBCAM antibody**

NeuroReport, **8**, 3005-3008(1997)

OBCAM(オピオイド結合性細胞接着分子), neurotramin, LAMP(辺縁系関連膜タンパク)は高い相容性を有することが報告された。我々が調製した抗OBCAMモノクローナル抗体OBC53のこれらのタンパクに対する反応特異性を調べて、OBC53がOBCAMを特異的に認識することを明らかにした。そして、OBC53はOBCAMの性質を検討する際に有用であることを示した。

Keywords: OBCAM, neurotramin, monoclonal antibody

Teshima, R., Saito, Y., Ikebuchi, H., Silva, N. R. J.*¹, Morita, Y.*¹, Nakanishi, M.*², Sawada, J. and Kitani, S.*¹: **Effect of an ectokinase inhibitor, K252b, on degranulation and Ca²⁺ signals of RBL-2H3 cells and human basophils.**

J. Immunol., **159**, 964-969(1997)

ラット好塩基球(RBL-2H3)細胞及び人好塩基球細胞からの脱颗粒反応におよぼすエクトキナーゼ阻害剤K252bの影響を調べたところ、IgE-受容体の架橋形成に伴う脱颗粒反応に対して用量依存的な抑制がみられ、IC₅₀は、それぞれ0.5 µg/ml, 1.5 µg/mlであった。K252bは、RBL-2H3細胞において、IgE-受容体架橋形成に伴う細胞内カルシウム濃度上昇抑制作用、及び130 kDaの細胞表面蛋白質リン酸化抑制作用を有していた。このことから、好塩基球細胞のIgE-受容体の架橋形成を伴う活性化過程においてエクトキナーゼの関与すること、また、エクトキナーゼによるリン酸化反応は、IgE-受容体の架橋形成に伴うカルシウム濃度上昇に関与している可能性が示された。

Keywords: ectokinase, degranulation, basophils

*¹ 東京大学医学部

*² 名古屋市立大学薬学部

Teshima, R., Akiyama, H., Goda, Y., Toyoda, M. and Sawada, J.: Simple spectrophotometric analysis of passive and active ear cutaneous anaphylaxis in the mouse

Toxicology Letters, 95, 109-115(1998)

BALB/cマウス耳介を用いる同種PCA(受動皮膚アナフィラキシー)試験並びにACA(能動皮膚アナフィラキシー)試験の定量的解析法を検討したところ、ハンディタイプ比色計を用いるin situ測定法が、定量法としてすぐれていることが判明した。

Keywords: PCA, ACA, spectrophotometric analysis

Matsuoka, M.*¹, Nomaguchi, H.*¹, Yukitake, H.*², Ohara, N.*², Matsumoto, S.*², Mise, K. and Yamada, T.*²: Inhibition of multiplication of *Mycobacterium leprae* in mouse food pads by immunization with ribosomal fraction and culture filtrate from *Mycobacterium bovis* BCG.

Vaccine, 15, 1214-1217(1997)

BCGから取ったリボソーム分画と培養液は共に癪菌のマウスのパッド感染を阻止した。本報告はBCG由来のリボソームや培養液が癪菌の増殖阻害をすることを示した最初の報告である。阻害は培養液のほうが顕著であった。

Keywords: *Mycobacterium leprae*, BCG, ribosomal fraction

*¹ 国立感染症研究所

*² 長崎大学歯学部

Tanamoto, K.: Production of nontoxic lipid A by chemical modification and its antagonistic effect on LPS action

Prog. Clin. Biol. Res., 397, 269-280(1998)

エンドトキシンリピドA構造の活性を支配する構造因子を化学合成リピドA類縁体を用いて解析した結果、完全構造体(サルモネラ、大腸菌型)リピドAの水酸基をサクシニル基、アセチル基で置換しても活性が全く変化しないが、前駆体構造はいずれの置換でも完全に失活しアンタゴニストに変換することから、非還元末端の水酸基の置換が活性型・アンタゴニス変換を支配していることを見出した。このことを直接証明するために大腸菌型リピドAの3'位の置換脂肪酸の水酸基のみをサクシニル基で置換した化合物を全合成し、この化合物が完全に無毒でアンタゴニスト活性を示した。

Keywords: endotoxin, antagonist, nontoxic lipid A

安住聰子、棚元憲一：桂皮由來の新規エンドトキシン活性抑制物質

エンドトキシン研究基礎と臨床, 1, 143-148(1998)

桂皮中に、植物としては初めてエンドトキシンを中和する物質を見出し、リムルス法を指標として精製を行いその性状を検討した。この物質によるエンドトキシンの抑制はエンドトキシン分子に直接作用することによりその作用を抑制するもので、活性強度は両者を混合する際の濃度と時間に依存した。抑制するエンドトキシンは由来する菌種に関係なくすべてのLPSに作用した。また、抑制作用はエンドトキシンのin vitroの活性のみならずin vivoのウサギ発熱活性に対しても強く認められた。

Keywords: cinnamon bark, endotoxin inhibitor, LPS

Miyahara, M., Nakamura, A.* and Mise, K.: Characterization of two Restriction Endonucleases, SenPT14bI and SenPT16I, in Standard Phage-Type Strains of *Salmonella Enteritidis*

Biol. Pharm. Bull., 20, 953-969(1997)

汚染された卵による食中毒で問題になる *Salmonella Enteritidis* ファージ標準株38株について制限酵素産生性を検討した。ファージタイプ14 bと16の標準株より制限酵素産生を検出した。それを精製して性質について検討した。ファージタイプ14 bから SacII そして16から XbaIII のアイソシゾマーを产生していることがわかったが、どちらも新型の制限酵素ではなかった。アメリカでは鶏舎の *Salmonella Enteritidis* 汚染が問題となっており、ファージタイプ8, 13と14 bの汚染が多くみられる。ファージタイプ標準株14 bが制限酵素を産生していることから、汚染源特定の手段の一つとして、制限酵素産生性の検討が考えられる。

Keywords: *Salmonella Enteritidis*, phage-type, restriction endonuclease

* 国立感染症研究所

尾上洋一*, 古川一郎*, 寺西 大*, 長谷川幸江*, 森 実*, 小沼博隆: 挽肉からの *Escherichia coli* O157:H7 の検出法の検討

食衛誌, 38, 185-189(1997)

食肉に汚染している *Escherichia coli* O157:H7 の検出を培養法およびIMS法(免疫磁気ビーズ)を組み合わせた有効な分離法の確立を目指して研究を行い以下の結果を得た。

1. 増菌培養の温度は37°Cより42°Cが有効であった。

2. *E. coli* O157:H7 分離平板培地は、SMACおよびSIB寒天培地比べ、CT-SMACとRainbow(ノボビオシン添加)寒天培地が優れていた。

3. 培養液を分離平板培地に直接画線塗抹する方法より、IMS法で集菌してから画線塗抹する方法が優れていた。

Keywords: mEC broth, CT-SMAC, Rainbow agar

* 神奈川県衛生研究所

Hara-Kudo, Y.*¹, Konuma, H., Iwaki, M.*¹, Kasuga, F.*¹, Ito, Y.*¹, Sugita-Konishi, Y.*¹, Kumagai, S.*²: Potential Hazard of Radish Sprouts as a Vehicle of *Escherichia coli* O157:H7

J. Food Protect., 60, 1125-1127(1997)

Escherichia coli O157:H7に汚染させたカイワレ大根種子を発芽させ可食状態まで水耕栽培したところ、茎部、葉部など可食部全体が本菌により汚染された。また、根つきのカイワレ大根の根部を本菌に汚染させても可食部全体が汚染された。

Keywords: *Escherichia coli* O157:H7, radish sprouts, hydroponic cultivation

* 国立感染症研究所

Ito, Y.*; Sugita-Konishi, Y.*; Kasuga, F.*; Iwaki, M.*; Hara-Kudo, Y.*; Saito, N.*; Noguchi, Y.*; Konuma, H.; Kumagai, S.: *Enterohemorrhagic Escherichia coli O157: H7 Present in Radish Sprouts*

Appl. Environ. Microbiol., **64**, 1532-1535(1998)

Escherichia coli O157:H7 に汚染させたカイワレ大根種子を発芽させ可食状態まで水耕栽培したカイワレ大根の葉部、茎部の表面および内部組織を蛍光顕微鏡および走査電子顕微鏡で調べたところ、カイワレ大根表面のみならず、内部組織まで本菌により汚染されていることをみいだした。

Keywords: *Escherichia coli* O157:H7, radish sprouts, immunofluorescence microscopy

* 国立感染症研究所

Sakai, A.: *Orthovanadate, an inhibitor of protein tyrosine phosphatases, acts more potently as a promoter than as an initiator in the BALB/3T3 cell transformation*

Carcinogenesis, **18**, 1395-1399(1997)

タンパク質の磷酸化と脱磷酸化は、細胞の情報伝達に重要である。ホルボールエステル類とオカダ酸は、それぞれプロテインキナーゼ C の活性化とプロテインホスファターゼ 1 と 2A の阻害によってタンパク質磷酸化を亢進する。これらの物質は、マウス皮膚の強力な発癌プロモーターであり、*in vitro* では細胞形質転換を促進する。オルトバナジン酸塩(OV)は、プロテインチロシンホスファターゼを阻害して細胞のタンパク質磷酸化を亢進する。そこで、OV が BALB/3T3 細胞 2段階形質転換に及ぼす影響を調べた。OV は、3-メチルコラントレン(MCA)による形質転換を顕著に促進した。OV には、弱いイニシエーション活性も認められたが、MCA と OV による処理の順序を逆にすると形質転換頻度が著しく減少したことから、OV の主要な作用は、プロモーション作用であると考えられる。MCA と OV によって一旦生じた形質転換フォーカスは、OV を含まない培地で増殖することが可能であった。OV は、TPA やオカダ酸に加えて、腫瘍プロモーションに関与する情報伝達カスケードを BALB/3T3 細胞を用いて研究する際に有用な物質であると考えられる。

Keywords: orthovanadate, transformation, promotion

大砂博之*, 池澤善郎*, 北村和子*, 大沢純子*, 小菅旬子, 高鳥浩介: 寝具類の真菌分布と布団洗濯による真菌除去効果

アレルギーの臨床, **17**, 542-545(1997)

アレルギー疾患の治療の基本はアレルゲンの除去であり、アトピー性皮膚炎(AD)においてもダニ・真菌および近年スーパー抗原として注目されている黄色ブドウ球菌の除去対策で軽快を得ることができる。その中でもダニが重視され、近年アレルギー疾患の増加と気密性の高い居住環境との関わりの指摘のなかで、家屋内、特に布団中のダニが研究対象として注目されてきた。一方環境中にはダニ以外のアレルゲンとして、真菌の存在も無視できない。そこで、我々は、洗濯可能な AD 患者布団について、まず真菌分布を調べ、その結果に基づいて洗濯前後の真菌数を測定し、洗濯が真菌除去に有効であるかを検証した。

Keywords: atopic dermatitis, fungi, bedclothes

* 横浜市大浦舟病院皮膚科

黄吉城, 高鳥浩介, 熊谷進¹, 高橋淳子²: 酸化電位水の殺真菌効果

防菌防黴, **25**, 387-391(1997)

酸化電位水の殺真菌効果を検討し、以下の結論をえた。

電気分解液(水溶液)の酸化電位水には、殺真菌効果認めたが、還元電位水では、殺真菌効果を認めなかった。酸化電位水の短時間処理による殺真菌効果は、広範な真菌に認められた。一部の抵抗性の強い真菌 8 種について CFU 測定を行ったところ、多くの供試真菌は、ほぼ 5 分前後で CFU 著しく減少し、10 分後に、ほとんど死滅した。しかし、*Chaetomium globosum* のみ、処理 2 時間でも、抵抗性を維持していた。酸化電位水中での有機物存在が殺真菌効果に、どの程度影響するかを確認したところ、著しく活性が低下した。

Keywords: oxidizing potential liquid, fungicidal activity

*¹ 国立感染症研究所

*² 財食品薬品安全センター秦野研究所

関沢 純: リスクコミュニケーションの目的と基本要件
化学物質と環境, No.27, 4-7(1998)

リスクコミュニケーションの考え方の歴史的、社会的な背景、意味するところと目的についてまとめた。さらにリスクの考え方、コミュニケーションの種々の形態と、現状における問題点を実例に沿って検討した。ついで化学物質のリスクコミュニケーションのあり方についていくつかの場面について調べ、また筆者が関係しているリスク評価とその過程におけるコミュニケーションについても考察した。最後に、違いの受け入れ、参加と協働、枠組みの構築、危機管理との関係についての課題を記した。

Keywords: Risk communication, Risk assessment and Transparency, Acceptance of difference

関沢 純: リスクコミュニケーション—今求められること
21世紀フォラム, **64**, 20-23(1998)

化学物質や立地に関する、あるいは社会的なリスク関連の最近の話題を引用し、なぜこのような事が起り、リスクのコミュニケーションにおいていかなる問題があつたかを分析した。その上でるべき姿を国内外の例や筆者が加わって研究を進めている成果を基に理論的に、また今後の課題については実例をひき、具体的に解明した。すなわち、(1)考え方の違いを認めつつ、共に考え行動する、(2)リスクコミュニケーション上の問題の所在と解決方向、(3)リスクコミュニケーションの枠組みの構築、(4)メディアの役割への期待に分けて、検討、提示した。

Keywords: Risk communication, Risk perception, Partnership

関沢 純: リスクコミュニケーション—これまでの問題と今後のあり方

リスクアセスメントとリスクマネジメント第 1 分冊総論、リスクアセスメント・システム調査報告書、平成 8 年度通商産業省委託研究、日本化学工業協会、331-343(1997)

リスクコミュニケーションにおけるこれまでの問題、米国研究評議会による問題提起と解決方向、リスク対応プロセスとコミュニケーション、リスクコミュニケーションのあり方について研究した結果を記述した。リスクコミュニケーションのあり方については、リスク評価システムにおける信頼性と透明性の確立、労働現場でのリスクコミュニケーション:標準化と教育による有効性の確保、化学品についての被害情報のフィードバックと教育による双方向性と有用性の確保、科学と心理の関係:多様性の理解と信頼関係の樹立、PRTR の背景と具体的対応について解明し提案した。

Keywords: Risk communication, Communication process, Transparency

関沢 純：“リスクアセスメントの実際「情報の検索と評価」、「化学物質のリスクアセスメント—現状と問題点一」，国立医薬品食品衛生研究所「化学物質のリスクアセスメント」編集委員会，薬業時報社，15-29(1997)

リスク評価における情報の位置づけと役割，データの質の評価と不確実性の扱い，評価結果の提示における問題点，情報の検索手法上の問題点と解決，情報の種類と情報源，評価済みデータの重要性，研究者間の情報交換と討論，インターネットの利用，リスク情報データベースの構築と活用について，検討した結果をまとめた。その結果に基づき，(1)評価の科学的根拠と判断プロセス，判断基準の公表，(2)リスク評価に関わる情報の専門家の養成と専門機関の必要，(3)情報の分散管理，情報のネットワークの活用と横断的な討論，協力関係の拡大，(4)国際協力による化学物質のリスク評価の推進と情報について，提案を行った。

Keywords: Risk assessment, Uncertainty, Credibility

関沢 純：“化学物質安全性情報整備”，“化学物質安全性情報提供機関一覧”，「化学物質と環境リスク」，環境庁リスク対策研究会監修，化学工業日報社刊，175-188，441-444(1997)

環境庁の研究班での研究成果を基に，化学物質と環境のリスクに対応するための情報の課題について，情報の体系的整備とネットワーク化，透明性と協調，情報の専門機関創設と専門家の養成の4点に整理してまとめた。取り組みの方策については，情報整備の方法について，情報ニーズの確認，ネットワークの利用，情報の寄託システムの構築と仕分け，評価済み情報の重要性の4項目について検討した。整備すべき情報については，物質情報，環境情報，住民情報，政策情報の4項目について検討した。コオディネーションの枠組みとアクセシビリティーについては，国際協力，途上国支援，省庁間の協力，自治体，業界，学会，NGOとの協力について検討した。最後に今後の重要課題を4項目にわたって提案した。

Keywords: Risk information, Network and accessibility, Information specialist

Trosko, JE.* and Inoue, T.: **Oxidative stress, signal transduction, and intercellular communication in radiation carcinogenesis**

Stem Cells, **15** (suppl.12), 59-67(1997)

生体に対する酸化的ストレスや，シグナル伝達の障害等について離間した細胞相互，接着した細胞相互，細胞内シグナル伝達の三つのレベルからキーとなる分子の役割を論じ，分子毒性学の将来像について展望を推論した。

Keywords: ageing, toxicity, oxidative stress

*Michigan State University

Inoue, T., Cronkite, EP.*¹, Hirabayashi, Y., Bullis, JE.*¹, Mitsui, H.*², Umemura, T.: **Lifetime treatment of mice with azidothymidine(AZT)produces myelodysplasia.**

Leukemia, **11** (Suppl.3), 123-127(1997)

アゾイドチミジン(AZT)は，ヒト獲得性免疫不全症候群ウイルス(HIV)を含むウイルスの複製を阻害するチミジン誘導体である。AZTの長期にわたる治療を受けたAIDS患者では，大細胞性貧血が見られること，AZTをマウスに反復投与すると脾重量が減少し，中等度の貧血と白血球減少を引き起こすことなどが報告されている。これはチミジンキナーゼによって三リン酸化物に変換されたAZTは，チミジンのかわりにゲノムDNAに挿入されると，リン酸水素結合が阻害されてDNA伸長反応を停止す

るので，造血前駆細胞の増殖が分化の初期段階で抑制されることによるものと理解されている。本論文では，AZTをマウスに長期投与したモデル動物を作成し，造血幹細胞動態の解析と病態の組織学的検索を行った結果，10匹中血小板減少を伴う9匹に骨髄異形成症候群(MDS)に一致する変化を認めたため，これらの病型の組織学的検索を，造血幹細胞数の変化などと併せて報告した。

Keywords: myelodysplasia, azidothymidine, hemopoietic stem cells

*¹ Brookhaven National Laboratory

*² 横浜市立大学医学部

Inoue, T., Hirabayashi, Y., Matsuda, M.*¹, Furuta, Y.*², Aizawa, S.*², Sasaki, H.*¹: **Model of MDS-like myelodysplasia that transforms into single lineage-hemopoietic malignancies upon transplantation implication for pediatric myelodysplastic syndrome.**

Int J Ped Hematol/Oncol., **4**, 221-230(1997)

骨髄異形成症候群(MDS)は造血器における前がん病変として位置づけられる疾患群である。SV-40 Large T遺伝子導入マウス(T-マウス)の遺伝的背景をC57BL/6Jと交配したところ，このMDS状態が再現性よく生じるモデル動物となった。さらに，このマウス骨髄細胞を別の正常マウスに移植する骨髄移植アッセイ系を用いることで，MDS状態から白血病へと遷移させることに成功し，その解析結果を報告した。

Keywords: myelodysplasia, transplantation assay, hemopoietic stem cells

*¹ 横浜市立大学医学部

*² 熊本大学

Hanzawa, C.*¹, Kobayashi, K.*¹, Hirabayashi, Y., Inoue, T., Aizawa, S.*², Adachi, K.*¹: **Hair follicle dermal papilla cell lines from p53-knockout mice.**

J Dermatol Sci., **15**, 59-63(1997)

P53遺伝子欠失マウスの毛根のdermal papilla細胞を培養して株化に成功し，このものの細胞動態を含む性状についての解析結果を報告した。

Keywords: p53-knockout mice, Hair follicle, cell line

*¹ 資生堂

*² 熊本大学

Hirabayashi, Y., Matsuda, M.*¹, Matsumura, T.*², Mitsui, H.*¹, Sasaki, H.*¹, Tukada, T.*³, Aizawa, S.*³, Yoshida, K.*⁴ and Inoue, T.: **The p53-deficient hemopoietic stem cells: their resistance to radiation-apoptosis, but lasted transiently.**

Leukemia, **11** (Suppl.3), 489-492(1997)

P53遺伝子産物はDNA障害を感じて発現し，障害を受けた細胞を主にG1期で細胞回転を止める。その結果，細胞は損傷を修復するか，修復できなければアポトーシスへ陥るとされる。このP53遺伝子を欠失した造血幹細胞は，見かけ放射線に抵抗性を示すようになる。ところが，P53遺伝子欠失骨髄細胞由来の脾コロニーは，正常対照に比べてtunnel陽性細胞を含むものの比率が高いことがわかり，P53欠失によってアポトーシスを一度は回避する結果コロニーを形成するものの，何らかのシグナル経路によって最終的にはアポトーシスに陥ることが示された。

Keywords: hemopoietic stem cells, radiation sensitivity, p53-knockout mice

*¹ 横浜市立大学医学部

*² 防衛医科大学校

*³ 熊本大学

*⁴ 放射線医学総合研究所

Nishijima, I.*, Nakahata, T.*, Watanabe, S.*, Tsuji, K.*, Tanaka, I.*, Hirabayashi, Y., Inoue, T. and Arai, K.*: **Hematopoietic and lymphopoietic responses in human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) receptor transgenic mice injected with human GM-CSF.**

Blood, 90, 1031-1038(1997)

ヒト GM-CSF 受容体遺伝子導入マウスでは、当該リガンド添加培養にて種々の造血前駆細胞由来のコロニー形成を観察したことから、人為的に導入した受容体遺伝子産物は機能的に作用することが示唆された。そこで、本論文では、*in vivo* でリガンドを投与した場合の造血細胞及びリンパ系細胞の反応性を解析し、これまで *in vitro* 系で明らかにされてきたこととの異同を検討した。

Keywords: hemopoietic stem cells, hGM-CSF-receptor transgenic mice, hemopoiesis

* 東大医科学研究所

Yoshida, K.*, Inoue, T., Nojima, K.*, Hirabayashi, Y. and Sado, T.*: **Calorie restriction reduces the incidence of myeloid leukemia induced by a single whole-body radiation in C3H/He mice.**

Proc Natl Acad Sci USA, 94, 2615-2619(1997)

食餌制限、特にカロリー制限によって固形がんの発がん頻度が減少することは現象論としては100年以上前から記載がみられる。しかしながらこの論文は、放射線誘発骨髄性白血病についてもこれを適用し、発症の遅延のみならず、発症頻度の大変な低下を証明した最初の論文である。さらに、カロリー制限をする時期を誘発照射前からにするか、照射後から開始するかによって、造血幹細胞数と発がん頻度との間の相関関係を明らかにするなど、機構の検討を行った。

Keywords: calorie restriction, radiation leukemogenesis, extent of lifespan

* 放射線医学総合研究所

Yoshida, K.*, Inoue, T., Hirabayashi, Y., Matsumura, T.* Nomoto, K.* Sado, T.*: **Radiation-induced myeloid leukemia in mice under calorie restriction**

Leukemia, 11 (Suppl.3), 410-412(1997)

食餌制限、特にカロリー制限によって固形がんの発がん頻度が減少することは現象論としては100年以上前から記載がみられるが、筆者らは、放射線誘発骨髄性白血病についてもこれを適用し、発症の遅延のみならず、発症頻度の大変な低下を証明した。本論文では、この事象の機構として、造血幹細胞数や培養性造血幹細胞数に与えるカロリー制限の影響について報告した。

Keywords: calorie restriction, radiation leukemogenesis, myeloid leukemia

* 放射線医学総合研究所

Nishimura, Y.*¹, Hirabayashi, Y., Matuszaki, Y.*², Musette, P.*², Ishii, A.*³, Nakauchi, H.*², Inoue, T. and Yonehara, S.*⁴: **In vivo analysis of Fas antigen-mediated apoptosis: Effects of agonistic anti-mouse Fas monoclonal antibody on thymus, spleen, and liver.**

Int Immunol, 19, 307-316(1997)

Fas 抗原は細胞表面の受容体蛋白でアポトーシス誘導シグナルを伝達する。このものの *in vivo* での機能を解析することを目的として、作用性の Fas 抗体を作成したところ、作用の異なる 2 種類の抗体 RK-8 と Jo2 とを得た。このうち RK-8 は *in vivo* (胸腺、脾臓、肝臓) でも *in vitro* (CD4 陽性細胞) でもアポトーシスを誘導するのに成体マウスを殺さない。他方 Jo2 では、*in vivo* 投与によってマウスが直ちに死に至る。ただし、RK-8 でも 1 週齢のマウスに投与すると死亡する。以上より、*in vivo* で死のシグナルを伝える機能的な Fas は、胸腺細胞、CD4 陽性脾細胞、肝細胞(成体では、僅かに、新生仔では大量)に発現していることを明かにした。

Keywords: apoptosis, anti-Fas antigen, *in vivo* analysis

*¹ 日本タバコ産業(株)基礎医薬研究所

*² 筑波大学免疫学講座

*³ 東京都臨床研

*⁴ 京都大学ウイルス研究所

Sasaki, H.*¹, Matsuda, M.*¹, Lu, Y.*¹, Ikuta, K.*¹, Matuyama, S.*¹, Hirabayashi, Y., Mitsui, H.*¹, Matsumura, T.*¹, Muramatsu, M.*², Tsukada, T.*³, Aizawa, S.*³ and Inoue, T.: **A fraction unresponsive to growth inhibition by TGF-β among the high-proliferative potential progenitor cells in bone marrow of p53-deficient mice.**

Leukemia, 11, 239-244(1997)

血液前駆細胞レベルにおいて TGF-β の抑制が認められることを初めて示した。更に、p53 と TGF-β のそれぞれのシグナル伝達経路が重なり合うことを p53 欠失マウスを用いた、高増殖性造血前駆細胞の解析により示した。

Keywords: p53-deficient mice, TGF-β, high-proliferative potential progenitor cells

*¹ 横浜市立大学医学部

*² 東京大学医科学研究所

*³ 熊本大学附属遺伝発生医学研究施設

Nishimura-Morita, Y.*¹, Nose, M.*², Inoue, T. and Yonehara, S.*³: **Amelioration of systemic autoimmune disease by the stimulation of apoptosis-promoting receptor or with anti-Fas mAb.**

Int Immunol, 19, 307-316(1997)

作成した抗 Fas 抗体のうち、全身投与によって劇症肝炎を引き起こすことのない抗体を単回投与することで、自己免疫疾患のモデル動物である MRL-gld/gld マウスの種々の病態を回避することを明らかとし、自己免疫疾患治療の可能性を示唆する結果を得ることが出来た。

Keywords: apoptosis, Fas, anti-Fas antigen

*¹ 日本タバコ産業(株)基礎医薬研究所

*² 東北大学医学部

*³ 京都大学ウイルス研究所

Minegishi, K., Suzuki, S., Kaneko, T., Inoue, T. and Takahashi, A.: **Distribution, Accumulation and Excretion of N, N'-Dimonomethylphenyl-p-phenylenediamine in the 2 Year Feeding Test in Rats**

Jpn J Toxicol Environ Health, 43(6), 336-347(1997)

雌雄 F344 ラットへ DMPD を 3 用量(0.004%, 0.02%, 0.1% 混餌)で投与し、6 ヶ月、12 ヶ月、18 ヶ月及び 24 ヶ月の解剖時に、肝臓、腎臓、脾臓、脂肪組織、血液及び糞・尿について GS-MS の SIM モードで DMPD 及び酸化代謝

物を定量した。25ヶ月投与後1ヶ月の休薬期間をおいた回復試験も行った。その結果DMPDは主として糞中へ排泄され、尿中への排泄はごく微量であった。脂肪組織への著しい蓄積が認められたが、1ヶ月間の休薬回復試験でDMPDの脂肪組織からの著しい消失が認められた。

Keywords: N, N'-dimonomethylphenyl-p-phenylenediamine, 2 year feeding, distribution.

Umemura, T., Takada, K., Schulz, C.*¹, Gebhardt, R.*¹, Kurokawa, Y. and Williams, G. M.*²: **Cell proliferation in the livers of male mice and rats exposed to the carcinogen p-dichlorobenzene; evidence for thresholds**

Drug Chem Toxicol 21, 57-66(1998)

雄5週令のB6C3F1マウスおよびF344ラットにマウス肝発がん剤のパラジクロロベンゼン(pDCB)をそれぞれ600, 300, 150および300, 150, 75 mg/kgの用量で4週間強制経口投与し、肝細胞のBrdU標識率およびグルタミン合成酵素発現肝細胞(GS⁺)への影響について検討した。その結果、マウスのBrdU標識率は高用量で対照群に比べて投与1週目で16倍、4週目で4倍と上昇した。中用量では1週目で有意な上昇が観察されたが、低用量では観察期間中変化は認められなかった。ラットでは、高および中用量で1週目に有意な上昇が認められたが、4週目では対照群と差は認められなかった。GS⁺の占める面積への影響は1週目では認められなかったが、マウスの4週目で有意な減少が認められた。以上のことから、マウス肝細胞の持続的細胞増殖活性の上昇がpDCBマウス肝発がん過程に関与していることが示唆された。また、低用量(発がん用量の1/4)ではマウス肝細胞に持続的細胞増殖が認められなかつたことからpDCB肝発がん機構における閾値の存在が予想された。

Keywords: p-dichlorobenzene, cell proliferation, threshold

*¹ Universitat Tubingen, Germany

*² American Health Foundation, USA

Umemura, T., Takagi, A., Sai, K., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: **Oxidative DNA damage and cell proliferation in kidneys of male and female rats during 13-weeks exposure to potassium bromate(KBrO₃)**

Arch Toxicol, 72, 264-269(1998)

雌雄5週令のF344ラットに臭素酸カリウム(KBrO₃)を500 ppmの濃度で飲水に混じて13週間投与した。投与開始後1, 2, 3, 4および13週目に動物を解剖し、腎臓DNA中の8-ハイドロキシデオキシグアノシン(8-OHdG)量、近位曲部、直部および遠位尿細管上皮細胞のBrdU標識率を検討した。さらにα2u-globulinの沈着を免疫染色により検索した。雄では、投与1週間目より8-OHdGレベルおよび近位曲部尿細管上皮のBrdU標識率が有意に上昇し、その変化は13週目においても顕著に認められた。また、近位尿細管へのα2u-globulinの沈着が実験期間を通じて観察された。一方、雌においては、投与3週目より8-OHdGレベルの上昇が観察され、BrdU標識率の上昇は投与13週目において認められた。以上の結果から、KBrO₃の腎発がん過程に持続的な酸化的DNA損傷が関与していることが示唆された。また、雄におけるKBrO₃発がん感受性の高さは、雄に特有なα2u-globulin沈着による細胞増殖誘導のみならず、酸化的ストレスに対する感受性の違いも寄与している可能性が示された。

Keywords: potassium bromate, 8-hydroxydeoxyguanosine, cell proliferation

Minegishi, K., Suzuki, S., Kaneko, T., Inoue, T. and Takahashi, A.: **Metabolic Fate of N-N'-Dimonomethylphenyl-p-phenylenediamine(DMPD) in a 2 Year Feeding Test**

Jpn J Toxicol Environ Health, 44, P-37(1998)

DMPDは脂肪組織への著しい蓄積が認められた。特に18ヶ月から24ヶ月の間頗著であった。雌が雄より高い蓄積性を示した。

Kawasaki, Y., Umemura, T., Saito, M., Momma, J., Matsushima, Y., Sekiguchi, H., Matsumoto, M., Sakemi, K., Isama, K., Inoue, T., Kurokawa, Y. and Tsuda, M.: **Toxicity study of a rubber antioxidant, 2-Mercaptobenzimidazole, by repeated oral administration to rats**

J Toxicol Sci., 23, 53-68(1998)

ゴム老化防止剤2-Mercaptobenzimidazoleをラットに28日間投与し、毒性を検討した。反復経口投与により、著しい甲状腺肥大を伴った甲状腺機能の低下が明らかとなった。

Keywords: 2-Mercaptobenzimidazole, rats, gavage administration

Hirabayashi, Y., Matsumura, T.*¹, Matsuda, M.*², Kuramoto, K.*³, Motoyoshi, K.*¹, Yoshida, K.*⁴, Sasaki, H.*² and Inoue, T.: **Cell kinetics of hemopoietic colony-forming units in spleen(CFU-S) in young and old mice**

Mechanisms of Ageing and Development, 101, 221-231(1998)

プロモテオキシリジンを取り込んだ細胞が近紫外線に感受性になることを利用した*in vivo*造血幹細胞動態解析法(BUUV法)を新たに開発した。この方法を用いて加齢個体の造血幹細胞動態を若年個体のそれと比較した結果、分化型の幹細胞に大きな差異を認めなかつたが、より未分化な幹細胞では予備力低下を説明し得る結果を得ることが出来た。

Keywords: hemopoietic stem cell, cell cycle, bromodeoxyuridine

*¹ 防衛医科大学校医学部

*² 横浜市立大学医学部

*³ 東京都老人医学研究所

*⁴ 放射線医学総合研究所

Uchida, K.*¹, Tanaka, H.*¹, Namba, M.*¹, Sunagawa, M.*¹, Ohno, Y. and Kamikawa, Y.*²: **Mechanical reactivity of the human isolated distal colon to electrical stimulation and spasmogens**

Dokkyo Journal of Medical Sciences, 24, 91-98(1997)

電気刺激による神経を介した収縮及び平滑筋収縮薬による作用をヒトの遠位結腸を用いて検討した。電気刺激による収縮はアトロピンやテトロドトキシンにより抑制され、コリン作動性神経を介した作用によることが判明した。またアセチルコリン、カルバコール、ヒスタミン、ニューロキニンの作用を結腸の縦走筋及び輪走筋で検討し、結腸が興奮性神経により主に支配されていること及び収縮応答が収縮薬により異なることを示した。

Keywords: human colon, cholinergic nerve, spasmogen

* 獨協医科大学

Uchida, K.*¹, Nagai, S.*¹, Shimada, K.*¹, Ohno Y. and Kamikawa, Y.*²: **A novel neuropeptide, human-galanin inhibits cholinergic neurotransmission of the human isolated bronchi in a species-specific manner**

Dokkyo Journal of Medical Sciences, 24, 99-107(1997)

新規に分離された神経ペプチドであるガラニンの作用をヒト区域気管支を用いて検討した。ヒト型ガラニンは低頻度電気刺激時のコリン作動性収縮を抑制したことから、ガラニンが内因性のアセチルコリンの神経からの遊離を抑制することにより作用することを明らかにした。

Keywords: human bronchi, galanin, cholinergic nerve

* 獨協医科大学

Khan, M. F.*¹, Ohno, Y., Guo, X., Takanaka, A., and Sorenson, J. R. J.*²: **Chemical modulation of glutathione concentration with tetrakis-M-3,5-diisopropylsalicylato-diaquodiacopper(II): 1. oxidation of glutathione in vitro** *Gomal Univ. J. Res.*, 13, 173-185(1993) Printed in Dec. 1996.

o-phthalaldehyde を用いた蛍光法による GSH の測定を tetrakis-M-3,5-diisopropylsalicylato-diaquodiacopper(II) が妨害した。これはこの薬物が GSH を酸化し GSSG に変えることによることを HPLC による分析により明らかにした。なお、この酸化は EDTA により抑制された。2 個の銅イオン存在は GSH の定量を妨害する可能性がある。

Keywords: GSH, analysis, tetrakis-M-3,5-diisopropylsalicylato-diaquodiacopper(II)

*¹ Gomal University

*² University of Arkansas for Medical Sciences

Uneyama, H.*¹, Takahara, A.*¹, Uchida, H.*¹, Yoshimoto, R.*¹, Inoue, K. and Akaike, N.*²: **Blockade by cilnidipine (FRC-8653) of N-type Ca²⁺ current in acutely dissociated rat sympathetic neurones**

Br.J. Pharmacol., 122, 37-42(1997)

交換神経節ニューロンを用い、Ca 拮抗薬の一般的な副作用反射性頻脈のない新規 Ca 拮抗薬シルニジピンのメカニズムと中枢神経系への作用の可能性に関し検討した。その結果、シルニジピンが L 型と同様、N 型 Ca チャンネルをも著明に抑制することが明らかになった。N 型 Ca チャンネルは中枢神経系及び末梢神経系に多く分布し、種々の神経伝達物質の伝達を制御している。特に、交感神経節後細胞からのノルエピネフリン放出に必要な Ca 流入は最終的に N 型 Ca チャンネルの開口に依存している。シルニジピンはその N 型 Ca チャンネル拮抗作用により、交感神経終末からのノルエピネフリン放出を抑制し、血中ノルエピネフリン濃度を調節し、交感神経の緊張が関与した高血圧病態に対して望ましい効果を發揮する可能性が期待できる。

Keywords: cilnidipine, N-type Ca²⁺ current, sympathetic neurones

*¹ 味の素(株)

*² 九州大学医学部

Koizumi, S. and Inoue, K.: **Inhibition by ATP of calcium oscillations in cultured rat hippocampal neurons**

Br.J. Pharmacol., 122, 51-58(1997)

培養ラット海馬神経細胞はおよそ培養 7 から 10 日目で神経回路網を形成し、特徴的な細胞内カルシウムオシレーションを示すようになる。このオシレーションは、Na チャンネル阻害剤テトロドキシンや外液からカルシウムを除去することにより、またグルタミン酸受容体ブロッカー、APV(グルタミン酸 NMDA 受容体ブロッカー)や CNQX (nonNMDA 受容体ブロッカー)により消失することから、グルタミン酸を介したシナプス伝達と考えられた。これは工藤らの報告と一致した。このオシレーションを ATP は

10 nM という非常に低い濃度から 100 μM まで濃度依存的に抑制した。この作用は、アデノシン受容体ブロッカーでは抑制されず、またアデノシンを生成しない UTP によつても同様な作用が認められることから、アデノシン受容体を介するものとは明らかに異なることがわかった。実際に培養海馬組織からのグルタミン酸放出を測定したところ、ATP は自発性および刺激性グルタミン酸放出を抑制した。

Keywords: ATP, calcium oscillation, cultured rat hippocampal neurons

Inoue, K., Nakajima, K.*¹, Morimoto, T.*¹, Kikuchi, Y.*¹, Koizumi, S., Illes, P.*² and Kohsaka, S.*¹: **ATP stimulates Ca²⁺-dependent plasminogen release from cultured microglia**

Br.J. Pharmacol., 123, 1304-1310(1998)

これまでミクログリアからプラスミノーゲンが放出され脳神経系の修復に寄与していることはわかっていたが、それがなにによって放出されるのかは、そのメカニズムとともに明らかにされていなかった。今回、ミクログリア精製分離培養法により得た細胞を用いて、ATP 刺激によるプラスミノーゲン放出作用を検討した。ATP は 10 μM から濃度依存的に、また細胞内カルシウム濃度依存的にプラスミノーゲン放出を引き起こすことが明らかになった。P2X7 特異的アゴニスト BzATP によっても同様な作用が認められ、ATP の作用は P2X7 ブロッカー oxdizedATP によって抑制されたことから、ATP の作用に主として関与する受容体はイオンチャネル型 ATP 受容体サブタイプの一つである P2X7 であることが推測された。

Keywords: ATP, Ca²⁺-dependent plasminogen release, cultured microglia

*¹ 国立精神神経研究センター神経研究所

*² ドイツライプツィッヒ大学医学部

Wirkner, K.*¹, Franke, H.*¹, Inoue, K. and Illes, P.*²: **Differential age-dependent expression of α2 adrenoceptor- and P2 purinoceptor-functions in rat locus coeruleus neurons**

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 357, 186-189 (1998)

青斑核神経(locus coeruleus neurons)はノルアドレナリン神経系の起始核として広く知られている。ここにアドレナリンα2受容体とともに ATP 受容体が発現しており、両者はともに青斑核神経の機能の調節を行っていることはすでに著者らは報告してある。今回は、発生から分化・成長に伴い、それぞれの受容体が異なるタイミングで発現パターンを呈することを電気生理学的に明らかにした。その結果、α2受容体は生後すぐに発現しているが、一方の ATP 受容体は生後まもなくは発現していない、およそ出生後 18 日目以降から発現し始め、青斑核の機能制御に関与することが推察された。

Keywords: α2 adrenoceptor, P2 purinoceptor, rat locus coeruleus neurons

*¹ ドイツライプツィッヒ大学医学部

Koizumi, S. and Inoue, K.: **Functional coupling of secretion and capacitative calcium entry in PC12 cells**

BBRC, 244, 293-297(1998)

ラット褐色細胞種由来 PC 12 細胞を用いて、容量性カルシウム流入(capacitative calcium entry)とドバミン放出について検討した。すでに我々は G 蛋白共役型 ATP 受容体(P2Y2)刺激により、IP3 系が活性化され細胞内カルシウム

ム動員により細胞内カルシウムが上昇するが、この上昇によってはドパミン放出は引き起こされず、カルシウム動員とともに引き起こされる容量性カルシウム流入によってのみドパミン放出が引き起こされることを明らかにした。すなわち IICR による容量性カルシウム流入と神経伝達物質放出について明らかにすることが出来た。今回は、リアノジン受容体感受性カルシウムプール刺激により容量性カルシウム流入が引き起こされること、そしてこれによりドパミン放出が引き続くことを報告する。すなわち、CICR による容量性カルシウム流入と神経伝達物質放出の関係について明らかにした。

Keywords: secretion, capacitative calcium entry, PC12 cells

Koizumi, S., Uneyama, H.*¹, Ikeda, M., Ueno, S. and Inoue, K.: **Inhibition by imipramine of ATP-evoked responses in rat pheochromocytoma cells**

BBRC, **244**, 342-346(1998)

ラット褐色細胞種由来 PC12 細胞を用いて、ATP 受容体刺激により引き起こされる内向き電流とドパミン放出に対する感情障害改善薬(抗うつ薬)イミプラミンの作用について検討した。イミプラミン(1-300 μM)は ATP 誘発内向き電流とドパミン放出を濃度依存的に抑制した。うつ病の発症起因は未だに明らかではない。セロトニンやカテコールアミンとの関与は古くから示唆されているがうつ病のメカニズムを単独で説明するには至っていない。おそらく多くの神経伝達物質が複雑に絡んで様々なタイプの感情障害を発症させているものと推測される。従って、未だ検討していない神経伝達物質やその受容体がうつ病の発症に関わっている可能性を否定することは出来ない。この研究により、うつ病に ATP 受容体が関与する可能性の一端が示されたが、さらなる研究が必要であることは論を待たない。

Keywords: imipramine, secretion, PC12 cells

* 味の素㈱

Nakazawa, K. and Ohno, Y.: **Effects of neuroamines and divalent cations on cloned and mutated ATP-gated channels**

Eur.J.Pharmacol., **325**, 101-108(1997)

ATP 受容体チャネル(P2X 受容体)の 4 種類のサブクラス(P2X1-4)をアフリカツメガエル卵母細胞に発現させ、神経アミンおよび 2 値イオンに対する感受性を検討した。ドパミン、セロトニン、Zn, Cd はいずれも P2X2 受容体を介するイオン電流を増強した。同様の増強効果は P2X4 受容体でも認められたが、P2X1 および P2X3 受容体では認められなかった。4 種類のサブクラスのアミノ酸配列を比較したところ、P2X2 および P2X4 のみに共通する酸性アミノ酸残基が 3箇所に見い出された。これらのアミノ酸残基を人為的に他のアミノ酸残基に置換して検討を加えた結果、P2X2 受容体においては 221番目のアスパラギン酸残基が増強作用に関与することが明らかとなった。

Keywords: P2X receptor/channel, allosteric modulation, site-directed mutagenesis

Nakazawa, K., Liu, M., Inoue, K. and Ohno, Y.: **Potent inhibition by trivalent cations of ATP-gated channels**

Eur.J.Pharmacol., **325**, 237-243(1997)

ランタンをはじめとする 3 値イオンの ATP 受容体チャネルに対する作用を検討した。ラット副腎臓質由来 PC12 細胞においてランタンは ATP 誘発電流を μM のオーダーで抑制した。

同様の抑制作用はガドリニウム、セリウムおよびネオジムでも認められた。ランタンおよびガドリニウムにより ATP の濃度-作用曲線は右方にシフトし、傾きが増加した。ATP 誘発電流のうち過分極側で活性化する成分は 3 値イオンにより抑制されなかった。ランタンおよびガドリニウムはアフリカツメガエル卵母細胞に発現させた P2X1, P2X2 の両受容体を介する電流に対しても抑制作用を示した。以上のことから 3 値イオンは低濃度で ATP 受容体チャネルを非競合的に阻害することが明らかとなった。

Keywords: P2X receptor/channel, trivalent cations, non-competitive inhibition

Nakazawa, K., Liu, M., Inoue, K. and Ohno, Y.: **Voltage-dependent gating of ATP-activated channels in PC12 cells**

J.Neurophysiol., **78**, 884-890(1997)

ATP 受容体チャネルの電位依存性ゲート機構をラット副腎臓質由来 PC12 細胞を用いて検討した。-50 mV の保持電位より過分極パルスを加えた場合、約 60 ms の時定数を有する緩徐活性化成分が観察された。過分極の増大に伴いこの成分は増加したが、時定数は変化しなかった。ATP の濃度を増加させた場合、緩徐活性化成分の割合は減少し、時定数は低下した。以上のことから ATP 受容体チャネルの電位依存性ゲート機構は ATP 結合の電位依存性に起因するという可能性が示唆された。

Keywords: ATP receptor/channel, voltage-dependent gating, activation kinetics

Liu, M., Nakazawa, K., Inoue, K. and Ohno, Y.: **Potent and voltage-dependent block by philanthoxin-343 of neuronal nicotinic receptor/channels in PC12 cells**

Br.J.Pharmacol., **122**, 379-385(1997)

ハチ毒であるフィランソトキシン(PhTX)の神経型ニコチン様アセチルコリン受容体チャネルに対する作用をラット副腎由来 PC12 細胞を用いて検討した。PhTX は 0.1 μM という低濃度よりアセチルコリン誘発電流を抑制した。電流抑制は脱分極パルスにより減弱した。過分極パルスを加えた場合、時定数 100 ms の抑制の進行が観察された。脱分極による抑制からの回復の時定数は約 100 ms であった。電位依存性より計算した結果、PhTX の結合部位は細胞外側のチャネル開口部近傍であると推定された。

Keywords: nicotinic acetylcholine receptor/channel, philanthoxin, pore-blocking action

Nakazawa, K., Liu, M., Inoue, K. and Ohno, Y.: **pH dependence of facilitation by neurotransmitters and divalent cations of P2X2 purinoceptor/channels**

Eur.J.Pharmacol., **337**, 309-314(1997)

ATP 受容体チャネルのサブクラスである P2X2 受容体をアフリカツメガエル卵母細胞に発現させ、このチャネルに対する神経アミンおよび 2 値イオンの修飾作用の pH 依存性を検討した。セロトニンによる P2X2 受容体を介する電流増強は酸性側で促進された。一方、Zn および Cd による電流増強は塩基性側で促進された。ドパミンの電流増強は酸性、塩基性の両条件下で減弱するという傾向が認められた。以上のことから、電流増強における神経アミンと 2 値イオンの結合部位はプロトンにより異なる影響を受けることが示唆された。

Keywords: ATP receptor/channel, allosteric modulation, pH-dependence

Nagata, K.*¹, Yoshinari, K.*¹, Ozawa, S. and Yamazoe, Y.*¹:

Arylamine activating sulfotransferase in liver*Mutat. Res.*, **376**, 267-272(1997)

ラット肝可溶性硫酸転移酵素分子種の一つであるST1C1はN-ヒドロキシ-2-アセチルアミノフルオレンなどの癌原性N-水酸化アリルアミン(アセトアミド)を極めて高い効率で代謝活性化する。今回ST1C1に相当するヒトの硫酸転移酵素をコードすると考えられる遺伝子を単離した。単離された遺伝子はラットST1C1 cDNAと特に3'-側が非常に相同性が高かった。しかし、ヒトmRNA画分にはそのヒト遺伝子由来のmRNAは発現していなかった。また、ラットST1C1抗体を用いてウエスタンプロットをおこなったが、タンパクは検出されなかつた。

Keywords: carcinogenic N-hydroxy aryl compounds, rat sulfotransferase, human sulfotransferase

* 東北大学薬学部

Fujita, K.-i.^{*1}, Nagata, K.^{*1}, Ozawa, S., Sasano, H.^{*2} and Yamazoe, Y.^{*1}: **Molecular cloning and characterization of rat ST1B1 and human ST1B2 cDNAs, encoding thyroid hormone sulfotransferase**

J. Biochem., **122**, 1052-1061(1997)

ヒトおよびラット甲状腺ホルモン硫酸転移酵素(それぞれST1B2およびST1B1)をコードするcDNAを単離した。ST1B1とST1B2間の相同性はアミノ酸配列のレベルで74%, ST1B2とヒドロキシステロイド硫酸転移酵素およびフェノール硫酸転移酵素とはそれぞれ36%および56%以下の相同性しか示さず、これらの酵素は新しいST1遺伝子サブファミリーに属することが明らかとなった。異種細胞内に発現させた酵素は3,3,5'-triiodothyronineおよびdopamineの硫酸抱合活性を示し、これらST1B1およびST1B2は新ST1遺伝子サブファミリーに属する甲状腺ホルモン硫酸転移酵素であることが明らかとなった。

Keywords: aryl sulfotransferase, new gene subfamily, thyroid hormone

*1 東北大学薬学部

*2 東北大学医学部

Ozawa, S., Tang, Y.-M.^{*1}, Yamazoe, Y.^{*2}, Kato, R.^{*3}, Lang, N. P.^{*4} and Kadlubar, F. F.^{*1}: **Genetic polymorphisms in human liver phenol sulfotransferases involved in the bioactivation of N-hydroxy derivatives of carcinogenic arylamines and heterocyclic amines**

Chem-Biol. Interact., **109**, 237-248(1998)

ヒト肝の3種の近縁フェノール硫酸転移酵素分子種の中で、ST1A3は癌原性N-ヒドロキシヘテロサイクリックアミンの代謝活性化能が最も高い。また、本酵素活性には遺伝的多型性が認められている。RT-PCR法で、肝における主要分子種であるST1A3のmRNAレベルはp-ニトロフェノール硫酸転移酵素活性と相関しており、本酵素活性が、本分子種の転写のレベルで調節されていることを明らかにした。また、ST1A3遺伝子にはArg213HisおよびMet223Valの多型が見い出され、本酵素の遺伝的多型の機構に、これら異型酵素が関与する可能性が示された。

Keywords: human aryl sulfotransferase, carcinogenic heterocyclic amines, genetic polymorphism

*1 National Center for Toxicological Research, USA

*2 東北大学薬学部

*3 慶應義塾大学医学部

*4 University of Arkansas Med. Sci, USA

Satarug, S.^{*1}, Haswell-Elkins, M. F.^{*1}, Sithithaworn, P.^{*2},

Bartsch, H.^{*3}, Ohshima, H.^{*4}, Tsuda, M., Mairiang, P.^{*2}, Mairiang, E.^{*2}, Yongvanit, P.^{*2}, Esumi, H.^{*5} and Elkins, D. B.^{*6}: **Relationships between the synthesis of N-nitrosodimethylamine and immune responses to chronic infection with the carcinogenic parasite, *Opisthorchis viverrini*, in men**

Carcinogenesis, **19**, 485-491(1998)

タイ北東部は胆管がんの多発地域として知られ、同地域で多食される魚の発酵食品に起因する肝吸虫(Liver fluke)寄生が、その原因として、疫学的に示されている。本研究では、慢性的寄生虫感染に対する免疫応答に起因する体内一酸化窒素産生が発がん性ニトロアミン(NDMA)の產生に関与して、胆管がん多発の一因をなしているという仮説に基づいて実施された、分子疫学的研究である。同多発地域住民志願者を感染の程度により、非感染、中程度感染、重度感染グループに分け、血液及び尿を採取した。NDMAの体内生成を明確にするために、アルコール摂取による代謝抑制効果を志願者実験に組み入れた。尿中NDMA排泄と体内NO産生指標との間には有意の相関が示された。

Keywords: Cholangiocarcinoma, liver fluke infection, endogenous nitrosation

*1 Natl Res. Center for Environ. Toxicol., Queensland, Australia

*2 Faculty of Medicine, Khon Kaen Univ., Khon Kaen, Thailand

*3 German Cancer Res. Center, Heidelberg, Germany

*4 International Agency for Res. on Cancer, Lyon, France

*5 国立がんセンター研・東支所

*6 Queensland Inst. Medical Res., Brisbane, Australia

Nakajima, M.*¹, Sasaki, M.*¹, Kobayashi, Y.*¹, Ohno, Y. and Usami, M.: **Rat embryo culture using rabbit serum as a medium for developmental toxicity studies**

J. Appl. Toxicol., **17**, 185-188(1997)

ウサギ血清のラット全胚培養法の培養液としての有用性を調べた。その結果、ウサギ血清は50%までラット血清と混合して培養液として用いることができる事を示した。

Keywords: embryo culture, rabbit serum, developmental toxicity

* 旭化成工業株式会社

Nakajima, M.*¹, Takahashi, H.*¹, Sasaki, M.*¹, Kobayashi, Y.*¹, Ohno, Y. and Usami, M.: **Effects on fetal growth of repeated blood collection for toxicokinetics from pregnant rats**

J. Toxicol. Sci., **22**, 455-459(1996)

妊娠ラットからの採血が胎児発育に及ぼす影響を調べた。その結果、各2mlずつの4回採血は発生毒性試験において実施できることが示された。

Keywords: blood collection, toxicokinetics, fetal effects

* 旭化成工業株式会社

Uneyama, C., Uneyama, H.*¹, Narisawa, K.*¹, Takahashi, M. and Akaike, N.*²: **Kinetic characteristics of thrombin receptor-mediated responses in rat megakaryocytes**

Eur. J. Pharmacol., **319**, 299-305(1997)

ラット巨核球のトロンビン受容体の速度論的性質について、ニスタチン穿孔パッチクランプ法とY-チューブ法により解析した。トロンビン受容体に特徴的な性質として反

応の開始までの時間と薬物洗浄後の反応終息までの時間が長いことがあり、これらはトロンビン受容体の特異な活性化機構を反映したものであることを示唆した。

Keywords: thrombin receptor, megakaryocyte, patch-clamp

*¹ 東北大学医学部

*² 九州大学医学部

Toyoda, K., Shoda, T., Uneyama, C., Takada, K. and Takahashi, M.: **Carcinogenicity study of β -cyclodextrin in F344 rats**

Fd Chem. Toxicol., **35**, 331-336(1997)

ラットを用いて β -cyclodextrin の癌原性試験を実施した。雌雄各3群(各群50匹)に β -cyclodextrin を0, 2.5, 5%の割合で104週間混餌投与した。その結果、雌雄ともに β -cyclodextrin の投与用量に相関した体重増加抑制がみられたが、生存率や腫瘍発生には投与に起因する有意な影響は認められず、 β -cyclodextrin のラットに対する発癌性は無いと結論した。

Keywords: β -cyclodextrin, carcinogenicity study, F344 rat

Toyoda, K., Matsui, H., Shoda, T., Uneyama, C., Takada, K. and Takahashi, M.: **Assessment of the carcinogenicity of stevioside in F344 rats**

Fd Chem. Toxicol., **35**, 597-603(1997)

ラットを用いて stevioside の癌原性試験を実施した。雌雄各3群(各群50匹)に stevioside を0, 2.5, 5%の割合で104週間混餌投与した。その結果、雌雄ともに stevioside の投与用量に依存した軽度の体重増加抑制や、高用量群における生存率の有意な低下が認められたが、腫瘍発生においては投与に起因すると思われる重大な影響はみられず、stevioside のラットに対する発癌性は無いと結論した。

Keywords: stevioside, carcinogenicity study, F344 rat

Shoda, T., Toyoda, K., Uneyama, C., Takada, K. and Takahashi, M.: **Lack of carcinogenicity of medium-viscosity liquid paraffin given in the diet to F344 rats**

Fd Chem. Toxicol., **35**, 1181-1190(1997)

ラットを用いて liquid paraffin の癌原性試験を実施した。雌雄各3群(各群50匹)に liquid paraffin を0, 2.5, 5%の割合で104週間混餌投与した。その結果、雌雄ともに高用量群で摂餌量の増加と体重増加の亢進が認められたが、腫瘍発生においては投与に起因すると思われる重大な影響はみられず、liquid paraffin のラットに対する発癌性は無いと結論した。

Keywords: liquid paraffin, carcinogenicity study, F344 rat

Yasuhara, K., Shimo, T., Mitsumori, K., Onodera, H., Kitaura, K. and Takahashi, M.: **Lack of carcinogenicity of cyanoguanidine in F344 rats**

Fd Chem. Toxicol., **35**, 475-480(1997)

シアノグアニジンはメラミン、グアニジン塩、グアナミン類の製造原料として広く使用されているが、現在までにこの物質の発癌性に関する十分なデータがないのでF344ラットを用いて癌原性試験を実施した。シアノグアニジンを粉末飼料に5, 0.5および0%(対照群)の濃度で添加し、雌雄とも各群50匹となる3群の動物にそれぞれの飼料を104週間自由に摂取させた。対照群を含む全群に種々の腫瘍が認められたが、これらの腫瘍発現において雌雄とも対照群と各投与群との間に有意な差は認められず、シアノグ

アニジンに起因すると思われる腫瘍の増加はみられなかった。以上の結果より、シアノグアニジンのF344ラットにおける癌原性はないものと考えられた。

Keywords: carcinogenicity, F344 rats, cyanoguanidine

Higuchi, H.* Nakaoka, M.* Ozaki, K.* Kawamura, S.* Okuno, Y.* Matsuo, M.* and Yasuhara, K.: **Evaluation of recovery from cyclophosphamide testicular toxicity in rats**

J. Toxicol. Pathol., **10**, 165-173(1997)

サイクロフォスファマイド(CP)による精巣毒性を精子形成サイクルを考慮して定量的に評価すると共に、休薬による回復性についてPCNA免疫染色を用いて検討した。SD系雄ラットにCP 40 mg/kgを7日間経口投与し、投与後1日、3週および8週目に精巣を検索した。CP投与後1日目では精祖細胞の減少が見られたが、残存する精祖細胞(タイプA)はPCNA陽性を示し、細胞増殖能を有していた。3週では精祖細胞数は回復していたが、精母細胞および円形精子細胞に減少が見られた。8週では前記病変は回復していた。以上より、定量的解析は精巣毒性を評価する上で、また、PCNA免疫染色の応用は精巣毒性の回復性を予知する上で有用であることが示された。

Keywords: testicular toxicity, quantitative morphometry, PCNA immunostaining

* 住友化学株環境生物科学研究所

Yasuhara, K., Mitsumori, K., Shimo, T., Onodera, H., Takahashi, M. and Hayashi, Y.: **Mice with focal pulmonary fibrosis caused by monocrotaline are insensitive to urethane induced of lung tumorigenesis**

Toxicol. Pathol., **25**, 574-581(1997)

肺線維症と肺癌との関連性を明らかにする目的でモノクロタリン(MC)誘発肺線維症動物モデルを用いて肺線維症が肺腫瘍の発生母地に成り得るか否かを検討する目的で、MC 150 mg/kgを4回投与後33週間観察した結果、肺に線維化巣は認められたが、肺腫瘍は認められず、モノクロタリン誘発肺線維化巣に肺腫瘍は発現しないものと推察された。さらに、この動物モデルに既知肺発癌物質のウレタンを投与し、その修飾作用を検討するためにMC 150 mg/kgを4回投与後、ウレタン1,000 mg/kgを1回投与し、投与後15週間に検索した結果、肺増殖性病変/腫瘍の発現がウレタン単独投与群に比べ有意に抑制され、モノクロタリン誘発肺線維症において肺胞上皮はウレタン等の肺発癌物質に対して耐性を有することが推察された。

Keywords: monocrotaline, urethane, inhibition effect

Kim, H.-C.*¹, Lee, Y.-S.*² and Nishikawa, A.: **Enhancing effects of phenobarbital and 3-methylcholanthrene on GST-P-positive liver cell foci development in a new medium-term rat liver bioassay using D-galactosamine**

J. Toxicol. Environ. Health., **50**, 519-528(1997)

ラットを用いてジエチルニトロサミン単回腹腔内投与に引き続く部分的肝切除の代わりに、D-ガラクトサミン投与による新しい中期発ガン性検索法を開発した。被験物質は第3~8週まで混餌で投与し、8週後の時点での胎盤型グルタチオンSトランスフェラーゼ(GST-P)陽性肝細胞巣の発生状況を検索した。その結果、遺伝子障害性のない肝腫瘍プロモーターであるフェノバルビタール、および肝臓を標的としない遺伝子障害性発ガン物質であるメチルコレントレンとともにGST-P陽性巣の有意な増加を示し、この検索法が広いスペクトラムの発ガン物質検索法として有用であることが確認された。

Keywords: D-galactosamine, medium-term bioassay, GST-P

*¹ Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology

*² Department of Veterinary Medicine, Seoul National University

Nishikawa, A., Kase, Y.*¹, Hayakawa, T.*¹, Yanagisawa, Y.*¹, Kanno, J.*² and Hayashi, Y.: **Enhancement of cell proliferation and prostaglandin biosynthesis by 1,8-dihydroxyanthraquinone in the rat large intestine**

Carcinogenesis, **18**, 1259-1263(1997)

刺激性緩下作用を有し大腸発ガンを促進することが知られている1,8-dihydroxyanthraquinone(DHAQ)の大腸粘膜における細胞増殖動態とプロスタグランдин(PG)生合成に及ぼす影響について検討した。ラットにDHAQを0.1%または0.2%の用量で24日間混餌投与した結果、血清PGE2レベル、大腸粘膜PGE2レベルおよび尿中PGE主代謝物(PGE-MUM)濃度は用量相関性に有意に増加した。一方、尿中PGE2排泄量には顕著な変動を認めなかつた。消化管粘膜上皮のBrdU標識率は、大腸で有意な増加を示したのみであった。以上より、DHAQによる大腸粘膜上皮の細胞増殖活性亢進にPG生合成の関与が示唆され、また、尿中PGE-MUMの測定は刺激性緩下作用を有する薬物の投与に対するモニタリングに有用であることが示された。

Keywords: 1,8-dihydroxyanthraquinone, prostaglandin, cell proliferation

*¹ ツムラ中央研究所

*² 東京医科歯科大学医学部

Kim, H. C.*¹, Cha, S. W.*¹, Song, S. W.*¹, Ha, C. S.*¹, Han, S. S.*¹, Roh, J. K.*¹, Lee, Y. S.*², Furukawa, F., Nishikawa, A. and Takahashi, M.: **Enhancing effects of captafol on the development of GST-P-positive liver cell foci in a medium-term bioassay, and protection by L-cysteine of the enhancement in rats**

Cancer Lett., **111**, 15-20(1997)

我々が開発したdiethylnitrosamine(DEN)とD-galactosamineを用いた中期肝発癌性検索モデルで、肝臓はGST-P、腎臓はPCNAを指標としてcaptafolの修飾影響およびL-cysteineの抑制効果を検討した。肝臓のGST-P陽性細胞巣はcaptafolで有意に増加し、その効果はL-cysteineの同時投与により有意に抑制された。腎臓のPCNAによる細胞増殖活性でも同様の結果が得られた。以上により、このモデルは肝の発癌性およびがん予防物質のin vivoスクリーニングに有用と考えられた。

Keywords: medium-term bioassay, captafol, L-cysteine

*¹ Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology

*² College of Veterinary Medicine, Seoul National University

Kim, H. C.*¹, Nishikawa, A., Furukawa, F., Lee, I. S.*², Takahashi, M., Yoshida, T.*³, Harada T.*³ and Maita, K.*³: **Argyrophilic nucleolar organizer regions in hepatocytes of focal lesions and background parenchyma in rats treated with peroxisome proliferators**

J. Toxicol. Pathol., **10**, 19-23(1997)

中期肝二段階発癌モデルにおけるペルオキシゾーム増生物質の投与により発生する肝細胞巣と周辺組織の細胞増殖活性をAgNORsで検索した。その結果、AgNORs数は両

染色巣が一番高く、次いで増殖性結節、非病変部の肝細胞、好酸性巣の順であった。また、ペルオキシゾーム増生物質投与による非病変部の肝細胞のAgNORs数に有意差が認められた。AgNORsを指標としたペルオキシゾーム増生物質の肝発癌性の検索に、AgNORsは有用であった。

Keywords: AgNORs, peroxisome proliferator, hepatocarcinogenesis

*¹ Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology

*² Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

*³ Toxicology Division, The Institute of Environmental Toxicology

Furukawa, F., Nishikawa, A., Enami, T., Mitsui, M., Imazawa, T., Tanakamaru, Z., Kim, H. C.*¹, Lee, I. S.*², Kasahara, K. and Takahashi, M.: **Promotional effects of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol(NNAL) on N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine(BOP)-initiated carcinogenesis in hamsters**

Fd Chem. Toxicol., **35**, 387-392(1997)

ハムスターを用いたBOP肺二段階発癌モデルにおけるtabacco-specific nitrosamineのNNALの腫瘍発生に対する影響を検討した。BOPを投与し、その後2 ppmと5 ppm NNALを飲水中に混じて52週間投与した。肺腺管のdysplastic lesionとadenocarcinomaの合計の発生率で有意に増加した。その他にNNALは肺、肝、腎臓の腫瘍発生に対して影響を与えたかった。今回の実験からハムスターのBOP誘発肺発癌に対してNNALは促進効果を示した。

Keywords: NNAL, Pancreatic carcinogenesis, BOP

*¹ Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology

*² Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

森 幸雄*, 小出彰宏*, 古川文夫, 西川秋佳, 高橋道人: 喫煙による実験肺発癌抑制の作用機序

Environ. Mutagen Res., **19**, 163-170(1997)

BOPをハムスター皮下に単回投与するとCYP2B1の誘導とCYP1A2と2B2の減少が認められる。喫煙の肺発癌の抑制作用機構の一つとして、代謝活性化に関与しないCYP1A2が誘導され、逆にCYP2B1の誘導が抑制されるためにBOPのproximate carcinogenへの代謝が促進されない。また解毒に関与すると考えられるUDP-GTaseの誘導と代謝活性化に関与するHSTaseの阻害も強く関与する。すなわちBOP肺発癌に対する喫煙の抑制作用は第1相と第2相の代謝活性化の阻害と不活性化の亢進という多面的であることが推察される。喫煙はCYP2B subfamilyとHSTaseにより代謝活性化される発癌物質に対しては抗発癌性を、しかしCYP1A subfamilyの基質となる発癌物質に対して促進的に作用することが強く示唆された。喫煙による発癌に対する修飾作用は喫煙に含まれる化学物質の数の多さに鑑みてもかなり複雑である。

Keywords: cigarette smoke, anticarcinogenicity, metabolic activation

* 岐阜薬科大学

Yamazaki, Y.*¹, Furukawa, F., Nishikawa, A., Takahashi, M. and Oda, S.*²: **Histochemical Determination of stereoselectivity of esterases in normal pancreas and panc-**

reactive tubular adenocarcinoma of hamsters*Biotech & Histochem.*, **73**, 23-31(1997)

ハムスターの正常臍組織とBOP投与により発生する臍管癌を用いて、エラスターの立体選択性について酵素組織化学的染色にて検討した。正常臍組織の臍房細胞はN-methoxycarbonylalaninateが軽度の立体選択性であったが、(R)-N-acetylprolineは脂肪細胞に高い立体選択性を示した。これらのエステラーゼ活性は臍管癌には認められなかったが、(S)-N-methoxycaronylvalinateは高い立体選択性のエステラーゼ活性が認められた。また、この結果は2次元電気泳動で確認し、この酵素組織化学的な検索方法は、組織におけるエステラーゼの立体選択性を簡便に検索する優れた方法であることが明らかになった。

Keywords : pancreatic adenocarcinoma, esterase, hamster

* Agency of Industrial Science and Technology

Tanakamaru, Z.*¹, Nishikawa, A., Furukawa, F., Imaizawa, T., Lee, I. S.*², Kasahara, K., Tanaka, T.*¹ and Takahashi, M.: **Failure of dietary a-difluoromethylornithine to inhibit gastric carcinogenesis in rats after 8 weeks of treatment with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and sodium chloride**

Cancer Lett., **120**, 95-100(1997)

ラット二段階胃発癌モデルを用いて、オルニチン脱炭酸酵素阻害剤DFMOのポストイニシエーション期における修飾効果について検討した。6週齢の雄Wistarラットを用い、第1～3群には100 ppmのMNNGと10%のNaClを各々飲料水および基礎食に混じて8週間投与し、その後DFMO混餌食を第1(2,000 ppm)および2(500 ppm)群に70週間投与し、第3群には基礎食のみを与えた。実験開始78週後に実験を終了した。その結果、第1～3群にみられた異型的粘膜上皮過形成および腺癌の発生頻度並びに多発性は、いずれの群間において差は認められなかった。以上より本モデルにおいてDFMOは明らかな抑制効果を示さなかった。

Keywords : DFMO, stomach carcinogenesis, rat*¹ 岐阜大学医学部*² Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Lee, I. S.*¹, Suzuki, T., Hayashi, M., Sofuni, T. and Takahashi, M.: **Comparative study on organ-specificity of tumorigenicity, mutagenicity and cell proliferative activity induced by dimethylnitrosamine in Big Blue(r) mice**

Cancer Lett., **117**, 143-147(1997)

DMNによって誘発される腫瘍の臍器特異性について検討するため、Big Blue(r) miceを用いて、lac Iの変異発現ならびに細胞増殖活性について比較を行った。雄のBig Blue(r) miceに、1または10 mg/kg/dayのDMNを5回、あるいは5または10 mg/kgのDMNを1回腹腔内投与した。その結果、気管支上皮細胞の細胞増殖活性が用量依存性に誘導されることが確認された。DMN 5 mg/kg投与群43%に肝細胞腫瘍、1 mg/kg 5回投与群43%に腎異型尿細管、1 mg/kg 5回投与群14%に十二指腸の腺癌が観察された。これらの結果から、DMN誘発腫瘍の臍器特異性はlac Iの変異と一致するが、細胞増殖との関連性は明らかでないことが示された。

Keywords : lac I, Mutagenicity, Tumorigenicity

* Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

Nishikawa, A., Lee, I. S.*¹, Uneyama, C., Furukawa, F., Kim, H. C.*², Kasahara, K., Huh, N.*³ and Takahashi, M.: **Mechanistic insights into chemopreventive effects of phenethyl isothiocyanate in N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-treated hamsters**

Jpn. J. Cancer Res., **88**, 1137-1142(1998)

BOPハムスター発がんモデルを用いて、標的臍器における細胞動態および生体外異物代謝酵素に対するPEITCの影響について検討した。ハムスターにPEITCを強制経口投与し、2時間後にBOPを皮下に単回投与した。BOP投与後6および22時間後にハムスターを屠殺した。PEITCはBOPハムスター発がんのイニシエーション期において、標的臍器における細胞回転の制御、DNAメチレーションおよび肝phase I酵素に影響しその抑制作用を示すことが示唆された。

Keywords : Mechanism, PEITC, Chemoprevention*¹ Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University*² Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology*³ 富山医科薬科大学

Shimo, T.*¹, Mitsumori, K., Takahashi, S.*², Katayama, J.*¹, Saito, A.*¹, Yoshida, H.*¹, Aoki, Y.*¹, Onodera, H. and Takahashi, M.: **Comparison of ultrastructural changes in thyrotrophs of the rat pituitary between intermittent and continuous treatments with sulfadimethoxine**

Toxicol. Pathol., **25**, 177-185(1997)

抗甲状腺物質の間欠ないし連続投与による血清中甲状腺刺激ホルモン(TSH)レベルと下垂体TSH産生細胞の変化との関連性を検討した。N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamineによりイニシエーションした雄ラットに、8から14週間にわたり0.1%のサルファジメトキシン(SM)を間欠あるいは連続飲水投与した。光頭的にはTSH産生細胞の肥大とTSH陽性物質の枯渇が、電頭的にはTSH産生細胞の細胞質内分泌顆粒の減少とともに高電子密度顆粒を含む粗面小胞体槽の拡張が認められた。以上より、SMの連続投与はTSH要求量の増加に対する段階的な順応反応を、一方、間欠投与は視床下部一下垂体-甲状腺系の持続的な強いフィードバックによるTSH産生細胞のTSH貯蔵量の減少を招くことが推察された。

Keywords : intermittent treatment, TSH*¹ 北陸製薬(株)中央研究所*² (財)佐々木研究所

Yamamoto, S.*^{1,2}, Hayashi, Y., Mitsumori, K. and Nomura, T.*²: **Rapid carcinogenicity testing system with transgenic mice harboring human prototype c-HRAS gene**

Lab. Animal Sci., **47**, 121-126(1997)

短期発癌試験におけるヒトプロト型c-H-ras遺伝子導入トランジェニック(Tg)マウス(CB6F1-HRAS2マウス)の有用性を評価するために、CB6F1-HRAS2マウスと同腹仔の非遺伝子導入(non-Tg)マウスを用いた短期発癌試験を実施した。種々の遺伝毒性発癌物質を投与した短期発癌試験の結果より、CB6F1-HRAS2マウスはnon-Tgマウスに比べ、発癌物質に対する感受性がより高いことが明らかとなった。以上より、CB6F1-HRAS2マウスは、短期発癌試験系開発のための動物モデルとして有望な候補動物であると推察された。

Keywords: CB6F1-Tg Hras2 mouse, rapid carcinogenicity testing system, human prototype c-HRAS gene

*¹ 慶應大学医学部

*² (財)実験動物中央研究所

Mitsumori, K., Wakana, S.*¹, Yamamoto, S.*², Kodama, Y., Yasuhara, K., Nomura, T.*¹, Hayashi, Y.*³ and Maronpot, R. R.*⁴: Susceptibility of transgenic mice carrying human prototype c-Ha-ras gene in a short-term carcinogenicity study of vinyl carbamate and ras gene analyses of the induced tumors

Mol. Carcinogenesis, **20**, 298-307(1997)

ヒト c-Ha-ras 遺伝子導入トランスジェニック(Tg)マウス(Hras2 マウス)の既知の発癌物質に対する感受性を評価するために、Hras2 マウスと同腹仔の non-Tg マウスに vinyl carbamate(VC) 60 mg/kg を単回腹腔内投与し、16 週間観察した。その結果、Hras2 マウスは、non-Tg マウスに比べ、VC 投与による肺腫瘍と脾臓および肺の血管肉腫の誘発に対し高い感受性を示すことが明らかとなった。一方、導入遺伝子およびマウス Ki-ras 遺伝子の点突然変異は、VC の肺腫瘍誘発に関与していないことが示唆された。

Keywords : CB6F1-Tg Hras2 mouse, point mutation, murine Ki-ras

*¹ (財)実験動物中央研究所

*² 慶應大学医学部

*³ 北里大学薬学部

*⁴ National Institute of Environmental Health Sciences

Takegawa, K., Mitsumori, K., Onodera, H., Mutai, M.*¹, Kitaura, K.*², Takahashi, S.*³, Uneyama, C., Yasuhara, K., Takahashi, M., Yanai, T.*⁴, Masegi, T.*⁴ and Hayashi, Y.*⁵: UDP-GT involvement in the enhancement of cell proliferation in thyroid follicular cell proliferative lesions in rats treated with thiourea and vitamin A

Arch Toxicol., **71**, 661-667(1997)

過剰のビタミン A (VA) およびチオウレア (TU) を同時投与したラットにおいて甲状腺増殖性病変の細胞増殖活性が増強されるメカニズムを解析するため、雄 F344 ラットを DHPN でイニシエーション後、1 週間目から 0.2% TU 飲料水 (TU 群)、0.1% VA 飼料 (VA 群)、0.2% TU および 0.1% VA (TU+VA)、または 0% TU/VA (対照群) を 10 週間与えた。TU 群および TU+VA 群では、血清中 T3/T4 は減少し、TSH 値は上昇した。その程度は TU+VP 群で有意に強かった。肝臓の UDP-GT 活性は TU 群に比べて TU+VA 群で有意に増加した。甲状腺増殖性病変の細胞増殖活性上昇は、VA 同時投与により増強した。以上より、TU による甲状腺ホルモン合成の抑制に加えて、VA 同時投与により肝 UDP-GT 活性が増強され、その結果として、血清 T3/T4 の減少と TSH の増加が増強されることが示唆された。

Keywords : vitamin A, thiourea, UDP-GT

*¹ 三菱化学(株)横浜総合研究所

*² 大塚製薬(株)徳島研究所

*³ (財)佐々木研究所

*⁴ 岐阜大学農学部

*⁵ 北里大学薬学部

Takegawa, K., Mitsumori, K., Onodera, H., Shimo, T., Yasuhara, K., Takahashi, M., Mutai, M.*¹, Takahashi, S.*², Yanai, T.*³, Masegi, T.*⁴: Effects of simultaneous treatment with excess amounts of vitamin A and goitrogens on thyroid tumorigenesis in rats

J. Toxicol. Pathol., **10**, 91-96(1997)

種々の抗甲状腺物質による甲状腺増殖性病変に対するビタミン A (VA) 同時投与の影響を検討するため、F344 ラットに DHPN によるイニシエーション後、0.1% VA 飼料および sulfadimethoxine, propylthiouracil, potassium thiocyanate または phenobarbital を 19 週間与えた。投与期間終了後、血清中 T3, T4 および TSH 値、肝臓の UDP-GT 活性、および甲状腺重量を測定した。さらに、甲状腺増殖性病変を組織学的に検索し、PCNA 標識率を測定した。T4 値はすべての抗甲状腺物質において VA により減少したが、TSH 値は VA により上昇しなかった。その他の検査項目においても VA の増強作用は認められず、チオウレアと VA において認められた増強作用は特殊な現象であることが示唆された。

Keywords : thyroid, vitamin A, UDP-GT

*¹ 三菱化学(株)横浜総合研究所

*² (財)佐々木研究所

*³ 岐阜大学農学部

Mitsumori, K., Onodera, H., Shoda, T., Uneyama, C., Imazawa, T., Takegawa, K., Yasuhara, K., Watanabe, T.* and Takahashi, M.: Liver tumor-promoting effects of oxfendazole in rats

Fd Chem. Toxicol., **35**, 799-806(1997)

動物用医薬品である Oxfendazole (Ox) の肝臓に対するプロモーション作用を検討した。Diethylnitrosamine (DEN) でイニシエーション処置一週間後より、Ox 500, 250, 100, 10ないし 0 ppm 含有混餌飼料を雄 F344 ラットに 8 週間与えた肝重量の増加は Ox 100 ppm 投与以上の群で認められた。100 ppm 投与以上の群の肝臓で小葉中心性肝細胞肥大が、500 ppm 群では肝細胞の滑面小胞体の著明な増加が観察された。100 ppm 群では CYP1A1/2, 2B1/2, 4A1 が誘導され、特に CYP1A1/2 の誘導が顕著であった。CYP1A/2 の誘導は 10 ppm 群でも認められた。細胞間結合タンパク (Cx32) は Ox の用量に相関して数・面積とも減少した。Glutathion S-transferase 胎盤型 (GST-P) 陽性細胞数も 250 ppm 以上の群で有意に増加した。これらの結果より Ox は肝臓に対し腫瘍プロモーション作用を有する可能性が強く示唆された。

Keywords : oxfendazole, promotion, connexin

* 住友化学工業(株)生物環境科学研究所

Yoshida, T.*, Mitsumori, K., Harada, T.* and Maita, K.*: Morphological ultrastructural study of meningeal granular cell tumors in rats

Toxicol. Pathol., **25**, 211-216(1997)

ラット脳の顆粒細胞腫の起源を明らかにするため、髄膜腫が自然発生した 40 匹のウイスター ラットについて検索を行った。髄膜腫は組織学的に髄膜細胞型髄膜腫 (MMs) 3 例、顆粒細胞腫 (GCTs) 28 例、混合型 (MIXs) 9 例に分類され、そのうち MMs 2 例、GCTs 2 例、MIXs 3 例を電子顕微鏡を用いて検索した。MMs の腫瘍細胞は中間径フィラメントと起伏の激しい細胞突起から構成されていた。GCTs は顆粒から構成、MIXs は顆粒、フィラメントから構成されていた。GCTs と MIXs の腫瘍細胞はデスマゾームで結合していた。MIXs は、形態学的に GCTs 類似および MMs 類似の細胞分化傾向を示した。以上より、GCTs および MIXs は髄膜くも膜細胞から由来する髄膜腫の一種と考えられた。

Keywords : meningioma, meningeal tumor, brain

* (財)残留農薬研究所

Hayashi, S.*¹, Mitsumori, K., Yasuhara, K., Mori, I.*², Imazawa, T., Onodera, H., Nonoyama, T., Takahashi, M., Hayashi, Y.*³: **Significance of cyclin D1 overexpression and K-ras point mutations in lung tumors induced by N-methyl-N-nitrosourethane in hamsters**

J. Toxicol. Pathol., **10**, 137-143(1997)

雌シリアン・ゴールデンハムスターを用いて N-methyl-N-nitrosourethane (MNUR) の投与実験を行った。肺腫瘍の33%に codon13 あるいは64の K-ras 遺伝子に突然変異が発現した。codon12 に変異は起こらなかった。以上より、K-ras 遺伝子の突然変異はMNUR誘発細胞管支-肺胞腺腫の誘発増強に関与し、多形性細胞腫瘍でのサイクリンD1 の過剰発現は悪性へ転換する過程に関与する事が示唆された。

Keywords : cyclin D1, K-ras, p53 protein

*¹ 武田薬品工業(株)薬理研究所

*² 武田薬品工業(株)薬剤安全研究所

*³ 北里大学薬学部

Matsuoka, A., Ozaki, M., Takeshita, K., Sakamoto, H., Glatt, H.-R.*¹, Hayashi, M. and Sofuni, T.: **Aneuploidy induction by benzo[a]pyrene and polyploidy induction by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene in Chinese hamster cell lines V79-MZ and V79**

Mutagenesis, **12**, 365-372(1997)

染色体の数的異常は、倍数性と異数性にわけられるが、異数性はヒトの不妊、流産、先天異常、発癌との関連が報告されており、重要な生物学的指標となりうる。しかし、試験管内試験系ではまだ数的異常の検出系は確立されていない。今回、我々は、チャイニーズ・ハムスター由来の4種の培養細胞株(V79-MZ, V79, CHL, CHO-K1)を用いて、代謝的活性化系非存在下、ベンツピレン、ジメチルベンツアントラゼン、マイトイシンC、コルヒチンの数的異常誘発性を検討した。その結果、既知の数的異常誘発物質コルヒチンでは、4細胞株すべてで倍数性が誘発された。陰性対照マイトイシンCでは、いずれの細胞株でも数的異常は誘発されなかった。しかし、ベンツピレンはV79-MZでのみ異数性を、また、ジメチルベンツアントラゼンはV79-MZとV79細胞株で、倍数性を誘発した。V79-MZとV79細胞株は数的異常検出系として期待できる。

Keywords: aneuploidy, benzo[a]pyrene, 7,12-dimethylbenz[a]anthracene

* German Institute of Human Nutrition

Honma, M., Zhang, L.-S.*¹, Hayashi, M., Takeshita, K., Nakagawa, Y.*², Tanaka, N.*² and Sofuni, T.: **Illegitimate recombination leading to allelic loss and unbalanced translocation in p53-mutated human lymphoblastoid cells**

Mol. Cell. Biol., **17**, 4774-4781(1997)

ヘテロ接合性の消失(LOH)はヒト発癌過程における主要な遺伝子変異であり、一般に遺伝子全体の欠失、もしくは相同染色体間の組換え反応により生じると考えられている。今回我々は、p53 変異細胞において、LOH は主として非相同組換え反応を介して生じ、結果的に不均衡型の転座をもたらすことを明らかにした。X線などのDNAの2本鎖切断を引き起こす変異原によってこの不均衡型の転座の発生頻度が増加することから、p53 は染色体間の相同組換えや、DNA 2本鎖切断の組換え修復反応を制御することによりゲノムの安定化に寄与していることが示唆された。これらのこととはヒト癌組織において p53 遺伝子の変異と同時に観察される LOH 型突然変異や、染色体転座を説明しうるものと考えられる。

Keywords: p53, homologous recombination, genomic instability

*¹ 中国華西医科大学公共衛生学院

*² 食品薬品安全センター秦野研究所

Inoue, A.*¹, Yokomori, K.*², Tanabe, H., Mizusawa, H., Sofuni, T., Hayashi, Y.*², Tsuchida, Y.*² and Shimatake, H.*¹: **Extensive genetic heterogeneity in the neuroblastoma cell line NB(TU)1**

Int. J. Cancer, **72**, 1070-1077(1997)

神経芽腫における遺伝子異常には N-myc 遺伝子増幅がよく知られており、染色体レベルでは 1p 欠失および HSRs/DMs として観察される。我々は病期Ⅲの20ヶ月女児よりユニークな神経芽腫細胞株 NB(TU)1 を新たに樹立した。核型および FISH 分析の結果、この細胞株はほぼ偽 2 倍体で 7 タイプの核型から成り、2ヶ所の HSRs(2q31, 4p12) と複雑な転座や欠失が見られた。また N-myc 遺伝子のサザン分析により、約30倍の N-myc 増幅が見られ、2.9 kb の正常バンドに加えて 9.0 kb の異常バンド(3クローンでは 3.7 kb のバンドも)が検出され、5' 非転写領域でのゲノム再構成が確認された。さらに小核形成能を他の 5 種の神経芽腫細胞株と比較した結果、NB(TU)1 のみが高発現を示した。以上のことから NB(TU)1 は通常の神経芽腫では見られない、ある種の「ゲノム不安定性」を獲得しているものと考えられた。

Keywords: neuroblastoma, chromosomal instability, N-myc amplification

*¹ 東邦大学医学部

*² 東京大学医学部

林 真, 渡部 烈*¹, 島田弘康*²: **レギュラトリサイエンスにおける変異原性試験**

Environ. Mutagen Res., **19**, 111-115(1997)

日本環境変異原学会第25回記念大会「21世紀に向けての環境変異原研究の目指すもの」の一環として開催されたシンポジウムの記録である。演題と演者は次の通りである: 「レギュラトリサイエンスとは何か」前会長内山充; 「行政が学会に求めるもの」厚生省津田重城; 「基礎科学と行政」岡山大学早津彦哉; 「企業における変異原性試験の現状」第一製薬島田弘康; 「21世紀の行政における変異原性試験」変異遺伝部長祖父尼俊雄であった。本研究分野における基礎と応用の融合は本学会にとって大きなテーマである。化学物質の安全性評価等において、行政が何を学会に期待しているのか、また、大学を中心とする基礎研究者がどのように行政に関与するのが良いのか、等について議論がなされた。

Keywords: regulatory science, chemical safety evaluation, hazard identification

*¹ 東京薬科大学

*² 第一製薬(株)安全性研究所

Sofuni, T., Wilcox, P.*¹, Shimada, H.*², Clements, J.*³, Honma, M., Clive, D.*⁴, Green, M.*⁵, Thybaud, V.*⁶, San, R. H. C.*⁷, Elliott, B. M.*⁸ and Muller, L.*⁶: **Mouse lymphoma workshop: Victoria, British Columbia, Canada, March 27, 1996: Protocol issues regarding the use of the microwell method of the mouse lymphoma assay**

Environ. Mol. Mutagen., **29**, 434-438(1997)

ICHでの論議を踏まえてマウスリンゴーマ試験(MLA)の国際共同研究が行われたが、その成果に基づいて、MLAのマイクロウェル法の試験プロトコールの問題に関するワークショップが米国環境変異原学会の1996年大会で行われた。ここでは処理時間、培養系列の数、細胞毒性のパラメータ、用量設定のためのパラメータ、陰性対照の突然変異頻度、平板効率、最高用量、結果の判定などの問題について論議を行い、それぞれについて基本的な合意が得られた。

Keywords: mouse lymphoma assay; protocol, international collaboration

*¹ Glaxo Wellcome R&D(UK)

*² 第一製薬(株)安全性研究所

*³ Covance Laboratories Ltd.(UK)

*⁴ Raleigh(USA)

*⁵ University of Sussex(UK)

*⁶ Rhone-Poulenc Rorer(France)

*⁷ Microbiological Associates, Inc.(USA)

*⁸ ZENECA Central Toxicology Laboratory(UK)

*⁹ Federal Institute for Drugs and Medical Devices
(Germany)

Ono, T.*; Ikehata, H.*; Hosoi, Y.*; Shung, B.-S.*; Kurishita, A.*; Wang, X.; Yamamoto, K.*; Suzuki, T. and Sofuni, T.: **X-ray- and ultraviolet-radiation-induced mutations in MutaTMMouse**

Radiat. Res., **148**, 123-128(1997)

トランジエニックマウス(MutaTMMouse)を用いて放射線誘発突然変異を検出するために、X線全身照射による影響を検討すると共に、紫外線による影響と比較した。自然突然変異頻度は脾臓、肝臓および皮膚においてそれぞれおよそ 7×10^{-5} であった。X線 8 Gy 照射 1 週間後の脾臓、肝臓および皮膚の突然変異頻度はそれぞれ自然突然変異頻度の 3.2, 2.6 および 2.7 倍であった。紫外線 10 kJ m⁻² を照射した皮膚ではおよそ 6 倍増加した。4 Gy の単回照射および 0.15 Gy の 78 回分割照射(3 回/週)を行い、照射終了 16 週における突然変異頻度は自然突然変異頻度の 2 倍弱であった。胎児由来培養細胞を用いて X 線と紫外線とで比較した結果、紫外線 5 J m⁻² 照射により突然変異頻度は非照射の 15 倍増加したが、X 線 10 Gy 照射では 2.6 倍であった。このことから MutaTMMouse は紫外線に比べると X 線に対して低感受性であることが判明した。

Keywords: transgenic mouse, X-ray, ultraviolet

* 東北大学

Kobayashi, S.*¹; Nishimura, M.*¹; Shimada, Y.*¹; Suzuki, F.*²; Matsuoka, A.; Sakamoto, H.; Hayashi, M.; Sofuni, T.; Sado, T.*¹ and Ogiu, T.*¹: **Increased sensitivity of scid heterozygous mice to ionizing radiation**

Int. J. Radiat. Biol., **72**, 537-545(1997)

Scid マウス(ホモおよびヘテロ)および scid マウスと同じ遺伝的背景の野生型マウスを用いて放射線単回照射による致死効果、骨髄への影響を検討すると共に、これらのマウス由来の培養線維芽細胞を用いて検討を行った。また、紫外線および各種変異原(ブレオマイシン、マイトイシン C など 8 種)への感受性を検討した。さらに、全身照射マウスを用いて小核試験を行った。放射線照射に対し scid ヘテロマウスはホモに比べて感受性が低いが、野生型よりは感受性が高かった。培養した骨髄細胞においても同様の結果が得られ、この遺伝子が部分優性であることが示

唆された。一方、これらのマウス由来の培養線維芽細胞を用いて紫外線や各種変異原に対する感受性を検討したが、明らかな差異はみられなかった。さらに、放射線による小核誘発性においても差異はみられなかった。

Keywords: scid mouse, ionizing radiation, genotoxicity

*¹ 放射線医学総合研究所

*² 広島大学放射線生物医学研究所

Sasaki, Y.*¹; Izumiya, F.*¹; Nishidate, E.*¹; Ishibashi, S.*¹; Tsuda, S.*²; Matsusaka, N.*²; Asano, N.*³; Saotome, K.*⁴; Sofuni, T. and Hayashi, M.: **Detection of genotoxicity of polluted sea water using shellfish and the alkaline single-cell gel electrophoresis(SCG) assay: a preliminary study**

Mutat. Res., **393**, 133-139(1997)

水環境の汚染をモニターするため、ホタテ貝とアサリを用いて単細胞ゲル電気泳動法(コメット法)による DNA 損傷性を検討した。モデル化合物としては典型的な変異原である MNNG, EMS, MX, B[a]P を用いた。4 時間被験物質を含む海水で貝を処理し、コメット法を行った。全てのモデル化合物について統計学的に有意な DNA 損傷の誘発が観察された。さらに、予備的な検討により東京、大阪、神戸の汚染が予想される海水で貝を処理したところ、汚染の低いことが予想される八戸の海水と比較して、高い DNA 損傷性が観察された。今後さらに検討を重ねる予定である。

Keywords: COMET assay, water pollution, shellfish

*¹ 八戸高専

*² 岩手大学農学部

*³ 日東电工(株)

*⁴ 横浜市立衛生研究所

鄭然孫*, 市川和洋*, 林真, 内海英雄*: **in vitro 小核試験とコロニー形成阻害試験を用いた多摩川河川水の遺伝・細胞毒性評価**

水環境学会誌, **20**, 716-721(1997)

遺伝毒性の評価法として試験管内小核試験、細胞毒性の評価法としてコロニー形成阻害試験を東京多摩川の河川水に適用し、調査地点での汚染度の評価を試みた。その結果ほぼ予想通りの結果が得られ、ヒト由来細胞を用いるこれらの試験系が河川水の毒性評価に有用であることを示した。同一細胞を用いて毒性発現機序の異なる遺伝毒性と細胞毒性を同時に評価することは、簡便な上に毒性情報を多面的に得ることができる。従って、この方法は水環境保全のために総合的に毒性を評価可能な系として有用であると期待される。

Keywords: in vitro micronucleus assay, colony forming assay, water pollution

* 九州大学薬学部

Suzuki, T.; Hayashi, M.; Wang, X.; Yamamoto, K.*¹; Ono, T.*¹; Myhr, B. C.*² and Sofuni, T.: **A comparison of the genotoxicity of ethylnitrosourea and ethyl methanesulfonate in lacZ transgenic mice(MutaTMMouse)**

Mutat. Res., **395**, 75-82(1997)

我々は lacZ トランジエニックマウスを用い、エチル化剤の遺伝子突然変異および末梢血を用いる小核試験によって染色体異常誘発性について検討した。単回投与 48 時間後的小核誘発頻度は ENU(100 mg/kg) で 6.6%, EMS(400 mg/kg) で 3.3% を示し、いずれも強い小核誘発性が認められた。処理 7 日後の lacZ における突然頻度を調べた結果

果、対照群においては骨髓と肝臓で 2.0×10^{-6} および 4.6×10^{-6} であった。ENU(200 mg/kg)とEMS(400 mg/kg)処理群においては、骨髓で 3.4×10^{-5} および 1.8×10^{-5} と突然変異頻度が上昇したが、肝臓においては最高用量群でわずかな上昇が観察されたのみであった。誘発変異体についてDNA塩基配列を解析した結果、EMS誘発突然変異の75%はGC to AT transitionで、O⁶-ethylguanineに起因するものと考えられる。ENU誘発変異体ではAT塩基対に変異が起こっているものが多く、チミン付加体が重要な役割果たしていることが示された。

Keywords: transgenic mouse, micronucleus assay, lacZ mutation

*¹ 東北大学

*² Covance Inc.

Yamada, M., Espinosa-Aguirre, J. J.*¹, Watanabe, M.*², Matsui, K., Sofuni, T. and Nohmi, T.: Targeted disruption of the gene encoding the classical nitroreductase enzyme in *Salmonella typhimurium* Ames test strains TA1535 and TA1538

Mutat. Res., **375**, 9-17(1997)

S. typhimurium TA 1535とTA1538のclassical nitroreductase(CNR)遺伝子破壊株を作製しYG 7131およびYG 7127株と命名した。CNR遺伝子の破壊によりTA 1538株のニトロ還元酵素活性はほぼ完全に消失したが、TA 1535株のニトロ還元酵素活性は1/4程度減少したにすぎなかった。以上の結果から、*S. typhimurium*には少なくとも2種類のニトロ還元酵素が存在することが明らかになった。YG 7131株、YG 7127株を用いた変異原性試験の結果から2-nitronaphthaleneの代謝的活性化には、第2のニトロ還元酵素が関与することが示唆された。

Keywords: classical nitroreductase, metabolic activation, mutagenicity

*¹ Instituto de Investigaciones Biomedicas, U.N.A.M.

*² 国立がんセンター研究所

Yamada, M., Matsui, K., Sofuni, T. and Nohmi, T.: New tester strains of *Salmonella typhimurium* lacking O⁶-methylguanine DNA methyltransferase and highly sensitive to mutagenic alkylating agents

Mutat. Res., **381**, 15-24(1997)

S. typhimurium YG 7104株とYG 7108株は、アルキル化DNA損傷の修復に関与する ogg_{ST} 遺伝子あるいは ogg_{ST} と ada_{ST} を破壊した菌株である。YG 7104株とYG 7108株を用いてアルキル化剤を含む15種類の化学物質の変異原性を検索した。その結果、YG 7104株とYG 7108株はENNG, ENU, DMNなどのアルキル化剤に対し極めて高い感受性を示すことが明らかとなった。これらの菌株は、環境中に存在する微量のアルキル化剤による変異原性の検出および作用機構の検討に有用である。

Keywords: alkylating agents, Ames test, ogg_{ST}

Suzuki, M., Matsui, K., Yamada, M., Kasai, H.*¹, Sofuni, T. and Nohmi, T.: Construction of mutants of *Salmonella typhimurium* deficient in 8-hydroxyguanine DNA glycosylase and their sensitivities to oxidative mutagens and nitro compounds

Mutat. Res., **393**, 233-246(1997)

8-hydroxyguanine DNA glycosylase(8-OH-DG)は酸化的DNA損傷の一つである8-hydroxyguanineの修復酵素である。Ames testに用いられる*S. typhimurium* TA 1535,

TA 1975, TA 102株の8-OH-DGをコードする $mutM_{ST}$ 遺伝子を破壊した。遺伝子破壊によりTA 1535, TA 1975のneutral red+visible light, methylene blue+visible lightに対する感受性が高まった。またTA 102株では $mutM_{ST}$ 遺伝子の破壊により過酸化水素に対する感受性が高くなった。TA 1975の $mutM_{ST}$ 遺伝子破壊株(YG 3002)は4NQOに対し、親株よりも約30倍高い感受性を示した。これらの菌株は、酸化的DNA損傷を起こす変異原の高感度検出に有用である。

Keywords: oxidative DNA damage, 8-hydroxyguanine DNA glycosylase, $mutM_{ST}$

* 産業医科大学

Gruz, P., Matsui, K., Sofuni, T. and Nohmi, T.: Roles of the mutagenesis proteins SamA'B and MucA'B in chemically induced frameshift mutagenesis in *Salmonella typhimurium hisD3052*

Mutat. Res., **398**, 33-42(1998)

突然変異誘発を促進する蛋白質SamA', SamB, MucA', MucBによるフレームシフト型突然変異誘発の促進について、*S. typhimurium hisD3052*で起こる突然変異を指標に検討した。その結果、SamA' と SamB を同時に発現すると、MucA' と MucB を同時に発現した場合と同様の効率で、furylfuramide, aflatoxin B1, 1-nitropyrene, 1,8-dinitropyreneによる突然変異を促進した。興味深いことに MucB のみを高発現させると、1-nitropyrene, 1,8-dinitropyreneで起こる突然変異が促進された。他の3種類の蛋白質 SamA', SamB, MucA' を高発現した時には、変異の促進は観察されなかった。Mutagenesis proteinによるフレームシフト突然変異促進機構について討論した。

Keywords: Mutagenesis protein, frameshift

Suzuki, A.*¹, Kushida, H.*¹, Iwata, H.*¹, Watanabe*², M., Nohmi, T., Fujita, K.*¹, Gonzalez, F. J.*³ and Kamataki, T.*¹: Establishment of a *Salmonella* tester strain highly sensitive to mutagenic heterocyclic amines

Cancer Res., **58**, 1833-1838(1998)

Heterocyclic amineは焦げた食品中に存在する変異原であり、cytochrome P-450 1A2 (CYP1A2)とO-acetyltransferase(OAT)によって代謝活性化される。*S. typhimurium* TA1538株にヒトのCYP1A2遺伝子、NADPH CYP reductase遺伝子、*S. typhimurium*のOAT遺伝子を導入発現させTA1538/ARO株とした。TA1538/ARO株はIQ, MeIQに対し、親株のTA1538よりも極めて高い感受性を示した。新たに樹立した*S. typhimurium* TA1538/ARO株は、環境中のheterocyclic amineの高感度検出に有用である。

Keywords: heterocyclic amine, CYP1A2, O-acetyltransferase

*¹ 北海道大学薬学部

*² 国立がんセンター研究所

*³ 米国衛生研究所

Kim, S.-R. and Komano, T.*: The plasmid R64 thin pilus identified as a type IV pilus

J. Bacteriol., **179**, 3594-3603(1997)

Incl1プラスミドR64のpil領域の全塩基配列を決定した。塩基配列の解析により、R64の細線毛の形成に関与するpilIからpilVまでの14個の遺伝子の存在を認めた。8個のpil遺伝子についてはマキシセル法によりその産物を同定した。その内、pilNの産物はグロボマイシンを用い

た実験からリポプロテインであることが示された。コンピューターによる検索は、多くの R64 pil 遺伝子がIV型線毛の生合成やタンパクの細胞外への放出に関与するタンパク質群とアミノ酸配列間の相同意を持ったことが示された。特に、pilS と pilV 遺伝子の産物は、R64 細線毛の構造遺伝子である prepilin であり、pilU の産物は、prepilin peptidase として機能することが示唆された。これらの結果は、R64 の細線毛がIV型(グループ IVB)の線毛に分類されることを示す。R64 の液内接合における pilR, pilU 両遺伝子の関与は、それらの欠損株を作製することにより明らかにした。R64 の pil システム、*Vibrio cholerae* の tcp システム、病原性大腸菌の bfp システムの 3 種の IVB 型線毛形成システム間の比較は、それらが共通の遺伝子システムから進化してきたことを示す。

Keywords : R64 thin pilus, type IV pilus, conjugal transfer

* 東京都立大学理学部

Arai, K.*^{1,2}, Morishita, K.*¹, Shinmura, K.*¹, Kohno, T.*¹, Kim, S.-R., Nohmi, T., Taniwaki, M.*³, Ohwada, S.*² and Yokota, J.*¹: **Cloning of a human homolog of the yeast OGG1 gene that is involved in the repair of oxidative DNA damage**

Oncogene, **14**, 2857-2861(1997)

グアニン塩基の酸化によって生成される8-ヒドロキシグアニンの除去修復に関与するDNAグリコシラーゼをコードする酵母OGG1遺伝子のヒトホモログをクローニングした。ヒトEST(N55394)の予想されるアミノ酸配列が酵母OGG1タンパクの一部の配列と40%以上の一一致することが認められたので、このN55394クローンをプローブとして用い、完全長のcDNAクローンをHeLa細胞のcDNAライブラリーから単離した。このcDNAクローンは、酵母のOGG1タンパクと約38%の相同意を示す345アミノ酸からなるタンパクをコードしていた。このヒトホモログの発現は、酵母OGG1の場合と同様に大腸菌のmutM, mutY2重欠損株における自然突然変異を抑制した。この遺伝子は、ヒト染色体上3p26.2にマップされ、様々な組織で普遍的に発現されることが認められた。これらの結果は、今回分離されたこの遺伝子がヒトのOGG1遺伝子であり、ヒト細胞での酸化的DNA損傷の修復に関与することを強く示唆する。

Keywords : oxidative DNA damage, 8-hydroxyguanine, DNA repair

*¹ 国立がんセンター研究所

*² 群馬大学医学部

*³ 京都府立医科大学

Tani, M.*^{1,2}, Shinmura, K.*¹, Kohno, T.*¹, Shiroishi, T.*³, Wakana, S.*⁴, Kim, S.-R., Nohmi, T., Kasai, H.*⁵, Takenoshita, S.*², Nagamachi, Y.*² and Yokota, J.*¹: **Genomic structure and chromosomal localization of the mouse Ogg1 gene that is involved in the repair of 8-hydroxyguanine in DNA damage**

Mammalian Genome, **9**, 32-37(1998)

8-ヒドロキシグアニンは活性酸素により生成されるグアニン塩基の損傷で、GCからTAへの塩基置換を引き起こす。以前、我々はDNA中の8-ヒドロキシグアニンを除去するDNAグリコシラーゼ/リアーゼをコードする酵母OGG1のヒトのホモログであるhOGG1遺伝子を単離した。今回、OGG1のマウスホモログmOgg1をクローニングし、その産物の8-ヒドロキシグアニン特異的なDNAグリコシラーゼ/APリアーゼ活性について解析するとともに、そ

の遺伝子の構造と染色体上の位置を決定した。予想されるタンパクは、ヒトと酵母のOGG1タンパクと相同意な5つのドメインを持っていた。そのGST融合タンパクは、ヒトと酵母のOGG1タンパクと同様なグリコシラーゼ/リアーゼ活性、基質特異性および大腸菌mutM, mutY2重欠損株に対する自然突然変異抑制活性を示した。Ogg1遺伝子は、マウスの6番染色体にマップされ、7つのエクソンからなる全長約6kbの遺伝子であることが明らかになった。2つのDNA結合ドメインはエクソン4と5にコードされていた。これらの結果は、酸化的DNA損傷と発ガンの関係を明らかにするためのOGG1遺伝子の研究を容易にすると思われる。

Keywords : oxidative DNA damage, 8-hydroxyguanine, DNA repair

*¹ 国立がんセンター研究所

*² 群馬大学医学部

*³ 国立遺伝学研究所

*⁴ 実験動物中央研究所

*⁵ 産業医科大学

Kim, S.-R., Maenhaut-Michel, G.*¹, Yamada, M., Yamamoto, Y.*², Matsui, K., Sofunou, T., Nohmi, T. and Ohmori, H.*³: **Multiple pathways for SOS-induced mutagenesis in *Escherichia coli*: an overexpression of dinB/dinP results in strongly enhancing mutagenesis in the absence of any exogenous treatment to damage DNA**

Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **94**, 13792-13797(1997)

大腸菌染色体上5.5分に同定されたdinP遺伝子の産物は、誘発突然変異に関与する大腸菌UmuCタンパクとアミノ酸配列間の相同意を示す。この遺伝子は以前、lacの近傍8分にマップされ、その機能はUV照射した大腸菌に感染させた非照射ラムダファージの突然変異(λUTM; λuntargeted mutagenesis)に必要とされることが示唆されていたSOS遺伝子dinBと同一の遺伝子であることが明らかになった。新たに作製されたdinP欠失株は、以前に観察されたdinB:Mu変異と同様、λUTMの欠損を示し、その欠損は大腸菌の遺伝子としてdinPのみを持つプラスミドによって相補された。さらにdinP遺伝子の高発現は、UV照射やその他のDNA損傷を与える処理をしなくともF' lacプラスミド上の突然変異を強く促進した。特に、G6からG5への1塩基のフレームシフトは約800倍上昇した。また、この突然変異の促進はrecA, uvrA, umuDCなどに依存しなかった。これらの結果は、大腸菌はumuDCに依存した経路とdinB/Pに依存した経路の少なくとも2つのSOSによって誘導される突然変異の経路を持つことが確認された。

Keywords: SOS response, untargeted mutagenesis, frameshiftmutations

*¹ Université Libre de Bruxelles(Belgium)

*² 兵庫医科大学

*³ 京都大学ウイルス研究所

Connelly, J. C.*¹, Hasegawa, R., McArdle, J. V.*², Tucker, M. L.*³: **ICH Guideline Residual Solvents**

Pharmaceuticals, **9** (suppl.1), S1-S68 (1997)

医薬品中の不純物としての残留溶媒の安全性に関して、日米欧三極で合意されたガイドラインとして、その許容量(permitted daily exposure: PDE)が設定された。ここでは、許容量設定の基本的考え方、設定方法を解説すると共に、ガイドラインに取り上げられたすべての溶媒の全毒性試験結果、安全推定値の計算法とその結果、許容量をまとめた。

これは、ICH 残留溶媒ガイドラインにおける各溶媒の許容量設定のための引用文献としての位置づけとなっている。

Keywords : ICH, residual solvents, guideline

*¹ Toxicology Dept, SmithKline Beecham Pharmaceuticals

*² Analytical Sciences, SmithKline Beecham Pharmaceuticals

*³ Medicines Safety Evaluation, Glaxo Wellcome R&D

Kamata, E., Nakadate, M., Uchida, O., Ogawa, Y., Kanako, T. and Kurokawa, Y.: **Effects of Formaldehyde Vapor on the Nasal Cavity and Lungs of F-344 Rats.**

J. Environ. Path. Toxicol. Oncol., **15**, 1-8(1996)

ホルムアルデヒドの肺の肺胞表面活性物質や脂質の過酸化に対する作用を検討する目的で、雄F-344ラットに15.0または145.6 ppmのホルムアルデヒドを6時間1回鼻部暴露した。鼻粘膜と肺の非蛋白性SH化合物と鼻粘膜の過酸化脂質(LPO)は減少したが、肺中のLPOは増加した。また、肺胞表面活性物質の生成抑制が見られた。組織学的検査結果では、鼻甲介、気管や肺に扁平上皮の過角化、分泌過多や糜爛が見られ、145.6 ppmのホルムアルデヒド暴露は、呼吸器系に強い変化が見られた。

Keywords : Formaldehyde toxicity, Pulmonary surfactant, Lipid peroxide

Kamata, E., Nakadate, M., Uchida, O., Ogawa, Y., Suzuki, S., Kanako, T., Saito, M. and Kurokawa, Y.: **Results of a 28-Month Chronic Inhalation Toxicity Study of Formaldehyde in Male Fisher-344 Rats.**

J. Toxicol. Sci., **22**, 239-254(1997)

ホルムアルデヒドの慢性影響を調べる目的で、0.3, 2.0及び15.0 ppmのホルムアルデヒド混合空気を、F-344ラットに、6時間/日、5日/週のスケジュールで28ヶ月暴露した結果、15 ppm暴露した動物に、体重減少、血清トリグリセライドと肝臓重量の減少及び鼻粘膜の扁平上皮に乳頭腫と扁平上皮癌が見られた。しかし、他の暴露群ではこれらの変化は観察されなかった。しかし、暴露全群に鼻粘膜の過形成、過角化および扁平上皮化生が見られた。この試験結果からラットへの無毒性濃度が得られなかつたので、ベンチマークドーズを計算した結果、0.24 ppmであった。

Keywords : Formaldehyde, Inhalation toxicity study, Fisher-344 rat, Benchmark dose

岡田敏史、北島文、谷本剛：日本薬局方一般試験法「ビタミンA定量法」の改正について(1)

医薬品研究, **28**, 795-799(1997)

現行の『ビタミンA定量法』は、日局医薬品各条の「酢酸レチノール」ほか、5品目に適用されており、吸光度測定法による二つの方法(第1法及び第2法)が規定されている。この方法は、ビタミンAを含む一般の製剤に対しても応用することができるが、処方量が少ないと及び共存する薬物との分離の必要があることから、現行法を混合ビタミン剤中のビタミンAの定量分析に応用することは困難である。本研究においては、日局と外国薬局方(USP, EP, BP)におけるビタミンA定量法の相互比較を踏まえ、「ビタミンA定量法」の改正の方向を明らかにした。

Keywords: Vitamin A Assay, HPLC, Japanese Pharmacopoeia

Yomota, C., Matsumoto, Y., Okada, S., Hayashi, Y. and Matsuda, R.: **Discrimination limit for purity test of human**

insulin by capillary electrophoresis

J. Chromatogr. B, **703**, 139-145(1997)

インスリン中のA-21デスマミド体含量は純度試験の限度値で規定されており、USPやEPではHPLCによる方法が採用されている。キャピラリー電気泳動(CE)ではA-21デスマミド体と同時にB-3デスマミド体の分離も可能で、純度試験法として使用可能と考えられる。CEによるインスリンの純度試験における判別限界をFUMI理論により予測し、実際の繰り返し実験による結果と良く一致することを示した。CEのベースラインノイズの測定により、純度試験の判別限界を理論的に予測することが可能であることが明らかとなった。

Keywords : human insulin, capillary electrophoresis, purity test

四方田千佳子、岡田敏史：注射用デキストランのサイズ排除クロマトグラフィーによる分子量測定と分子量標準品に関する研究

分析化学, **46**, 979-985(1997)

注射用デキストランの分子量及び分子量分布をサイズ排除クロマトグラフィーにより測定した。プルランを標準とする通常の方法により得られた分子量値は、ヨーロッパ薬局方(EP)で採用された特殊な計算処理を必要とする方法で得た値とほぼ一致することを示した。プルランを標準品とすることにより注射用デキストランの分子量評価が可能と思われた。また、我が国のデキストラン製剤中には、EPの規格を下回るものがあることを示した。

Keywords: dextran for injection, size-exclusion chromatography, pullulan, dextran

Miyazaki, T., Yomota, C. and Okada S.: **Change in molecular weight of hyaluronic acid during measurement with a cone-plate rotational viscometer**

J. Appl. Polym. Sci., **67**, 2199-2206(1998)

回転粘度計を用いてヒアルロン酸溶液の粘度を測定した際、経時に粘度が低下する傾向を認めた。そこでこの現象が、ヒアルロン酸の特異的な絡み合い構造によるものか、あるいはヒアルロン酸分子鎖の切断による低分子化によるものかを、低角度レーザー光散乱法を用いた分子量測定により検討を行った。その結果、重量平均分子量が約250万のヒアルロン酸では0.5 rpmの軽微な回転負荷によっても分子鎖が切断され、負荷時間を増加させるほど分子量が小さくなっていた。また、負荷する回転数によって分子鎖の切断方式が異なり、比較的緩やかな回転負荷では末端切断が、速やかな回転負荷によっては中央切断が優位に引き起こされることが示された。一方、重量平均分子量が約100万のヒアルロン酸ではほとんど分子量の変化が認められず、初期の分子量が大きいほど切断が起りやすいという、既報の他の高分子の場合と同様の傾向が得られた。

Keywords : hyaluronic acid, degradation, molecular weight

谷本剛、前川京子、岡田敏史、渡辺典子*、陣ヶ尾政一*、目黒幸子*：日本薬局方L-トレオニンの薄層クロマトグラフ法による純度試験

医薬品研究, **29**, 284-289(1998)

日本薬局方L-トレオニンの純度試験の1項目である「他のアミノ酸」はろ紙クロマトグラフ法による試験方法が規定されているが、局方収載の他の10品目のアミノ酸では薄層クロマトグラフ法による試験方法が採用されている。また、薄層クロマトグラフ法が採用されているこれら10品目の試験の判定は標準溶液との相対比較によるものであり、不純

物としての「他のアミノ酸」の許容限度を再現性よく試験できるが、L-トレオニンのそれは試料溶液中の主スポット以外のスポットの有無によるものであり、不純物としての「他のアミノ酸」の限度を客観的に評価することは困難である。更に、ろ紙クロマトグラフ法は検出感度や試験所要時間などの点で薄層クロマトグラフ法より劣っている。このような科学的な観点とアミノ酸類の各モノグラフ間での試験方法の統一という観点から、L-トレオニンの当該試験法を薄層クロマトグラフ法による試験方法に改正するための検討を行い、改正試案を作成した。

Keywords: L-threonine, paper chromatography, thin-layer chromatography

* 味の素株式会社

谷本 剛, 田頭洋子, 北島 文, 岡田敏史, 鈴木英世, 佐竹元吉, 横田洋一¹, 斎藤晴夫¹, 伊藤亮一², 大竹俊一², 妹尾節哉²: 日本薬局方メシル酸ジヒドロエルゴトキシン標準品の新規設定

医薬品研究, 29, 290-298(1998)

メシル酸ジヒドロエルゴトキシン標準品の新規設定のために標準品原料の品質を4機関での共同検定により評価した。次の試験結果より本原料を初回日本薬局方メシル酸ジヒドロエルゴトキシン標準品(Control 971)とした。1) IRスペクトル: 2970, 2886, 1730, 1671, 1634, 1549及び 1043 cm⁻¹に特異吸収を認める。2) [α]_D²⁰: 14.04 ± 0.93°。3) 水分: 3.48 ± 0.58%。4) TLCによる純度: 4-6個の不純物質スポットを認めるが、各不純物質の量は0.1%以下で、全不純物質の量は0.5%以下。5) メシル酸ジヒドロエルゴトキシン含量: 100.4 ± 1.13%。6) メシル酸ジヒドロエルゴコルニン, メシル酸ジヒドロエルゴクリプチン, メシル酸ジヒドロエルゴクリスチンの相対含量: 各34.3 ± 0.98, 33.8 ± 0.46, 31.9 ± 1.36%。7) メシル酸ジヒドロエルゴクリプチンのα/β異性体比: 2.04 ± 0.05%。

Keywords: Dihydroergotoxine mesylate, JP Reference standard

*¹ 富山県薬事研究所

² ノバルティスファーマ株式会社

斎藤博幸: 脂質エマルションの表面膜構造と血漿アポリボ蛋白質の結合性に関する研究

膜(MEMBRANE), 22, 337-342(1997)

血漿リボ蛋白質モデル粒子としての脂質エマルションについて、表面構造のNMR、定常光あるいは時間分解蛍光異方性測定により、二分子膜(リポソーム)との詳細な比較を行った。その結果、エマルション表面膜はコアのトリグリセライトとの相互作用によって二分子膜とは著しく異なる構造を有すること、リボ蛋白質の構成脂質であるコレステロールの存在形態が二分子膜中と異なることなど、これまで不明であったエマルションの動的構造について新規な知見が得られた。また、エマルション表面に対する可溶性アポリボ蛋白質の結合性についても検討を行い、HDLの主蛋白質であるアポリボ蛋白質A-IやLPLの活性化因子であるアポリボ蛋白質C-IIの結合性がコレステロールによって大きく低下すること、レムナントレセプターのリガンドであるアポリボ蛋白質Eの結合はむしろコアの組成変化によって大きく減少することなどが明らかとなった。これらアポリボ蛋白質の結合性の変化をエマルションの表面膜やコアの構造変化の点から議論し、血漿リボ蛋白質の代謝過程における表面構造やコアの組成変化がもつ生理的役割について議論した。

Keywords: emulsions, cholesterol, apolipoproteins

Arimoto, I.^{*}, Saito, H., Kawashima, Y.^{*}, Miyajima, K.^{*} and Handa, T.: Effects of sphingomyelin and cholesterol on lipoprotein lipase-mediated lipolysis in lipid emulsions

J. Lipid Res., 39, 143-151(1998)

リボ蛋白質リバーゼ(LPL)は血管内皮表面に存在し、血中でのリボ蛋白質やエマルションのトリグリセライト加水分解を行う酵素であり、このLPLによるエマルションのリポリシスが、リボ蛋白質の表面膜構成脂質であるスフィンゴミエリンとコレステロールによってどのように影響されるかを *in vitro* で検討した。スフィンゴミエリンはリポリシスを著しく抑制し、その原因としてLPLの基質親和性と反応活性の両方が低下していることが反応速度論的解析から明らかとなった。一方、表面コレステロールはリポリシスに全く影響を与えたかった。また、LPLの活性化因子であるアポリボ蛋白質C-IIの表面結合量とリポリシス活性との間に相関は見られなかった。これらの結果は、スフィンゴミエリンを比較的多く含むVLDLでリポリシスの進行が穏やかであること、カイロミクロロン代謝過程での表面コレステロールの増加はリポリシスに影響を与えないことなど、体内でのリボ蛋白質の代謝挙動とよく一致し、リボ蛋白質代謝での表面脂質組成の重要性が示唆された。

Keywords: lipoprotein lipase, sphingomyelin, cholesterol

* 京都大学大学院薬学研究科

辻 澄子, 今井昌也¹, 三島郁子, 石光 進, 柴田 正, 伊藤善志男²: 比色定量法による食品中の亜硝酸根の試料溶液調製法の検討

衛生化学, 43, 305-310(1997)

加工食品中の硝酸根(NO₂)の比色定量法における試料調製法について除タンパク操作を中心に詳細に検討した。いくらのアルカリ抽出液に一定量の酢酸亜鉛及び水酸化ナトリウム溶液を添加することにより、水酸化亜鉛のコロイド性を利用した迅速かつ精度の良好な除タンパク操作が達成された。いくら、たらこ、ソーセージ、ハムにNO₂を5, 50あるいは70 μg/g 添加した試料を用いて添加回収実験を実施した結果、84.8%以上の回収率が得られた。本試料溶液調製法は食品中に残留するNO₂のジアゾ化反応に基づく比色法の試料溶液調製法として応用可能である。

Keywords: nitrite, colorimetry, deproteinizing agent

*¹ 大阪薬科大学

² 武庫川女子大学薬学部

中村優美子, 津村ゆかり, 外海泰秀, 柴田 正: ギムネマ・シルベスタを使用した健康食品中の有効成分ギムネマ酸の実態調査

食品衛生学雑誌, 38, 178-184(1997)

市販のギムネマ・シルベスタ葉或いはその抽出物を用いた健康食品21品目について、ギムネマ酸含量(ギムネマゲニンとして算出)の実態調査を行った。検体の熱湯浸出物に4 mol/L 塩酸を加えて遠心分離した。酸沈殿物のエタノール溶解物について、12%水酸化カリウム溶液次いで4 mol/L 塩酸で加水分解を行い、ギムネマ酸をギムネマゲニンに変換した。ODS カートリッジで精製後、HPLCによりギムネマゲニンを定量した。健康食品中のギムネマゲニン含量は、錠剤用の粒状固形物11品目で検出限界以下(10.5 μg/g 未満)～20.5 mg/g, 粉茶1品目で8.46 mg/g, ティーバッグ5品目で2.12～6.89 mg/g, 清涼飲料水2品目で検出限界以下(0.207 μg/ml)～4.41 μg/ml, チュインガムで0.029～0.054 mg/gであった。

Keywords: health foods, *Gymnema sylvestre*, gymnemagenin

Nakamura, Y., Tsumura, Y., Tonogai, Y., Shibata, T. and Ito, Y.: **Differences in behavior among the chlorides of seven rare earth elements administered intravenously to rats**

Fundam. Appl. Toxicol., **37**, 106-116(1997)

7種の希土類元素(REE)即ちY, 軽希土類(Ce, Pr), 中希土類(Eu, Dy), 重希土類(Yb, Lu)の塩化物をラットに静脈内投与し, 生体内での作用を調べた。まず2段階の用量で投与後1日目における7種REEの体内分布及び各臓器中のCa濃度を調べた。REEの主要な蓄積臓器は肝臓, 骨及び脾臓であった。Y及び中希土類投与時には, 高用量で脾臓及び肺臓へのREEの蓄積率は高くなり, 肝臓, 脾臓及び肺臓中のCa濃度は有意に上昇した。次にY(高用量), Pr, Eu, Dy, Yb(低用量)投与時の各臓器中のREE及びCa濃度の経時変化を調べた。REEは血中から1日以内に消失したが, 臓器中に長期間にわたり蓄積した。肝臓, 脾臓及び肺臓中のCa濃度はREE濃度とほぼ同様の経時的変化を示した。さらに, 7種REE低用量投与時の肝毒性を調べた。軽希土類投与時の強い肝毒性(脂肪肝, 黄疸, GOT, GPT活性の上昇)を示し, 特に投与3日後で明白だった。以上のことより, REEは生体内分布パターン, Ca蓄積作用, 肝毒性の発現の違いにより軽希土類, Y及び中希土類, 重希土類の3つに分類できることが示唆された。

Keywords: rare earth elements, calcium, hepatotoxicity

* 武庫川女子大学薬学部

中村優美子, 吉井公彦, 津村ゆかり, 外海泰秀, 柴田正: 4種農薬キントゼン, トリフルラリン, イソプロチオラン, ブタクロールの告示試験法への適応性と改良法に関する検討

食品衛生学雑誌, **39**, 51-59(1998)

GC-ECDで測定可能なキントゼン, イソプロチオラン, トリフルラリン, ブタクロールの, 告示試験法「BHC, DDT, アルドリン, エンドリン, ジコホール, ディルドリン, テフルトリン及びハルフェンプロックス試験法」(平成8年9月2日厚生省告示)への適用の可否について, 11種農産物について調べた。キントゼン及びトリフルラリンの回収率は全作物について良好であったが, イソプロチオラン及びブタクロールは全く回収されなかった。イソプロチオラン及びブタクロールはカラムへの吸着性が高く, 溶出が遅いことが判明したため, フロリジルカートリッジを使用することにより, 4種農薬を飼料から定量的に回収できる方法を作成した。

Keywords: GC-ECD, pesticides, bulletin method

Ishimitsu, S., Mishima, I., Tsuji, S. and Shibata, T.: **Formation of a hydroxyl radical from riboflavin sodium phosphate by photo-illumination**

Chem. Pharm. Bull., **45**, 2107-2109(1997)

フェニルアラニン存在下リン酸リボフラビンナトリウムを光照射することにより, 水酸化生成物としてo-, m-およびp-tyrosineの生成することを見出した。この水酸化はpH依存性で, pH4.0付近が最大であった。水酸化の生成量は窒素置換した時, スーパーオキシドディスクターゼやカタラーゼの添加により抑制された。チロシン類の生成量はヒドロキシルラジカルの捕捉剤であるヨウ化カリウム, 臭化カリウム, チオ尿素やギ酸ナトリウムの添加によ

り著しく抑制された。誘導結合プラズマ発光分析器により反応液中の鉄イオンや銅イオンを測定したところ検出されなかった。以上の結果から, 好気的条件下リン酸リボフラビンナトリウムの光照射によるヒドロキシルラジカルの生成は, 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: riboflavin sodium phosphate, photochemical reaction, hydroxyl radical

外海泰秀, 津村ゆかり, 中村優美子, 柴田正: **HPLCによる青果物中残留農薬及びその代謝物の一斉分析法**

食品衛生学雑誌, **39**, 13-25(1998)

UV及びFL同時検出HPLCによる青果物中残留農薬の一斉分析法について検討した。試料を MeCN 抽出し, アルカリ性食塩水と分配後 Bond Elut® SAX+PSA カートリッジでクリーンアップした。カラムからの溶出には5, 15, 50%アセトン/ヘキサン混液を用い, 1-3画分に分けて溶出することにより, 妨害成分の影響を少なくした。

Keywords: pesticide, HPLC, Bond Elut® SAX+PSA

津村ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 柿本芳久¹, 田中雄三², 柴田正: **農産物中のネオニコチノイド系殺虫剤ニテンピラム及びその代謝物の分析**

食品衛生学雑誌, **39**, 127-134(1998)

ネオニコチノイド系殺虫剤ニテンピラム及び代謝物CPMA, CPMFの分析法を検討した。試料をアセトン抽出した後, エクストレルートカラムで再抽出し, シリカゲルカラムで精製した。代謝物はCPFに変換した。CPMFからCPFを導く反応においてアセトンが存在すると回収率が低下した。ニテンピラムはHPLCで, CPFはGCで定量した。果実, 野菜, 米, 茶への添加回収率は, ニテンピラム66~85%(0.2~0.8 ppm 添加), 代謝物64~120%(茶中のCPMA除く, 0.5~2.0 ppm 添加)であった。検出限界はニテンピラムが0.0025~0.01 ppm, 代謝物が0.025~0.1 ppm であった。

Keywords: nitenpyram, metabolite, HPLC

¹ 神戸農林水産消費技術センター

² 大阪薬科大学

津村ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 柴田正: **玄米中の殺菌剤テクロフタラム及びその代謝物テクロフタラムイミドの分析**

食品衛生学雑誌, **39**, 142-147(1998)

イネ用殺菌剤テクロフタラム及び代謝物テクロフタラムイミド(イミド体)の分別定量法を検討した。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し, Sep-Pak Plus 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-ヘキサンでイミド体を溶出させ, 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。イミド体はDB-1を装着したGC-ECDを用いて定量した。テクロフタラムは無水酢酸を用いてイミド体に変換した後に定量した。本法による玄米からの回収率(0.2 ppm 添加)は, テクロフタラムが89.3±1.9%, イミド体が82.6±1.5%であり, 検出限界は試料中0.01 ppm であった。

Keywords: tecloftalam, metabolite, tecloftalam-imide

Ema, M., Harazono, A., Miyawaki, E. and Ogawa, Y.: **Effect of the day of administration on the developmental toxicity of tributyltin chloride in rats**

Arch. Environ. Contam. Toxicol., **33**, 90-96(1997)

tributyltin chloride(TBTCl)による奇形胎児発現の感受期について検討した。Wistarラットの妊娠7, 8または9日(精子発見日=妊娠0日)の間の1日に100 mg/kg、妊娠7日から15日の間の1日に200 mg/kgのTBTClを経口投与し、妊娠20日に母体を開腹して胚/胎児に対する影響を調べた。着床後の胚死亡率は妊娠7, 8及び9日の100及び200 mg/kg投与群、妊娠10及び11日の200 mg/kg投与群において有意に上昇した。TBTCl投与による骨格及び内部器官の奇形胎児発現頻度の上昇は認められなかった。しかし、外表奇形を有する胎児の発現頻度は妊娠8日の100及び200 mg/kg投与群、妊娠11, 12, 13及び14日の200 mg/kg投与群において有意に上昇し、妊娠13日の投与群で最も高かった。妊娠後半のTBTCl投与ではすべての奇形胎児において口蓋裂が観察された。これらの結果から、TBTClの発生毒性は投与時期によって発現様式及び感受性が変化し、TBTClによる奇形発現の感受期は妊娠8日と妊娠11~14日の二相性を示すことが明らかになった。

Keywords: tributyltin, developmental toxicity, teratogenicity

Ema, M., Harazono, A., Miyawaki, E. and Ogawa, Y.: **Developmental effects of di-n-butyl phthalate after a single administration in rats**

J. Appl. Toxicol., **17**, 223-229(1997)

dibutyl phthalate(DBP)の奇形胎児発現の感受期について検討した。Wistarラットの妊娠6日から16日(精子発見日=妊娠0日)の間の1日に1,500 mg/kgのDBPを1回経口投与し、妊娠20日に母体を開腹して胚/胎児に対する影響を調べた。着床後の胚死亡率は妊娠7及び11日を除く妊娠6日から16日の投与群で有意に上昇した。妊娠8, 9及び15日の投与で骨格奇形胎児、妊娠9日の投与で内部器官奇形胎児、妊娠15日の投与で外表奇形胎児の発現頻度が有意に上昇した。妊娠8日の投与では頸椎骨の奇形、妊娠9日の投与では頸椎及び腰椎骨及び肋骨の奇形及び腎孟拡張、妊娠15日の投与では口蓋裂が高頻度に認められた。これらの結果から、DBPの発生毒性は投与時期によってその発現様式及び感受性が変化し、胚の催奇形性に対する感受期は妊娠8~9日及び妊娠15日の二相性を示すことが明らかになった。

Keywords: dibutyl phthalate, developmental toxicity, teratogenicity

Ema, M., Miyawaki, E., Harazono, A. and Kawashima, K.: **Developmental toxicity evaluation of phthalic acid, one of the metabolites of phthalic acid esters, in rats**

Toxicol. Lett., **93**, 109-115(1997)

フタル酸エステルの代謝物の一つであるphthalic acid(PA)の発生毒性について検討した。Wistarラットの妊娠7日から16日(精子発見日=妊娠0日)に1.25, 2.5または5.0%のPAを含む飼料を与え、妊娠20日に母体を開腹して胚/胎児に対する影響を調べた。1日当たりの平均PA摂取量は1.25%投与群で1,021 mg/kg, 2.5%投与群で1,763 mg/kg, 5.0%投与群で2,981 mg/kgであった。いずれの群の妊娠ラットにも一般状態の変化は観察されなかった。2.5及び5.0%投与群において投与期間中に有意の母体重増加抑制及び飼料摂取量低下が観察されたが、1.25%投与群においては母体毒性は観察されなかった。着床後胚死亡率、生存胎児の数及び性比にはPA投与による変化は認められなかった。5.0%投与群における雄生存胎児体重及び尾椎化骨数の有意の低下が認められた。しかしながら、いずれのPA投与群においても奇形胎児の発現頻度の上昇は認め

られなかった。

Keywords: phthalic acid, developmental toxicity, teratogenicity

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K.: **Reproductive effects of butyl benzyl phthalate in pregnant and pseudopregnant rats**

Reprod. Toxicol., **12**, 127-132(1998)

butyl benzyl phthalate(BBP)の妊娠障害について偽妊娠ラットを用いて検討した。ラットの妊娠0~8日(精子発見日=妊娠0日)に250, 500, 750及び1,000 mg/kgのBBPを経口投与し、妊娠20日に母体を開腹して胚/胎児に対する影響を調べた。1,000 mg/kg投与群において着床前胚死亡率が有意に上昇し、750 mg/kg以上の投与量において着床後胚死亡率が有意に上昇した。更に、偽妊娠4日に子宮内膜を機械的に刺激することにより脱落膜反応を誘起したラットを用いて胚致死作用の発現機序について検討した。偽妊娠ラットの偽妊娠0~8日(膣栓発見日=偽妊娠0日)に同投与量のBBPを経口投与し、偽妊娠9日の子宮重量を脱落膜反応の指標として調べた。750 mg/kg以上の投与量において有意に低い子宮重量が観察され、BBPによる子宮における脱落膜反応の抑制が示された。これらの結果から、妊娠初期におけるBBPによる胚致死作用と脱落膜反応抑制作用とがよく一致することが明らかになり、BBPによる胚致死には脱落膜反応の抑制が関与していることが示唆された。

Keywords: butyl benzyl phthalate, early embryonic loss, uterine decidualization

Harazono, A., Ema, M., and Ogawa, Y.: **Evaluation of early embryonic loss induced by tributyltin chloride in rats: phase- and dose-dependent antifertility effects**

Arch. Environ. Contam. Toxicol., **34**, 94-99(1998)

ラットの妊娠0~3日又は妊娠0~4日にtributyltin chloride(TBTCl)を経口投与し、妊娠20日に開腹して胚-胎児に対する影響を調べた。妊娠0~3日にTBTClを投与した群の妊娠率は、16.3及び32.5 mg/kg投与群で37.5及び12.5%となり対照群(100%)と比べて有意に減少した。しかし、妊娠の成立した母体において黄体数、着床数及び生存胎児数には対照群とTBTCl投与群との間の差はみられなかった。これに対して、妊娠4~7日に投与した群では、16.3 mg/kg以上の投与量で対照群と比べて着床後胚死亡の有意な増加がみられた。以上のことから、TBTClは妊娠0~3日に投与したとき不妊を引き起こし、妊娠4~7日に投与したとき胚の着床後死亡を引き起こすことが明らかになった。

Keywords: tributyltin chloride, pregnancy failure, post-implantation loss

姉帯正樹*, 柴田敏郎, 嶋山好雄: **北海道産当帰の調製法と化学的品質評価(第1報)調製条件とショ糖および希エタノールエキス含量の変動**

Natural Medicines, **51**(4), 331-334(1997)

当帰のエタノールエキス含量とショ糖含量は乾燥法の違いにより変動し、自然乾燥品が最高値、温風(80°C)乾燥品が最低値を示した。そして、両含量の間には高い正の相関が認められた。収穫直後の温風(50°C以上)による強制乾燥は酵素の失活を招くため好ましくなかった。また、乾燥途中の温湯洗いはショ糖、希エタノールエキス含量の低下を來した。

Keywords: Angelicae Radix, sucrose, dilute ethanol soluble

extract

* 北海道立衛生研究所

梶村計志¹, 高木康博¹, 横山 浩¹, 熊谷健夫, 島山好雄, 米田該典²: *In Vitro* におけるマウスの抗体産生能に及ぼす*Astragalus*属植物の効果

大阪府立公衛研所報, 第35号, 203-205(1997)

8月と9月に掘り上げたナイモウオウギとキバナオウギを基原とする黄耆の抗体産生能に対する効果を12週令マウスを用いて調べた。その結果、9月下旬に収穫した両種の黄耆はいずれも抗体産生能を増強させる効果が認められた。また、8月上・下旬に収穫した株より9月下旬収穫のものが効果が有意に高かった。

Keywords: *Astragalus mongolicus*, *A. membranaceus*, antibody production

¹ 大阪府立公衆衛生研究所

² 大阪大学薬学部

熊谷健夫, 島山好雄, 逸見文子*, 芝野真喜雄*, 草野源次郎*: カンゾウの栽培および育種に関する研究(第1報)

Natural Medicines, 51(5), 403-407(1997)

Glycyrrhiza glabra(A), *G. uralensis*(B, C2系), *G. glabra* var. *glandulifera*(D)の3種4系統を用い、生育・収量・成分などを検討した。AとDは1株当たりのストロン長と根長が同等であり、地下部重が大きく、B,Cではストロン長が根長より大きく、生産効率が高かった。無機栄養の吸収量については、1株当たりN5.7, P₂O₅7.0, K₂O 9.6 gであった。グリチルリチン含量は2%前後で、局方Ⅶの規定値2.5%に満たなかった。

Keywords: T-R ratio, mineral nutrients, glycyrrhizin

* 大阪薬科大学

Shoyama, Y.*; Kawachi, F.*; Tanaka, H.*; Nakai, R.*; Shibata, T. and Nishi, K.: Genetic and alkaloid analysis of *Papaver* species and their F₁ hybrid by RAPD, HPLC and ELISA.

Forensic Science International, Vol.91, 207-217(1998)

ケシ属植物の内、ハカマオニゲシ *P. bracteatum* と *P. pseudo-orientale*との人為交配種の育成を行い、発現形質や染色体により両種の雑種であると判断された個体を、DNA 解析及びELISA 法、HPLC 法及びRAPD 法によるアルカロイド分析を行った結果、雑種であることが確認でき、微量の植物体で、これらの種・雑種の判別が可能であることを明らかにした。

Keywords: *Papaver* species, F₁ hybrid, Thebaine

* 九州大学薬学部

川村智子¹, 久田陽一¹, 奥田和代¹, 森 崇¹, 野呂征男¹, 田中俊弘², 酒井英二・官 秀慶³, 西部三省⁴: 生葉ゲンノショウコのフラボノイド成分による基原判別

Natural Medicines, 51(4), 298-303(1997)

ゲンノショウコの葉に含まれる3種のフラボノイド(kaemferol 3-O-rhamnoside, kaemferol 3-O-arabinoside-7-O-rhamnoside, kaemferol 3, 7-di-O-rhamnoside)を指標に、19種の*Geranium*属植物について検索を行った。その結果、これら3種のフラボノイドはゲンノショウコ以外では3種で確認できるだけであり、生葉基原植物の判定に有益な方法と考えられる。

Keywords: *Geranium*, Flavonoids

¹ 名城大学薬学部

² 岐阜薬科大学

*³ 長崎大学医学部

*⁴ 北海道医療大学薬学部

Yoshimatsu, K., Jaziri, M.*¹, Kamada, K.*² and Shimomura, K.: Production of diploid and haploid transgenic *Atropa belladonna* plants: Morphological traits and tropane alkaloid production

Belgian Journal of Botany, 130, 38-46(1997)

アグロバクテリウムの感染により二倍体および半数体のペラドンナ毛状根(形質転換根)を誘導し、生育とトロパンアルカロイド生産を調べた。さらに、毛状根から植物体を再生させ、その形態とアルカロイドについて調べた。半数体毛状根は、二倍体毛状根に比べて生育およびアルカロイド生産量が劣っていた。また、半数体毛状根から得られた再生植物体は、二倍体毛状根から得られた再生個体よりも植物ゲノム中に挿入されたT-DNAの発現により生じる異常形態が強く現れた。

Keywords: *Atropa belladonna*, *Agrobacterium*, transgenic plants

*¹ Universite Libre de Bruxelles, Laboratory of Plant Morphology

*² 筑波大学生物科学系

Bakkali, A. T.*¹, Jaziri, M.*¹, Ishimaru, K.*², Tanaka, N.*², Shimomura, K., Yoshimatsu, K., Homes, J.*¹ and Vanhaelen, M.*³: Tannin production in hairy root cultures of *Lawsonia inermis*

Journal of Plant Physiology, 151, 505-508(1997)

アグロバクテリウムの感染により *Lawsonia inermis* L. の毛状根(形質転換根)を誘導し、毛状根培養および非形質転換根培養によるフェノール性化合物生産について検討した。毛状根は、3種のポリフェノール、(+)-catechin, 1, 2, 3, 6-tetra-O-galloyl-β-D-glucose, 1, 2, 3, 4, 6-penta-O-galloyl-β-D-glucose を生産し、特に加水分解型タンニンである後者 galloylglucose 類2種を高含量で生産した。一方、非形質転換根においては、主として(+)-catechin(縮合型タンニンのユニット化合物)が検出され、galloylglucose 類の含量は非常に低かった。これらの結果から、アグロバクテリウムによる形質転換により通常の植物根とは異なった生合成能を示す培養根が得られることが判明した。

Keywords: *Lawsonia inermis*, hairy roots, tannin

*¹ Universite Libre de Bruxelles, Laboratory of Plant Morphology

*² 佐賀大学農学部

*³ Universite Libre de Bruxelles, Laboratory of Pharmacognosy and Bromatology

Ishikawa, K.*¹, Harata, K.*¹, Mii, M.*¹, Sakai, A.*², Yoshimatsu, K., Shimomura, K.: Cryopreservation of zygotic embryos of a Japanese terrestrial orchid(*Bletilla striata*) by vitrification

Plant Cell Reports, 16, 754-757(1997)

シラン(*Bletilla striata*)種子胚のガラス化法による超低温保存を検討した。無菌播種後10日目の種子胚を0.3 M ショ糖を含む培地で3日間前培養し、2 M グリセリンと0.4 M ショ糖を含む培地で15分間前処理後、0°Cで3時間ガラス化液(PVS2)処理を行って液体窒素中に保存した。急速解凍および1.2 M ショ糖を含む培地で20分間洗浄後、再培養を行った種子胚は、再生率60%で正常な植物体に生長した。

Keywords: *Bletilla striata*, cryopreservation, embryo

*¹ 千葉大学園芸学部

*² 札幌市

Omoto, T.*¹, Murakami, Y.*², Shimomura, K., Yoshihira, K.*³, Mori, K.*⁴, Nakashima, T.*¹, Tanaka, M.*⁴ and Ishimaru, K.*²: **Caffeic acid derivatives in Laminaceae and Boraginaceae plants**

Jpn. J. Food Chem., **4**, 11-16(1997)

シソ科植物26種およびムラサキ科植物4種のコーヒー酸誘導体である rosmarinic acid(RA), lithospermic acid(LA), lithospermic acid B(LAB)の生産についてHPLCにより分析した。RAは*Melissa officinalis*(4.7%),培養系の*Ocimum basilicum*(5.0%), LAはムラサキの根で4.7%, LABはタンジンで5.1%と最も高い含量であった。幾つかの植物の培養系との生産能の比較も併せて行った。

Keywords: caffeic acid derivative, Lamiaceae, Boraginaceae

*¹ 三栄源エフ・エフ・アイ

*² 佐賀大学農学部

*³ 東亜大学大学院

*⁴ 佐賀県農業試験研究センター

Nishikawa, K.*¹, Shimomura, K., Kayano, T.*², and Ishimaru, K.*¹: Shoot regeneration in root cultures of *Centaurium scilloides*

Plant Biotechnology, **14**, 117-118(1997)

リンドウ科植物*Centaurium scilloides*の約1年間, 1/2 MS 固形培地にて継代培養した shoot の根から不定根培養系を確立した。1/2MS および WP 固形および液体培地に植え付けた不定根から短期間に約10本の不定芽が形成されることを明らかにした。

Keywords: *Centaurium scilloides*, root culture, shoot formation

*¹ 佐賀大学農学部

*² 農業生物資源研究所

Nishikawa, K.*¹, Tanaka, N.*¹, Nakanishi, F., Shimomura, K. and Ishimaru, K.*¹: **Tannins and related phenolics in callus and root cultures of *Quercus glauca***

Plant Biotechnology, **14**, 123-125(1997)

Quercus glauca の callus および不定根培養系を確立し, 親植物の果実, 葉のフェノール化合物の含量をHPLCにより分析した。果実は, penta-galloyl-glucose が, 葉は catechin, 培養 shoot の葉および茎は catechin が主生産化合物で, 根はかなり低含量であった。Callus および不定根は, 1%以上のフェノール化合物生産が認められた

Keywords: *Quercus glauca*, tannin, callus

* 佐賀大学農学部

Tanaka, N.*¹, Shimomura, K., Kamiya, T.*², Kayano, T.*³ and Ishimaru, K.*¹: **Tannin and related compounds in callus and root cultures of *Cornus capitata***

Plant Cell and Molecular Biology Letters, **14**, 59-62(1997)

Cornus capitata のカルスおよび不定根培養による各種培養条件におけるフェノール性化合物の生産について検討した。カルスは, MS およびWP培地(0.1 mg/L 2,4-D, 0.1 mg/L BA)で, procyanidin 系化合物を, 不定根は, MS 培地(3 mg/L IAA)で gallotannin 類を生産することを明らかにした。

Keywords: *Cornus capitata*, tannin, callus

*¹ 佐賀大学農学部

*² 秩父小野田株式会社

*³ 農業生物資源研究所

Ando, M.*¹, Shimomura, K., Yamakawa, T.*² and Ishimaru, K.*¹: **Polyacetylene production in hairy root cultures of *Wahlenbergia marginata***

J. of Plant Physiology, **151**, 759-762(1997)

Agrobacterium rhizogenes 15834 および MAFF 03-01724 株により形質転換した *Wahlenbergia marginata* の毛状根を得た。毛状根は, ホルモン無添加の各種培地で良好に生育し, polyacetylene の glucose 配糖体である lobetyoline を主に生産した。生育と polyacetylene 生産の経時変化および最適ショ糖濃度を調べた結果, MAFF 03-01724 菌により得られた毛状根が, MS 培地において良好な生育と polyacetylene 生産を示し, 3% ショ糖を含む MS 培地が比較的良好な生育と polyacetylene 生産が得られた。

Keywords: *Wahlenbergia marginata*, polyacetylene, hairy root

*¹ 佐賀大学農学部

*² 東京大学大学院農学研究科

Ishimaru, K.*¹, Tasaki, S.*¹, Tanaka, N.*¹, Shimomura, K., Yamakawa, T.*² and Yoshihira, K.*³: **Polyacetyles in hairy root cultures of *Lobelia siphilitica***

Jpn. J. Food Chem., **4**, 85-88(1997)

北米原産のカナダサワギキョウの毛状根培養系を確立し, 各種培地における生育と polyacetylene 類の生産について検討した。毛状根は, polyacetylene, 特にグルコース配糖体である lobetyoline および lobetylolinine が高含量で生産し, 照明下で培養すると chlorophyll を蓄積した。確立した一つのクローンは, これまで調査したキキョウ科植物の培養体中最高の lobetyoline 生産(6.2%, B5 培地, 6 週間)を示した。

Keywords: *Lobelia siphilitica*, polyacetylene, hairy root

*¹ 佐賀大学農学部

*² 東京大学大学院農学研究科

*³ 東亜大学大学院

Ando, M.*¹, Shimomura, K., Yamakawa, T.*² and Ishimaru, K.*¹: **Plant regeneration from *Wahlenbergia marginata* hairy root cultures**

Plant Biotechnology, **15**, 39-40(1998)

Agrobacterium rhizogenes 15834 菌株により誘導した *Wahlenbergia marginata* の毛状根は, polyacetylene 類を生産し, MS および WP 固形あるいは液体培地にて, 照明下培養すると, 不定芽を形成することを明らかにした。得られた再生植物体は, 非形質転換体と異なり, 試験管内で, 多数の葉を形成, 1~2ヶ月で開花, 花弁数が, 3~5枚であった。また, polyacetylene 類の含量は, 栽培親植物に近い値であった。

Keywords: *Wahlenbergia marginata*, polyacetylene, regeneration

*¹ 佐賀大学農学部

*² 東京大学大学院農学研究科

Kunishi, M.*¹, Shimomura, K., Takido, M.*¹ and Kitanaka, S.*²: **Growth and ginsenoside production of adventitious and hairy root cultures in an interspecific hybrid ginseng(*Panax ginseng* × *P. quinquefolium*)**

Natural Medicines, **52**, 1-4(1998)

オタネニンジンとアメリカニンジンの種間交配種の不定根および毛状根について生育とジンセノシド含量に関する検討した。交配種の不定根は3週間の培養で、13倍に新鮮重量が増加した。毛状根は、オーキシンを添加した培地で、40倍に増殖し、これまで報告された例より良好な増殖であった。総ジンセノシド含量は、0.63%で、親植物よりは、低かった。

Keywords: *Panax* interspecific hybrid, ginsenoside, root culture

* 日本大学薬学部

Sasaki, K.*¹, Udagawa, A.*², Ishimaru, H.*², Hayashi, T.*², Alfermann, A. W.*³, Nakanishi, F. and Shimomura, K.: **High forskolin production in hairy roots of *Coleus forskohlii***

Plant Cell Reports, **17**, 457-459(1998)

Coleus forskohlii の毛状根培養系を確立し、生育およびforskolin 生産に関して検討を行った。各種基本培地における forskolin 生産を検討した結果、Woody Plant 培地が最適で、5週間培養後、100 ml 三角フラスコ当たり約1.3 mg であった。経時変化を調べた所、2週目から5週目にかけて急速に増殖し、5週目にこれまで報告された中で最高の forskolin 生産(100 ml 三角フラスコ当たり約1.6 mg) が得られた。

Keywords: *Coleus forskohlii*, forskolin, hairy root

*¹ 青森大学工学部

*² ライオン(株)生物科学センター

*³ Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Kohjyouma, M., Iida, O., Yoshida, N.*¹, Hatakeyama, Y., Satake, M., Sekita, S. and Kohda, H.*²: **Random Amplified Polymorphic DNA Analysis of *Angelica acutiloba* and Its Varieties**

Natural Medicines, **52**(2), 130-134(1998)

生薬「当帰(トウキ)」の基原植物 *Angelica acutiloba* var. *acutiloba* Kitagawa 及び関連植物の Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) 分析による分子遺伝学解析を行った。RAPD 分析の結果、実験に用いた20種全てのプライマーにおいて明らかな多型が認められた。多型の得られたプライマーのほとんどにおいて *A. acutiloba*, *A. acutiloba* var. *iwakensis*, *A. acutiloba* var. *sugiyamae* がほぼ同様なバンドパターンを示した。しかしながら、プライマー No.21において、*A. acutiloba* には存在するが、*A. acutiloba* var. *sugiyamae* にはないメジャーバンドが1.1 kbp に認められ、*A. acutiloba* と *A. acutiloba* var. *sugiyamae* を区別する場合のマーカーバンドとして利用しうる可能性を確認した。

Keywords: *Angelica acutiloba*, RAPD, PCR

*¹ 北海道大学薬学部

*² 広島大学医学部

武田 寧, 小嶋茂雄, 外岡弘道*: ICH-3 の成果と課題
:品質に関する成果と進展/合成医薬品の品質

月刊薬事, 38, 39-46(1996)

平成7年11月に横浜で開催されたICH-3における化学合成医薬品の品質分野での調和の成果について紹介した。

まず、安定性試験に関しては、光安定性試験ガイドラインの調和の状況を紹介するとともに、一変申請時に必要とされる安定性試験に関するガイドラインについては、日本の規制当局側とEUを中心とする製薬業界側の見解が対立し、当面合意の見通しが立たないととの判断からガイドラインの検討が凍結されるに至った経過について説明した。

次に、分析法バリデーションに関しては、評価方法に関するテキストが横浜での会議においてステップ2に達したことを紹介し、ステップ2ドラフトの内容についても簡単に説明した。また、不純物ガイドラインに関しては、製剤の不純物ガイドラインが横浜での会議においてステップ2に達したことを報告するとともに、残留溶媒ガイドラインの調和の状況について紹介した。

Keywords: ICH-3, quality guidelines, harmonization

*三共(株)

小嶋茂雄: 第十三改正日本薬局方/一般試験法(理化学的試験法)について

医薬品研究, 27, 492-504(1996)

平成8年4月に公布された第十三改正日本薬局方においては、一般試験法についていくつかの重要な改正が行われたが、その要点について解説した。

まず、薬局方全体に及ぶものとして、通則の改正に伴って、規定度Nなどの非SI単位の使用をやめて、SI単位系にはほぼ全面的に移行したことが挙げられる。また、粉末X線回折測定法を新しく収載するとともに、多数の試験法について改正を行った。中でも、エンドトキシン試験法への比濁法および比色法の導入、含量均一性試験法および重量偏差試験法の全面改正、輸液用プラスチック試験法のプラスチック製医薬品容器(参考情報)およびプラスチック製医薬品容器試験法への抜本的な改正、試薬・試液の名称のIUPAC命名法に準じた名称への変更などが重要な改正点である。さらに、新しく設けられた参考情報のセクションに、培地充てん試験法、プラスチック製医薬品容器、分析法バリデーション、保存効力試験法を収載した。

Keywords: Japanese Pharmacopoeia (13th ed.), revision of general methods, adoption of SI units

小嶋茂雄: 不良品等発生防止に関する検討会中間報告について

医薬品研究, 28, 310-316(1997)

平成7年末に、医薬品へのガラス片や虫などの異物の混入による回収事例が相次ぎ、マスコミにも繰り返して報道されて国民の間に不安の声が高まつたことから、医薬品への異物混入の実態の正確な把握を基に、不良医薬品の発生防止対策をまとめる場として、平成8年1月に厚生省薬務局監視指導課長の下に「不良品等発生防止に関する検討会」が設けられた。中間報告は、検討会に与えられた課題のうち、注射剤の異物混入に関する当面の緊急対策について取りまとめたものである。

本報では、検討会設置に至った背景や検討会における審議経過について説明するとともに、この中間報告の内容について解説を行っている。中間報告には、医薬品の品質管理は第一義的に製薬企業の責任であることが明記されるとともに、容器の受け入れから製品の検査に至る各工程にお

ける留意事項ならびに従業員の教育訓練や作業所の防虫対策などに関する留意事項が具体的に指摘されており、注射剤の異物混入対策についてのマニュアルといったものとなっている。

Keywords: drug products, contamination with foreign matters, measures for prevention

小嶋茂雄: 不良品等発生防止に関する検討会最終報告について

ファームテクジャパン, 13, 1565-1580(1997)

「不良品等発生防止に関する検討会」では、注射剤の異物混入に関する当面の緊急対策について中間報告を行ったのち、引き続いて全般的な不良品発生防止対策について検討を進め、平成9年10月に最終報告を取りまとめた。

本報は、ファームテクジャパン特集号「医薬品の異物混入防止対策マニュアル」の一部として、この最終報告の内容について解説したものである。最終報告では、①医薬品の製造/輸入販売業者は、危機管理体制の整備を含む全社的な品質保証体制の整備に基づいて、不良品の発生防止に取り組むべきであるとの基本的な観点が述べられるとともに、②不良品の未然防止に向けての製薬企業における内部監査の実施、製造工程のバリデーションの結果の活用、原料や資材の製造業者における製造管理及び品質管理の状況の確認に関する提言がまとめられている。さらに、③医薬品の製造工程において不良品の発生を防止するための具体的な注意事項がまとめられているなど、報告全体を通して総合的な不良品発生防止対策の具体化が図られている。

Keywords: drug products, contamination with foreign matters, measures for prevention

小嶋茂雄: 医薬品の品質に関する国際調和—ICH専門家会議に参加して—

岐阜県病院薬剤師会誌, 25, 2-16(1997)

ICHの目的や組織、これまでに得られた成果などについて、化学合成医薬品の品質分野における種々のガイドラインの調和の状況を中心に紹介するとともに、ICHの活動に参加する中で感じた点についても若干触れた。

化学合成医薬品の品質分野では、平成9年7月にベルギーのブリュッセルで開催されたICH-4までに、これまで検討されてきた安定性試験、分析法バリデーション、不純物規格に関する8つのガイドラインについてはすべて最終合意に達し、残る規格及び試験方法のガイドラインについても基本的合意の段階に達した。これらのガイドラインについて、その要点を紹介するとともに、我が国においてもこれらのガイドラインが次々に実施される段階を迎えており、こうした実行段階に対応できる体制を早急に整える必要があることを述べた。

Keywords: ICH, quality guidelines, harmonization

小嶋茂雄: 原薬および製剤の不純物に関するICHガイドライン(上), (下)

ファームテクジャパン, 14, 331-336(上), 525-536(下)(1998)

ICHの原薬と製剤の不純物ガイドラインについて解説した。これらのガイドラインは、新医薬品の承認申請の際に、不純物に関して品質ならびに安全性の両側面からどういった事項について検討し、どんな資料を提出すべきか、また、どのような規格を設定すべきかに関して規定したものである。我が国においては、従来、『試料溶液を100倍に希釈した液を標準溶液として、薄層クロマトグラフ法により試験

を行うとき、試料溶液から得られる不純物のスポットは標準溶液から得られる原薬のスポットよりも濃くない』といった規格が中心となってきた。この規格では、規定の検出法により、1/100の量の原薬のスポットより濃いスポットを与えない不純物については、化学構造は不問のまま規格に適合することになるが、本ガイドラインでは、0.1%以上含まれる不純物については構造決定を行い、個別に規格を設定すること規定されているため、今後はこうした規格の設定は許されなくなる。また、不純物の安全性に関しては、設定した不純物の規格について、その限度値のレベルでの安全性の確認が十分かどうか考察することと規定されている。

Keywords: ICH impurities guidelines, drug substances, drug products

青柳伸男：WHO 及び我が国の生物学的同等性試験

医薬品研究, 28, 355-369(1997)

後発医薬品の生物学的同等性試験に関して、WHOの試験と比較し、我が国のガイドラインの特徴、即ち、被験者の選択及び生物学的同等性を裏付ける手段として溶出試験を積極的に活用する理由、低胃酸被験者あるいは医薬品適用集団を対象とする試験を要求する理由等について紹介した。また、動物試験の廃止、検出力法から信頼区間法への変更の理由等について述べた。

Keywords: bioequivalence, bioavailability, dissolution test

青柳伸男：製剤の試験法

調剤と情報, 3, 1549-1552(1997)

日本薬局方において含量均一性及び重量偏差試験を変更した理由は、本試験を治療の質を保証することにあると位置づけ、消費者危険率を一定にし、試験の精度を上げるためにすることを述べた。また、日本薬局方の溶出試験の主目的は生物学的非同等性を防ぐことにあり、そのためには胃酸度の個人差を考慮して試験液の選択が大切であることを紹介した。

Keywords: content uniformity, weight variation, dissolution test

鹿庭なほ子：新薬の規格の中の試験法に用いられる分析法バリデーション

ファームテクジャパン, 13(No. 10), 1403-1413(1997)

ICHの分析法バリデーションのガイドラインについて、その適用範囲、定義、基本的な方法及び各分析能パラメータについて、分かりやすく解説を行った。

Keywords: ICH, validation, analytical procedure

吉岡澄江：ICH レポート1. 光安定性試験ガイドライン

ファームテクジャパン, 13, 927-933(1997)

日米欧三極医薬品承認審査ハーモニゼーション国際会議で最終合意に達した「光安定性試験ガイドライン」について、試験に用いる光源など主要な点を中心にその設定の根拠を記した。

Keywords: photostability testing, ICH guidelines, light source

吉岡澄江：調剤時に知っておきたいわかりやすい製剤の知識 [11] 製剤の安定性

調剤と情報, 11, 1415-1417(1997)

薬局の調剤において問題となる製剤の安定性について、開封後の安定性も含めて解説した。

Keywords: stability, dosage form, shelf-life

Izutsu, K., Yoshioka, S., Kojima, S: **Phase separation and crystallization of components in frozen solutions: effect of molecular compatibility between solutes.**

ACS Symposium Series 675, 109-118(1997)

タンパク質凍結乾燥製剤の添加剤として用いられる高分子の凍結溶液中での相分離について解説した。各高分子が凍結溶液中でアモルファス状態となる場合と結晶化が起こる場合について熱分析による物性検討法を紹介し、各添加剤が持つ安定化作用との関連について考察した。

Keywords: phase separation, freeze-concentration, protein formulation

石橋無味雄：医薬品に残留する有機溶媒のクラス分け及び限度値について

食品衛生学雑誌, 38(2), J-177-178(1997)

日本EUの間で行われている「医薬品の製造承認に関する国際調和会議(ICH)」の議題として取り上げられている「医薬品に残留する有機溶媒の規制について」の目的、基準値設定の方法等について解説した。

Keywords: drug, ovi, solvent in pharmaceutical products

石橋無味雄：分析に用いる溶媒の選択について—日本薬局方での考え方—

食品衛生学雑誌, 38(2), J-194-195(1997)

日本薬局方(JP)の一般試験法及び医薬品各条などで用いる試薬に関するJPの基本方針とその考え方について解説した。特に有害試薬の使用制限に関する考え方について、有機溶媒を中心とした実験者の安全性及び環境への影響について述べ、JPの現状を説明した。

Keywords: JP, reagent, solvent

最所和宏, 石橋無味雄：医薬品の迅速分析法 一カルシウム拮抗薬—

月刊薬事, 40(1), 197-203(1998)

厚生省医薬安全局監視指導課の研究班において国立医薬品食品衛生研究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カルシウム拮抗薬の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を解説した。

Keywords: calcium antagonist, rapid analysis, HPLC

中原雄二：乱用される薬物とその危険性、有害性

スポーツと健康, 29, 26-29(1997)

乱用薬物に関し、スポーツと健康の観点に基づき、以下の項目別にその危険性と有害性を解説した。

1 はじめに

2 亂用される薬物(依存性薬物)

3 依存性薬物の危険性・有害性

(シンナー、トルエン、覚せい剤、コカイン、大麻、麻薬、幻覚剤)

4 その他の薬物

(催眠剤、ハーバルエクスター、アナボリックステロイド)

Keywords: drug abuse, drug dependence, toxicity

早川堯夫：バイオテクノロジー医薬品の特性解析、品質・安全性評価

第4回日中薬品分析セミナー論文集, TIDC-JICA PROJECT'97, 1-88(1997)

わが国におけるバイオ医薬品の使用状況、国内での規制

状況、国際調和活動、バイオ医薬品の品質・有効性・安全性確保に必要な要素、目的生産物の構造解析法/特性解析法/品質評価法、理化学的手法/免疫化学的手法/生物学的手法の特徴と活用例、外来性有害因子/製法関連不純物/目的物質関連不純物の種類と試験法、規格及び試験方法、安定性試験などについて、最新の知見をもとに詳述、解説した。

Keywords: biotechnology products, characterization, quality control

川西 徹：細胞内カルシウムイオンのイメージング

組織細胞工学, 24, 4-7(1998)

蛍光プローブと顕微鏡画像解析装置を用いる細胞内カルシウムイメージングは、プローブの使用法の考案、および画像化機器として高速走査が可能な共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡を開発することにより、細胞内膜系のカルシウムチャネルの開口を捉えることが可能になるまでに進化した。

Keywords: calcium, fluorescent probe, imaging

新見伸吾、押澤 正、横田椅江、早川堯夫：トロンボモジュリンの抗凝固作用とその臨床応用

医薬品研究, 28, 863-873(1997)

現在抗血栓薬として開発が進められているトロンボモジュリン(TM)について、主に機能及びそれに関与する構造、更に血栓モデル動物を用いた結果から期待される臨床効果に関する最近の知見について紹介した。また、今後予想されるTMの医薬品としての評価を適正に行うに当たって基礎となる力値の定義の統一や標準的力値測定法の確立に関する筆者の取り組みの現状についても紹介した。

Keywords: thrombomodulin, anticoagulant activity

藤野廣春、鈴木正一、吉崎正雄、佐竹元吉、神田博史：イトヒメハギの栽培研究 I.種子発芽と種子の保存方法

Natural Medicines, 52, 97-102(1998)

イトヒメハギは局方生薬オニジ(遠志)の基原植物であるが、中国での野生植物の採取に依存しており、栽培方法が確立していない植物である。このため、栽培方法を確立し、生薬の安定供給に寄与するために本研究を行い、種子に関する発芽条件及び保存条件を明らかにした。

Keywords: *Polygala tenuifolia*, Polygara root, seed germination

鈴木正一、藤野廣春、吉崎正雄、佐竹元吉、神田博史：イトヒメハギの栽培研究 II.播種密度と収量との関係

Natural Medicines, 52, 187-190(1998)

イトヒメハギは播種密度は5a当たり50g播種した区が、5g区に比べて収量は増加するが、個体は小さくなる。生薬として調製されたものの品質は5g区が良い結果を得た。

Keywords: *Polygala tenuifolia*, Polygara root, cultivation

新谷英晴：種々生物指標に拠る高圧蒸気滅菌での滅菌保証の比較

防菌防黴, 25, 703-709(1997)

医療用品の滅菌バリデーション並びに滅菌保証はISO TC/198で議論されている。1997年7月より医療用具滅菌バリデーションは開始される。滅菌バリデーション(案)はTC 198の各規格を準拠して作成されている。バリデーション研究並びに日常管理での滅菌保証に生物指標が用いられている。生物指標にはペーパーストリップ型、培地含有型、酵素型生物指標、アンプルシール型生物指標等がある。用途により適宜これらの生物指標が選択して使用される。

ここでは種々の生物指標を用いて生残曲線を作成し、バリデーション研究と日常管理の滅菌保証の両方で使用が可能なペーパーストリップ型生物指標との相関を調べた。酵素型生物指標とペーパーストリップ型生物指標との間で良い相関が得られた。それゆえ酵素型生物指標は単独で日常管理での滅菌保証に使用できることになる。

Keywords: Biological indicator, Sterility assurance, Sterilization validation

Ichikawa, I.* and Matsumura, T: Recent circumstances of standards for indoor air environment

Jpn. J. Toxicol. Environ. Health, 43, 162-173(1997)

最近、社会問題となっている sick building syndrome (SBS)の発生経緯、日本における室内空気環境(ビル管理办法を含む)に係わる法制度の整備状況、世界各国の室内環境及び労働環境基準値、また、最近、注目されている VOC や HCHO 等の世界各国の基準やガイドライン等を解説した。

Keywords: indoor environment standards, SBS, indoor pollutants

*国立公衆衛生院

松村年郎：室内環境から発生する化学物質について

臨床環境医学, 6, 79-84(1997)

sick building syndrome や化学物質過敏症等の発症に VOC や HCHO が大きく関与していることが指摘されている。本論文では建材や壁装剤等からどの様な種類の VOC が、また、その放散量はどの程度を示すのか、著者らの報告及び内外の文献等を参考に解説した。

Keywords: VOC, HCHO, emission rate

豊田正武：残留農薬・動物用医薬品および環境化学物質

臨床栄養, 92(5), 487-492(1998)

食品中の農薬の残留実態、動物用医薬品の残留実態を国内産食品と輸入食品とに分けて示すとともに、近年話題となり食品中にも混入の可能性のある内分泌搅乱物質について、ダイオキシン類その他の例を紹介した。

Keywords: pesticide residue, veterinary drug residue, dioxins

佐々木久美子、豊田正武(残留農薬迅速分析法開発検討委員会)：残留農薬迅速分析法の解説 (2)

食品衛生研究, 47(6), 27-41(1997)

平成9年4月に厚生省生活衛生局が通知した残留農薬迅速分析法の開発にあたって実施した108農薬の添加回収試験結果等について解説した。

Keywords: pesticide residue, recovery test

合田幸広：食品中の生理活性物質

家庭薬研究, 17, 4-21(1998)

食品中の生理活性物質として、負の活性を持つもの(天然有害化学物質等)と、正の活性を持つもの(第三次機能成分、天然添加物として用いられる成分等)に分け、概説した。また、食品由来の抗アレルギー活性物質について紹介した。

Keywords: biologically active natural compounds, functional food, anti-allergic compounds

石綿 肇：発色のための魚肉への一酸化炭素の違法使用

食品衛生学雑誌, 39, J12-J13(1998)

一酸化炭素はヘモグロビンやミオグロビンと反応して色

素を安定化させる機能を有する。この反応を利用して、魚肉の見かけ上の鮮度保持が行われている場合がある。魚肉への一酸化炭素の違法使用に関して、反応機構、食品衛生法による基準、検査法などについて解説を加えた。

Keywords: fish meat, carbon monoxide, exposure

石綿 肇：**第七版食品添加物公定書における有害試薬(溶媒を含む)に関する基本方針と対策について**

食品衛生学雑誌, 38, J193(1997)

第六版食品添加物公定書の改訂において、有害試薬(溶媒を含む)を排除する方向で検討されている。その基本方針と対策について解説した。

Keywords : Japanese Standards for Food Additives, harmful reagent, substitution of reagent

山田 隆：**食品添加物**

臨床栄養, 92, 482-486(1998)

特集「多様化する食品とその安全性」の中の一つとして、食品添加物が定められた使用法を守れば安全なものであることについてわかりやすく解説した。

Keywords: food additives, standards for use

三瀬勝利：**遺伝子組換え飼料の安全性とその概要**

畜産の研究, 51, 743-750(1997)

農林水産省でなされている遺伝子組換え飼料の安全性の確認の現状と、安全性が確認された飼料の紹介をした。殺虫毒素遺伝子や除草剤耐性の遺伝子が導入された菜種や玉蜀黍が多い。

Keywords: Recombinant DNA technology, feed safety regulation, crystal toxins

三瀬勝利：**日本薬局方微生物試験法の進捗状況**

防菌防微誌, 25, 399-404(1997)

JP13第一追補で改訂された滅菌法などを含め、微生物試験法全体の解説を行った。併せて将来の予定についても少しふれた。

Keywords: Microbial Tests, JP13 suppl.1

三瀬勝利：**国際化の中の薬局方・微生物試験法**

クリーンテクノロジー, 8, 56-57(1998)

国際調和とのからみで、現在進捗中の薬局方微生物試験法や将来収載されるかも知れない試験法について簡単な解説を施した。

Keywords: Harmonization of microbial tests in pharmacopoeia, JP13 suppl.1

三瀬勝利、芦田勝朗、寺門誠致、山本茂貴、熊谷 進、田中健治、高鳥浩介、今井美津子：**UJNR有毒微生物部会第32回日米合同部会**

食品衛生研究, 48(5), 9-30(1998)

1997年11月に東京、大阪及び京都で行われたUJNR有毒微生物部会のbusiness meetingと科学部会の内容等について紹介した。

Keywords: Toxic microorganisms, UJNR

三瀬勝利：**食中毒の現状。食中毒はなぜ減少しないのか**

Medical Technology, 26(7), 10-14(1998)

日本における食中毒の現状と対策について解説した。腸管出血性大腸菌O157やサルモネラ食中毒に重点をおいて紹介した。

Keywords: Food-poisoning bacteria, enterohaemorrhagic

Escherichia coli, Salmonella

Tanamoto K.: **Induction of prostaglandin release from macrophages by bacterial endotoxin**

ed. by Clark, V.L., and Bavoil, P.M. in: *Bacterial Pathogenesis. Selected methods in Enzymology*, 457-466 (1997)

エンドトキシン作用におけるプロスタグランдинの役割について論ずると共に、特にエンドトキシンの作用による種々のマクロファージ系細胞からのプロスタグランдин産生について、精製・測定に関する実験法の解説を行った。

Keywords: endotoxin, prostaglandin, macrophage

小沼博隆：**サルモネラ食中毒と鶏卵**

Medical Technology, 25, 839-843(1997)

鶏卵によるサルモネラ(*Salmonella Enteritidis*; SE)食中毒の海外ならびにわが国における発生状況、鶏卵の流通経路と流通実態、鶏卵のSE汚染状況およびSE食中毒の防止対策等について解説した。

Keywords: grading and packing center, in egg, on egg

小沼博隆：**新しい試験法の標準化と導入**

日食微誌, 14, 83-90(1997)

わが国では未だ確立されていないところの新しい試験法を標準化し、公定法として承認を受けるまでのプロセスについて、AOAC International の組織と役割、バリデーションプログラム、研究室間共同研究(Collaborative study)のデザインなどと試験法設定に関する日本の現状を比較しながら解説した。

Keywords: AOAC International, validation, Collaborative study

小沼博隆：**食中毒の迅速検出法—腸管出血性大腸菌O157の簡易・迅速法を中心**

モダンメディア, 43, 42-53(1997)

わが国の腸管出血性大腸菌O157検査法設定までの経過と諸外国から輸入された本菌の迅速な検出・分離・計測・同定等を行う簡易・迅速な試験機器、機材、試薬、培地およびキット類についてその原理、精度、適用範囲、検査方法などについて解説した。

Keywords: EIA, IMS, PCR

高鳥浩介：**マイコトキシン产生真菌**

AD&S, 3, 82-88(1997)

真菌は古来、動物、ヒトの生活環境にあり、さまざまな重要な役割を果たしてきた。食・飼料中にあり、発酵や風味を醸し出し、有用な使命を担ってきたかと思うと、一方では、真菌が異常に繁殖し、真菌そのものが原因とされる中毒も知られてきた。このように真菌は益と害を併せもつ微生物となすことができる。真菌による中毒原因が真菌自体であると考えられた時代から、真菌の产生する二次代謝産物であるマイコトキシンがにわかに注目されるようになった1960年代がちょうど、真菌性中毒の一つの兆しのように思われる。その後、ヒト、動物に対するマイコトキシンの障害性が次々と解明されるにつれ、マイコトキシン产生真菌の存在が重視されるようになってきた。そこで、獣医学領域で問題となるマイコトキシン产生真菌に限ってまとめた。

Keywords: mycotoxins, animal feeds, mycotoxicoses

高鳥浩介, 小菅旬子: 獣医畜産領域にみる真菌とその害
獣医畜産新報, 50, 281-283(1997)

真菌の自然界での生態をみると、真菌に都合の良い環境や基質に生息し真菌の系統維持に適した環境で分布する。しかし一方では宿主である動物、ヒト、植物からみると好みしからざる生物ともいえ、従属栄養を特徴とする真菌は host-parasite relationship を維持しながら host に何らかの影響を及ぼしながら分布している。獣医畜産領域にみる真菌も同様で、動物と真菌、飼料と真菌、土壌と真菌のようにそれぞれ適応した環境で host-parasite relationship を確認できる。その真菌が有害であったり、また有益であたりするのは、host 側の見方になるが、真菌のような parasite 側からすれば世代維持するための必要な栄養源であり、お互いに害と益の拮抗と協力の関係を保ちながら生存している。獣医畜産領域にみる真菌と、真菌のもつ有害性の観点からまとめた。

Keywords: veterinary medicine, mycoses, pathogenic fungi

小菅旬子, 高鳥浩介: 獣医畜産領域における真菌検査法
獣医畜産新報, 50, 471-474(1997)

医学分野における真菌症の診断は、菌要素による菌体の確認や菌種の同定といった従来の方法から、酵母に対しては各種同定用市販キットや自動化同定システムの開発が進められ、糸状菌に対しても、PCR 診断法 polymerase chain reaction diagnosis 等を応用した遺伝子レベルでの迅速診断が試みられている。しかし、獣医領域では食肉検査や剖検時に真菌症と認識されることの多いのが現実である。ここでは主に、比較的容易に診断可能な浅在性真菌症とマイコトキシン中毒の原因菌について、獣医領域で必要と思われる簡便な真菌検査法の実際を述べた。

Keywords: veterinary medicine, fungal examination test, procedure

高鳥浩介, 太田利子*: ダニカビアレルギー, カビ予防対策(カビ防除対策)

アレルギーの臨床, 17, 519-522(1997)

近年、住環境は快適環境を優先するようになったことから気密性が高まり、そのことがカビ発生にとって都合のよい環境となっている。こうしたカビをどのように防除するかをテーマとしてまとめたが、その前提としてまずカビの基本的な知識を把握しておく必要がある。カビ防除をどのようにするかという単純な疑問には、湿気をなくせばよいということだけではなく、そのカビのもつ性質を知ることによって解決しなければならないからである。そこでまずカビについての基本知識に簡単にふれ、カビ防除をまとめた。

Keywords: fungal allergens, living environments, protection

*相模女子大学

高鳥浩介, 松岡英明*: カビの世界

防菌防黴, 25, 613-619(1997)

われわれの生活している環境をみまわすと多種多様な微生物が生息しており、カビもその一群とみることができる。カビは微生物の中にあって高等かつ、複雑な生物集団であり、自然界では他の微生物に比べると、さまざまな特異性を有している。特にわれわれの生活している環境では、衣食住のどれをとってもカビの関わりを無視することができない。ところがこれほど深い関わりのあるカビについて残念ながら多くの情報を得ていなく、ただ漠然とした知識を持っているのが実情である。そこで、われわれの生活環境

にみるカビの世界と題してカビ本性について解説した。

Keywords: fungal ecology, distribution, morphology

*東京農工大学

高鳥浩介: 真菌性ズノーシス

日獣会誌, 50, 691-699(1997)

近年、動物の飼育環境管理が変化し、真菌性ズノーシスが以前に増して発症しやすい状況になってきている。経済動物の飼育はコストの消滅や作業効率の追求からより管理され集団化したこと、さらに薬剤の多用、ストレスの蓄積等が原因となっている。また、コンパニオンアニマルは高齢化、人との接触の機械が多くなったこと、そのための健康管理から薬物依存が進んだこと、そして多種多様な動物が飼育されるようになったことなど、多くの要因が引き金となって今まで希少であった感染症も顕在化し多発するようになってきている。こうした病原性真菌による感染症を特にズノーシス(人畜共通感染症)の観点からまとめた。

Keywords: zoonoses, fungal infection, pathogenic fungi

黒川雄二: 食品添加物・農薬の安全性評価について

食品衛生学雑誌, 38, J-171-172(1997)

食品衛生学会におけるシンポジウム「食品中の残留化学物質をめぐる諸問題」において、特に食品添加物と農薬の安全性評価に関して概説した。

Keywords: Risk assessment, Food additives, Pesticides

黒川雄二: 最近の毒性面での話題から

食品衛生研究, 48, 5-6(1998)

内分泌搅乱作用の面から、ポリカーボネート樹脂製器具から検出された、ビスフェノールAについて解説した。

Keywords: Endocrine disrupter, Polycarbonate, Bisphenol A

黒川雄二: ダイオキシン問題雑感

ファルマシア, 34, 419(1998)

平成7年度から開始された厚生省ダイオキシンリスクアセスメント研究班における経験を踏まえて、最近の問題点を述べた。

Keywords: Dioxin, Risk assessment

井上 達: 平成9年度食品化学講習会「エンドクリン問題の現状と今後の動向」

食品衛生研究, 48, 47-61(1997)

エンドクリン問題の現状と今後の動向について関連する物質を中心に概説した。

Keywords: Endocrine disrupter chemicals, Estrogen, Food sanitary

井上 達: 総説「エンドクリン問題の最近の動向」

環境研究, 106, 24-35(1997)

エンドクリン問題の最近の動向について関連する物質を中心に概説した。

Keywords: Endocrine disrupter chemicals, Environmental risk, wild-life

井上 達, 菅野 純: 「内分泌障害性化学物質—その概念と問題点—」

The Journal of Toxicological Sciences, 22(5), App.163-167 (1997)

エンドクリン問題の概念と問題点について概説した。

Keywords: Endocrine disrupter chemicals, Reproductive

toxicity, Risk assessment

菅野 純, 井上 達:「内分泌障害性化学物質の最近の諸問題」

会報(塩ビ食品衛生協議会), 121, 1-10(1997)

エンドクリン問題の概念と問題点について概説した。

Keywords: Endocrine disrupter chemicals, PCB, dioxin

平林容子, 井上 達:総説「新技術の毒性学への応用, 造血幹細胞動態解析法—BUUV法」

The Journal of Toxicological Sciences, 23(2), App.55-61(1998)

新たに開発した造血幹細胞動態の解析法について概説した。

Keywords: hemopoietic stem cells, cell kinetics, BUUV-method

大野泰雄, 井上和秀:向精神薬開発と薬物相互作用

精神医学レビュー, No.25, 48-56(1997)

薬物相互作用の発現機構は薬物動態学的相互作用と薬理学的相互作用の二つに分けられる。本稿ではそれぞれについて一般的な機構について整理するとともに、多様な薬理作用をもつものが多い向精神薬における薬力学的な相互作用の重要性についてまとめた。また、分裂病治療薬と電位依存性 Ca^{2+} チャネルとの関係についての最近の知見に基づき解説した。向精神薬の開発において薬物動態学的な相互作用を予測する上で①主たる代謝経路に関与すべき酵素の分子種レベルでの解析、②酵素誘導や阻害の分子種レベルでの検討、③血漿蛋白との結合の特異性やその強さ及び種差の検討、④排泄経路の明確化、及び⑤ヒト組織を用いた検討が必要であることを述べた。

Keywords: drug interaction, antipsychotic drugs, drug development

大野泰雄:「新医薬品開発にかかる諸問題; 薬物動態試験ガイドラインの現状と今後」、「薬物動態試験ガイドライン」の役割と改定に向けての今後の予定

薬物動態, 12, 235-239(1997)

薬物動態試験の結果は新薬の評価において, *in vitro* 結果の *in vivo* への外挿、非臨床試験結果の臨床試験結果との対比、相互作用の予測に重要である。新薬申請資料中の薬理作用結果の評価における薬物動態試験結果の利用について述べた。また、薬物動態試験ガイドライン改訂の目的及び検討班における議論の内容を説明した。

Keywords: guidelines, pharmacokinetics, drug interaction

林 裕造, 大野泰雄:臨床試験開始時期に関するガイドラインについて—非臨床安全性試験の立場から—

医薬品研究, 28, 854-860(1997)

ICHでは臨床試験との関連において臨床試験をどのようなタイミングで行うべきか議論を行いガイドライン作成に向けての作業を行ってきた。そして1997.7にStep IVの合意に達したが、本稿ではStep IIガイドラインが合意された段階において、本ガイドライン作成すべき背景、作成にあたってのICHでの議論と結果を解説するとともに、医薬品開発における一般原則及び個々の安全性試験の意義について述べた。なお、その後Step IVの合意が達成されたことから、追記として、Step IVの段階での変更点を明らかにした。

Keywords: guideline, ICH, timing of non-clinical test

大野泰雄:動物実験代替法の行政的受け入れに関する状況について

J. Toxicol. Sci., 22, App.249-260(1997)

動物実験代替法の行政的受け入れのための基準についてのOECDにおいて検討された。しかし、個々の試験法についての評価は行われていない。近未来においてEUではいくつかの代替法を導入する可能性が高いが、眼刺激性試験代替法に関しては、全ての物質について一つの代替法のみで良いとする結論はいずれのバリデーションでも得られておらず、導入の可能性は低い。しかし、我々のバリデーションの結果によれば、ドレイズ試験そのもののバラツキを考慮すれば、被験物質の特性に応じて、試験法を取捨選択し、代替法の機序的な基盤を理解した上で、代替法同士、或いは代替法とウサギを用いた試験法とを組み合わせることにより、安全性評価上現在の方法と同等の価値があり、動物使用数や苦痛を削減するようなスキームの設定が可能と思われる。

Keywords: alternative methods, OECD, eye irritation test

大野泰雄:臨床試験に関連した非臨床試験の実施タイミングについて

医薬品研究, 29, 253-262(1997)

上記課題についてICHで合意に達したガイドラインの内容、その毒性学的な背景、及びICHでの議論について紹介した。特に、従来は臨床第三相試験に入るためには第二相試験時よりも長期の毒性試験結果を要求していたが、GCPの導入により従来より信頼性の高い臨床試験結果が得られている段階での動物での毒性試験を行う意義について検討し、第二相試験で検討された期間の範囲の第三相試験であれば、それ以上の反復投与毒性試験のデータが無くても良いとしたことについて説明した。

Keywords: timing, non-clinical test, clinical trial

井上和秀, 渡辺泰雄:脳内金属イオンと神経機能制御機構
日薬理誌, 110, 146-148(1997)

脳内金属イオンと神経機能制御機構について概説した。

Keywords: metal, brain, function

井上和秀:Gタンパク共役型ATP受容体

生体の科学, 48, 463-464(1997)

Gタンパク共役型ATP受容体の分類と機能について概説した。

Keywords: G-protein coupled ATP receptors, function

井上和秀:イオノトロピック受容体(チャネル):陽イオンチャネル内蔵型ATP受容体

生体の科学, 48, 339-341(1997)

イオノトロピックATP受容体の分類と機能について概説した。

Keywords: ionotropic ATP receptors, functions

井上和秀:中枢ATPレセプターについて

日薬理誌, 110, 173-182(1997)

中枢ATPレセプターについて分類、分布、機能について概説した。

Keywords: ATP receptors, central nervous system, functions

井上和秀:神経伝達物質の新しい失活システム

蛋白質核酸酵素, 43, 57-59(1998)

ATPを介するシナプス伝達における新しい制御システ

ムについて紹介した。

Keywords: ATP, synaptic transmission, ecto-nucleotidase

藤森觀之助：**OECD 神経毒性ガイドラインおよび28日間反復投与毒性試験ガイドラインにおける神経毒性試験**
Jap. J. Toxicol. Sci., **22**, Appl. 63-65(1997)

OECDは1996年に哺乳動物を用いたスクリーニング試験から開始する段階的な試験法からなる神経毒性試験ガイドライン案の最終版をまとめた(1997年7月に正式に採用)。

本解説では神経毒性試験の考え方と本ガイドラインがスクリーニング法として取り入れられる OECD 28日間反復投与毒性試験および90日間反復投与毒性試験ガイドラインにおける神経毒性検査の具体的な解説をし、さらに、農薬あるいは化審法毒性試験法における神経毒性試験実施に際しての問題を予想して企画された神経行動毒性研究会指導下の協同研究による対策を紹介した。

Keywords: OECD, neurotoxicity, guideline

中澤憲一：**ATP 受容体チャネル構造-機能相関探究への展望を中心**

ファルマシア, **33**, 862-863(1997)

近年遺伝子クローニングがなされた ATP 受容体チャネル(P2X受容体)ファミリーの cDNA より推定されるアミノ酸配列・立体構造に基く、この膜タンパク質の構造と機能との相関を予想し、自ら行なった実験を例にとり今後の探究を展望した。

Keywords : A TP receptor/channels, molecular cloning, structure-function relationship

小澤正吾：**癌原物質代謝酵素の遺伝的多型性と化学発癌感受性**

薬学雑誌, **117**, 895-909(1997)

チトクロム P 450(CYP), グルタチオン-S-転移酵素(GST), アセチル転移酵素(AT)など、薬物代謝酵素は一般に環境変異原・癌原物質の解毒代謝のみならず、代謝活性化反応を触媒する。薬物代謝酵素のうち CYP1A1/2, CYP2C9, CYP2D6, CYP2E1, NAT1/2, GSTM1, GSTP1, GSTT1 には遺伝的多型性に基づく個体差が認められている。このことから、薬物代謝酵素の多型は発癌感受性を決定する要因の一つではないかと考えられている。各酵素についての特定の形質および遺伝子型がある種の臓器癌(肺癌、膀胱癌、結腸癌など)に対してハイリスクであるという、遺伝多型と疾病との関連についてこれまでに行われた解析につき総説した。

Keywords : xenobiotic metabolizing enzymes, environmental mutagens and carcinogens, genetic polymorphism

高橋道人：**化学物質の安全性確保とリスクアセスメント**
ソーダと塩素, **48**, 137-149(1997)

化学物質のリスクアセスメントの概念と方法について、毒性データの収集の仕方、外挿の妥当性の検討、非発がん性物質の評価法、発がん性物質の評価法に分けて概説した。

Keywords: ADI, NOEL, NOAEL

高橋道人：**動物実験の立場からがん予防について考える**
日本がん予防研究会 NEWS LETTER, **12**, 9-11(1997)

動物実験を行う研究者の立場から、がん予防に関する疫学的研究から提起されている問題について、喫煙曝露装置を利用した呼吸器発がんモデルを用いて得られた実験結果との矛盾点の解釈を含めて概説した。

Keywords: carcinogenicity, cigarette smoking, β -carotene

高橋道人：**ステビア抽出物の安全性**

Japan Food Additives News, **17**, 115-122(1997)

ステビア抽出物およびステビオサイドについて、急性毒性、変異原性、繁殖性、催奇形性、亜急性毒性、慢性・癌原性試験の結果を概説し、現在のところ、ヒトへの安全性が懸念されるような毒性を認めないということを示した。

Keywords: stevioside, toxicity, carcinogenicity

三森国敏：**ICHにおけるがん原性試験ガイドラインの動向：トランスジェニックマウスを用いた短期発がん性試験**

関西実験動物研究会会報, 第18号, 1-12(1998)

1997年7月、ICH の新ガイドラインでは、従来のがん原性試験法から、一種類のげっ歯類のがん原性試験に加え、トランスジェニック(Tg)動物を用いた短期発がん試験モデル、イニシエーション・プロモーションモデル、新生仔動物モデルの中から1試験を実施し、医薬品の発がん性評価を行うという事となった。Tg マウスを用いた短期発がん試験では、既知発がん物質の短期投与で腫瘍が誘発されることが確認されている。我が国でも既に30種類の化合物について rasH2 マウスを用いた短期発がん試験が実施されており、現在この短期発がん試験法の有用性を評価する検討がなされている。

Keywords : transgenic mouse, p53 knockout mouse, short-term carcinogenicity test

長谷川隆一：**内分泌障害性物質 主として環境中のエストロゲン作用物質について**

ファルマシア, **33**, 1333-1337(1997)

内分泌障害性物質の背景、定義をまとめ、代表的な物質について、それらの化学構造式、使用目的等, *in vitro* あるいは *in vivo* における作用をまとめた。最後に、内分泌障害性物質の相乗作用に関する報告と、その後の動向について解説した。

Keywords: Endocrine disrupter

広瀬明彦：**ダイオキシンの生体毒性**

ファルマシア, **34**, 445-448(1998)

ダイオキシン類の生体へ及ぼす影響を、最近のレビュー、厚生省や環境庁の発表した中間報告などをもとにヒトと実験動物に対する毒性の観点からまとめた。毒性の種類を、吸収・分布・代謝・排泄、一般毒性、特殊毒性、発がん性に分類し、それぞれについてダイオキシンによって引き起こされる生体影響を解説した。

Keywords: Dioxins

谷本 剛：**医薬品の迅速分析法 一トラニラスト製剤**
月刊薬事, **39**, 1713-1716(1997)

多品目が市販されているトラニラスト製剤の品質を確保するための迅速分析法を作成して都道府県の関係部局に通知したので、本試験法の運用に際しての技術的問題点について解説した。

Keywords: tranilast, rapid analysis

柴田 正、辻 澄子：**天然にも存在する添加物**

食品衛生研究, **47**(7), 29-67(1997)

食品添加物公定書に記載されている添加物のうち、元来天然にも存在する亜硝酸、亜硫酸、安息香酸、硝酸、過酸化水素、オルトリシン酸について、生鮮食品及び加工食品中の自然含有量の調査方法並びに調査結果を概説した。

Keywords: naturally occurring, food additive, contents

石光 進, 三島 郁子, 辻 澄子, 柴田 正: 日本および米国における食用タール色素の生産量の比較
食品衛生研究, 48, 33-40(1998)

わが国の食用タール色素は、タール色素12品目とそのアルミニウムレーキ8品目が食品衛生法施行規則別表第2の食品添加物として指定されており、その販売等にあたっては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、平成2年4月1日大阪支所食品試験部ですべての検査を行っていることから、食用タール色素の生産量の推移を明確に把握してきた。一方、米国においては、FDAにより検定制度が行われている。著者らは、FDAにおける食用タール色素の平成2年4月以降の検討数量を調査し、日本および米国における生産量の比較を行うとともに、食用タール色素の今後の動向について紹介した。

Keywords: food color, coal-tar dye, production

外海泰秀: 食品中の残留農薬の分析法1—農薬・農作物の安全性と残留農薬分析—

月刊 HACCP, 21, 57-61(1997)

農薬の人・環境への影響、農薬の安全性確保と登録制度、農作物の安全性確保と法的規制、残留農薬の検査機関と分析法、残留農薬分析の困難さと特殊性、農薬分析におけるGLPなどについて総説(解説)した。

Keywords: pesticide, safety evaluation, GLP

外海泰秀: 食品中の残留農薬の分析法2—残留農薬分析におけるサンプリング、抽出法—

月刊 HACCP, 22, 55-61(1997)

残留農薬分析法の概略、サンプリング等における留意事項、試料の前処理、試料からの抽出法として溶媒抽出法、カラム抽出法、超臨界流体抽出法、高温溶媒抽出法、その他について総説(解説)した。

Keywords: pesticide, sampling, extraction

外海泰秀: 食品中の残留農薬の分析法3—残留農薬分析におけるクリーンアップと定性・定量・確認法—

月刊 HACCP, 23, 37-45(1997)

クリーンアップ法としてカラムクロマトグラフィー、ゲル浸透クロマトグラフィー、凝固剤法、液/液分配法を、また定性・定量・確認法としてGC法、HPLC法、GC/MS法、LC/MS法を総説(解説)した。

Keywords: pesticide, column chromatography, GC/MS

外海泰秀: 食品中の残留農薬の分析法4—各種農薬分析法と試料における分析例—

月刊 HACCP, 24, 70-77(1997)

農薬の分析法として厚生省告示分析法、厚生省迅速分析法、環境庁登録保留基準法、生物学的親和性による分析法を、特殊な試料からの分析例として食肉中の有機塩素系農薬、たまねぎ中の有機リン系農薬、穀類中の残留臭素、茶

中の有機塩素系・ピレスロイド系農薬等について解説した。また分析の自動化への試みと実用化についても総説した。

Keywords: pesticide, maximum residue limit, ELISA

外海泰秀: 食品中の残留農薬の分析法5—残留農薬の実態と農薬のあるべき姿—

月刊 HACCP, 25, 34-41(1997)

残留農薬基準設定の考え方とその方法、散布された農薬の行方と農薬の分解・代謝、農作物中残留農薬の実態調査、保存及び調理加工による残留農薬の消長、農薬の将来とあるべき姿について総説し、安全使用基準、最大無作用量、一日摂取許容量、選択毒性、ゴルフ場農薬、ポストハーベスト農薬、有機農産物、遺伝子組み換え農産物などの用語について解説した。

Keywords: pesticide, metabolite, ADI

柴田敏郎: ダイオウについて

薬用植物研究, 1997年2号, 30-38(1998)

1994年より3年間行なった中国青海省東南部・甘肃省西南部及び四川省北部地域における野生ダイオウ属植物(生薬大黄の基原植物)の調査結果について報告し、同地域で产出される生薬大黄の基原植物・生育環境等について考察した。

Keywords: Rhei Rhizoma, *Rheum* spp, Northwestern China.

下村講一郎, 吉松嘉代: 天然吐剤として注目されるトコノ増殖と利用

バイオサイエンスとインダストリー, 56, 29-33(1998)

救急医療の現場で催吐剤として期待されるトコノの組織培養による増殖に関して、これまで行ってきた研究を紹介した。茎頂培養による大量増殖、培養育成株の栽培試験、また、茎切片、不定根切片からの個体再生についても解説した。

Keywords: *Cephaelis ipecacuanha*, vomiting reagent, micropropagation

野口 衛: 現場に役立つ生薬情報—黄連

P & M Kampo, 3 No.2, 10-12(1998)

生薬黄連の栽培生産法、品質、薬理作用、並びに黄連配合漢方製剤調製時のペルベリンの沈殿形成反応について概説した。

Keywords: *Coptis Japonica*, berberine, Kampo Decoction

野口 衛: 漢方エキス製剤の品質確保を巡って

岐阜県病院薬剤師会誌, No.25, 2-7(1998)

原料生薬中の成分の煎剤、エキス製剤へ移行する割合を比較し、エキス製剤中に含まれるべき成分の量を基準にすれば、品質管理が可能であることを明らかにした。

Keywords: Quality Evaluation, Kampo Preparation, Chemical Components

寺尾允男, 小嶋茂雄, 中村晃忠, 三瀬勝利, 青柳伸男, 石橋無味雄, 岡田敏史, 小川義之, 香取典子, 鹿庭なほ子, 佐竹元吉, 鈴木英世, 谷本剛, 早川堯夫, 米谷民雄, 宮田直樹他：“日本薬局方技術情報 1998”，日本公定書協会編，薬業時報社，東京（1998）

Aoyagi, N.: “Proceedings of the 4th International Conference on Harmonization, Role of in vitro dissolution tests in the assurance of in vivo performance”, ed. By D'Arcy, P.F., and Harron, D.W.G., Greystone Books Ltd., Antrim (1997) pp.109-115

Kaniwa, N.: “Fourth International Conference on Harmonization”, ed. D'Arcy, P.F. and Harron, D.W.G., The Queen's University of Belfast, Belfast (1997) pp.119

Ishibashi, M., Kojima, S. and Mizuno, S.,(eds): “Rapid Examination Methods against Counterfeit and Substandard Drugs”, Yakugyo Jihosha, Tokyo (1997)

池田政弘, 石橋無味雄, 今森勝美, 入本和人, 岩上正蔵, 岩佐曜, 岩崎英樹, 大住優子, 倉橋正明, 栗田深直, 黒田紘治, 幸田繁孝, 今正嗣, 佐々博紀, 設楽昌孝, 関本聰子, 東海則明, 永谷康典, 中西昭雄, 西清司, 二之宮昭夫, 林信一, 林伸男, 半田光一, 日坂雄二郎, 真下克己, 松井淳, 真弓忠範, 村上敏男, 森岡茂夫, 森崎克彦, 森田武, 山下博し, 横田洋一, 吉田継親, 四方田千佳子(eds)：“一般用医薬品試験法 上巻”，薬業時報社，東京(1997)

池田政弘, 石橋無味雄, 今森勝美, 入本和人, 岩上正蔵, 岩佐曜, 岩崎英樹, 大住優子, 倉橋正明, 栗田深直, 黒田紘治, 幸田繁孝, 今正嗣, 佐々博紀, 設楽昌孝, 関本聰子, 東海則明, 永谷康典, 中西昭雄, 西清司, 二之宮昭夫, 林信一, 林伸男, 半田光一, 日坂雄二郎, 真下克己, 松井淳, 真弓忠範, 村上敏男, 森岡茂夫, 森崎克彦, 森田武, 山下博し, 横田洋一, 吉田継親, 四方田千佳子(eds)：“一般用医薬品試験法 下巻”，薬業時報社，東京(1997)

Hayakawa, T.: “New Medicines from Biotechnology: Overview: International Endeavor toward Harmonization of Technical Requirements in Biotechnology”, The Fourth International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Brussels 1997, ed. P. F. D'Arcy and D. W. G. Harron, Greystone Books Ltd., Northern Ireland(1998)pp 153-156.

Kawanishi, T.: “New Medicines from Biotechnology : Cell Substrate” : The Fourth International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Brussels 1997, ed. P. F. D'Arcy and D. W. G. Harron, Greystone Books Ltd., Northern Ireland(1998)pp162-167.

尾崎幸紘：“生薬学”，改訂第5版(第2刷)，第VI章 生薬の特徴と使われ方，指田豊，山崎和男編，南江堂，東京(1998)pp.69-100

Akasawa, A.*¹, Tanaka, K.*¹, Hsieh, L.-S.*², Yagami, T., Slawek, S.*³, Saito, H.*¹ and Iikura, Y.*⁴ : “Progress in Allergy and Clinical Immunology, Vol. 4”, ed. Oehling, A. K. and Huerta López, J. G., Hogrefe & Huber Publishers, Seattle(1997)pp.124-126

*¹ 国立小児病院小児医療研究センター

*² Center for Biologics Evaluation and Research, FDA

*³ Neues AKH, Vienna

*⁴ 昭和大学医学部

鹿庭正昭：“抗菌のすべて—ヘルスケアとメディカル・食品衛生・繊維・プラスチック・金属への展開ー”，抗菌加工製品の現状と消費者への健康影響，繊維社，大阪(1997) pp.327-13

徳永裕司：“標準物質”，久保田正明編，化学工業日報社，東京(1998)pp.260-263

Miyahara, M., Kawasaki, M., Akiyama, H., Narui, T., Toyoda, M., Okuyama, T., Saito, Y.: “Some phytochemicals and related compounds in vegetables as potent inhibitors of human DNA topoisomerase II.” Ohigashi, H., Osawa, T., Terao, J., Watanabe, S., oshikawa, T. Eds.: Food factors for cancer prevention. Springer, Tokyo(1997)pp.182-187

宮原誠 編訳：“分析試験室のための品質保証原則 日本語版” AOAC International, Gaithersberg(1997)

寺尾允男, 小沼博隆, 豊田正武, 米谷民雄, 山田隆他：“食中毒予防必携”，厚生省生活衛生局食品保健課・乳肉衛生課・食品化学課監修,(社)日本食品衛生協会, 東京(1998)

Ishiwata, H.: “Textbook for Group Training Course in Mycotoxin Inspection in Food in F.Y. 1997” Chapter 12 Food safety assurance on international trading concerning microorganisms and preservatives, Japan International Cooperation Agency, Hyogo(1997)pp.12-1-2

石綿肇：“くらしの豆知識 '98”，食品添加物の基礎知識，国民生活センター，東京(1997)pp.184-185

三瀬勝利, 島田俊雄：“食中毒性微生物”概説，産業調査会，東京(1998)pp.1-12

島田俊雄, 三瀬勝利：“食中毒性微生物”，経口感染伝染病起因菌，産業調査会，東京(1998)pp.249-264

佐々木次雄, 中村晃忠, 三瀬勝利：“日本薬局方に準拠した滅菌法及び微生物殺滅法”，規格協会，東京(1998)

棚元憲一：“エンドトキシンの除去と不活化”，日本薬局方に準拠した滅菌法及び微生物殺滅法，三瀬勝利，中村晃忠，佐々木次雄編，日本規格協会，東京(1998)pp.47-62

小沼博隆：“食中毒予防必携”，10. セレウス菌，厚生省生活衛生局監修，日本食品衛生協会，東京(1998)pp.86-98

小沼博隆：“HACCP管理実用マニュアル”，熊谷進監修，サイエンスフォーラム，東京(1998)pp.41-47, pp.57-64, pp.57-64, pp.317-336

小沼博隆：“HACCP；衛生管理計画の作成と実践 総論編”，厚生省生活衛生局監修，中央法規，東京(1997)pp.29-116

小沼博隆，石綿 肇，河村葉子，佐々木久美子，米谷民雄他：“HACCP；衛生管理計画の作成と実践 データ編”，厚生省生活衛生局乳肉衛生課監修，動物性食品のHACCP研究班編集，中央法規出版，東京(1997)

小沼博隆他：“食中毒性微生物”，10. セレウス菌，総合食品安全辞典編，平川工業社，東京(1997)pp.185-197

小沼博隆他：“食品への予測微生物学の適用”，矢野信禮編，サイエンスフォーラム，東京(1997)pp.126-140

高鳥浩介：“大人と子供のアレルギーの本”，第7章家庭でできるアレルギー対策 カビベットの環境対策，飯倉洋治，小屋二六監修，東京法規出版(1997)pp.143-145

Gómez-Muñoz, A., Abousalham, A., Kikuchi, Y., Waggoner, D.W., Brindley, D.N.: “Molecular biology intelligence unit.” **Sphingolipid-mediated signal transduction:** Role of sphingolipids in regulating the phospholipase D pathway and cell division, ed. Hannun, Y.A. Springer-Verlag, Heidelberg(1997)pp.103-115

神沼二眞，山本 都，中野達也：“国際化学物質安全性ガイド(ICSC)第3集”，厚生省生活衛生局生活化学安全対策室監修，化学工業日報社，東京(1997)

関沢 純：“農薬の安全性評価データ集，第2版”，エル・アイ・シー出版，東京(1997)pp.290

関沢 純，林 裕造 監訳：“リスクコミュニケーション，前進への提言”，化学工業日報社，東京(1997)pp.375

黒川雄二：“毒性と中毒”，標準薬理学，第5版，海老原昭夫監修，医学書院(1997)pp.423-435

井上 達：§ 9 老化と老年病 A. 老化と寿命，B. 老化的概念と老年学，In：医系病理学，中村恭一他編，中外医学社(1997)pp.630-636

平林容子：§ 9 老化と老年病 C. 老年病理学，In：医系病理学，中村恭一他編，中外医学社(1997)pp.637-641

Trosko, J. E., Inoue, T.: **Oxidative Stress, Signal Transduction, and Intercellular in Radiation Carcinogenesis. Radiation Injury and the Chernobyl Catastrophe.** Stem Cells, Eds: Dainiak, N., Schull, W. J., Karkanitsa, L., Aleinikova, O.(1997)15(suppl 2)pp.59-67

Sai, K., Umemura, T., Kaneko, T., Hasegawa, R., Kurokawa, Y. and Inoue, T.: “Advances in Molecular Toxicology”, 8-Hydroxydeoxyguanosine (8-Ohdg) as a Biomarker of Carcinogenic and Anti-carcinogenic Potency: Significance of Oxidative DNA damage in Pentachlorophenol-Induced Mouse Hepatic Tumorigenesis and Inhibitory Effects of Antioxidants, Eds, Reiss, C., Parvez, S., Labbe, G., and Parvez, H.VSP, Utrecht(1998) pp.409-420

Inoue, T.: **Workshop II, Concept of a relevant animal model,** In: Proceedings of the Forth International Conference on Harmonisation, Eds: D'Arcy PF & Harron DWG, The Queens University of Belfast(1998)pp.209-223

Inoue, T.: **The Benefits of Harmonization, Safety Studies in Perspective,** In: Proceedings of the Forth International Conference on Harmonisation, Eds: D Arcy PF & Harron DWG, The Queens University of Belfast(1998)pp.519-526

Ohno, Y., Inoue, T., Kaneko, T., Morikawa, Y., Yoshida, T., Fujii, A., Masuda, M., Ohno, T.^{*3}, Akiyama, J., Ikeda, N., Imanishi, Y., Itagaki, H., Usami, M., Ohkoshi, K., Okumura, H., Kakishima, H., Kasai, Y., Kurishita, A., Kojima, H., Sajio, K., Sakamoto, K., Sunouchi, M., Takano, K., Tatsumi, H., Tani, N., Chiba, K., Nakamura, T., Hayashi, M., Matsukawa, K., Momma, J. and Watanabe, R.: “Animal Alternatives, Welfare and Ethics, Developments in Animal and Veterinary Sciences” **Overview of the interlaboratory validation of alternative methods to eye irritation test for safety evaluation of cosmetic ingredients**, ed. van Zutphen, E. F. M. and Balls, M., Elsevier, Amsterdam (1997) 27, pp.1155-1158

大野泰雄：“In vitro 研究”，化学物質のリスクアセスメント，リスクアセスメントの問題点とその科学的対応 4，厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修，葉業時報社，東京(1997)pp.157-184

井上和秀：“脳機能の解明-21世紀に向けて.” ATP受容体と脳機能障害，赤池紀扶，東英穂，藤原道弘，小暮久也編，九州大学出版会，福岡(1998)pp.115-123

畠山寿之，高原 章，内田裕久，吉元良太，井上和秀，赤池紀扶：“脳機能の解明-21世紀に向けて.” ストレス性昇圧抑制作用を有するCa拮抗薬シルニジピンの薬理特性，赤池紀扶，東英穂，藤原道弘，小暮久也編，九州大学出版会，福岡(1998)pp.249-258

Tsuda, M. and Kurashima, Y.: “Food Factors for Cancer Prevention”, Formation of thioproline, effective as a nitrite-trapping agent in the human body, in various cooked foods., ed. Ohigashi, H., Osawa, T., Terao, J., Watanabe, S. and Yoshikawa, T., Springer-Verlag, Tokyo(1997)pp.162-165

Takahashi, M. and Nishikawa, A.: **Adenoma, glandular stomach, rat “ILSI Monograph on Pathology of Laboratory Animals, Digestive System, 2nd Edition”** ed, Jones, T.C., Popp, J.A. and Mohr, U., Springer, Berlin(1997)pp.348-353

Takahashi, M. and Nishikawa, A.: **Leiomyoma and leiomyosarcoma, glandular stomach, rat “ILSI Monograph on Pathology of Laboratory Animals, Digestive System, 2nd Edition”** ed, Jones, T.C., Popp, J.A. and Mohr, U., Springer, Berlin(1997)pp.358-363

會田喜崇，安藤正典，磯部総一郎，内田康策，内山 充，大野泰雄，大森義仁，鎌田栄一，黒川雄二，斎藤行生，澤田純一，関沢 純，祖父尼俊雄，高橋 悟，高橋道人，田中 悟，津田重城，中館正弘，中村晃忠，長野健一，西川

秋佳, 長谷川隆一, 林 真, 林 裕造, 広瀬明彦, 藤森觀之助, 三森国敏, 安田尚之：“化学物質のリスクアセスメント”厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修, 国立医薬品食品衛生研究所「化学物質のリスクアセスメント」編集委員会編集, 葉業時報社, 東京(1997)

外海泰秀他：“抗菌のすべて”, 吉川邦彦, 三瀬勝利, 伊藤 博, 弓削 治編集, 織維社, 大阪(1997)pp253-260

柴田敏郎：“地域生物資源活用大事典”, 藤巻 宏編, (社)農山漁村文化協会, 東京(1998)p.54, pp.66-67, p.94, p.126, p.140, p.156, pp.184-185, pp.222-223, pp.229-230, pp.234-235, p.250, p.268, p.306, pp.344-345, pp.347-348

Shimomura, K., Yoshimatsu, K., Jaziri, M., Ishimaru, K.: “Traditional Medicinal Plant Genetic Resources and Bio-

technology Applications” in Plant Biotechnology and Plant Resources for Sustainability and Productivity, ed, Watanabe, K. N. and Pehu, E., R.G., Landes Company, Austin(1997)pp.209-225

Ishimaru, K., Tanaka, N., Kamiya, T., Sato, T. and Shimomura, K.: “Cornus kousa (Dogwood) : *In Vitro* Culture and the Production of Tannins and Other Phenolic Compounds” in Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 41, Medicinal and Aromatic Plants X, ed, Bajaj, Y. P. S., Springer-Verlag Berlin Heidelberg(1998)pp.113-131

坂崎信之, 尾崎 章, 香月茂樹, 清水秀男, 橋本悟郎, 花城良廣, 毛藤園彦：“日本で育つ 热帯花木植栽事典”, アボック社, 鎌倉(1998)

日本薬局方の規格・試験方法等の改正と国際調和に関する研究：石橋無味雄，岡田敏史，嶋林三郎
厚生科学研究(平成9年4月～)，平成10年3月厚生省医薬安全局審査管理課に報告。

医薬品の迅速分析法：最所和宏，石橋無味雄，小嶋茂雄
厚生省医薬安全局監視指導課迅速分析法作成費(昭和57年～)，平成9年8月厚生省医薬安全局監視指導課に報告。

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10年3月厚生省健康政策局研究開発振興課に報告。

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
国際厚生事業団研究費(平成5年4月～)，平成10年3月国際厚生事業団(厚生省大臣官房国際課)に報告。

向精神薬の分析法に関する研究：中原雄二，木倉瑠理
委託研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年3月厚生省医薬安全局麻薬課に報告。

薬物中毒，薬害，農薬中毒等の予防と原因解明のための毛髪診断研究：中原雄二，木倉瑠理
厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年3月厚生省大臣官房厚生科学課に報告。

感染性廃棄物中間処理における新技術の有効性および安全性に関する評価研究：配島由二，酒井伸一^{*1}，Ira F. Salkin^{*2}，Edward Krisiuna^{*3}，村山義博^{*4}，矢島成倖^{*5}
厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省生活衛生局水道環境部計画課に報告。

^{*1} 京都大学環境保全センター

^{*2} ニューヨーク州衛生局

^{*3} スペクトラム(株)

^{*4} バクスター(株)

^{*5} セイコーインターナショナル(株)

天然由来医用材料の生物学的安全性評価に関する研究：中村晃忠，配島由二，村井敏美
厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省医薬安全局審査管理課に報告。

3-iodo-2-propynylbutylcarbamate, 10, 10'-oxy-bis (phenoxyarsine), p-chlorophenyl-3-iodopropargylformyl 及び 1-bromo-3-ethoxy carbonyloxy-1, 2-diiodo-1-propene 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9年4月～平成10年3月)，平成10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。

シリコーンオイルを含有する家庭用エアゾル製品に関する研究：鹿庭正昭，伊佐間和郎，中村晃忠，山下衛
厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室に報告。

* 筑波大学医学部附属病院救急部

3,4,4-トリクロロカルバニリドの分析法策定：伊佐間和郎，鹿庭正昭，中村晃忠

家庭用品等調査研究費(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室に報告。

イソボルニルチオシアノアセテートの分析法策定：伊佐間和郎，鹿庭正昭，中村晃忠

家庭用品等調査研究費(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室に報告。

高分子有機材料中モノマーの唾液中への溶出量の定量分析に関する研究：中村晃忠，佐藤道夫

厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省厚生科学課に報告。

国設自動車排出ガス測定所における大気汚染実態調査：松村年郎，関田 寛，浜田実香，安藤正典

環境庁環境保全費(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年6月環境庁大気保全局自動車環境対策第二課に報告。

食品中の有害物質等の評価に関する研究：豊田正武，五十嵐敦子

厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4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，豊田正武

食品等試験検査費(平成9年4月～平成10年3月)，平成10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 小麦及び大麦試料中のマラチオン測定における問題点について：根本 了，佐々木久美子，豊田正武

食品等試験検査費(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

ピリブチカルプ試験法：根本 了，佐々木久美子，豊田正武

食品等試験検査費(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

クロルフェナピル試験法：松田りえ子，佐々木久美子，豊田正武

食品等試験検査費(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

バナナ等の果皮と果肉との残留農薬比の分析 PDA検出器によるHPLC測定農薬の一斉分析法の検討：高附 巧，佐々木久美子，豊田正武

食品等試験検査費(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

農薬推定摂取量の精密化に関する研究：槙 孝雄^{*1}，池上幸江^{*2}，内山貞夫^{*3}，佐々木久美子，永山敏廣^{*4}，堀伸二郎^{*5}，前川吉明^{*6}

厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

^{*1} (社)日本食品衛生協会

^{*2} 国立健康栄養研究所

*³ (財)食品薬品安全センター

*⁴ 東京都立衛生研究所

*⁵ 大阪府立公衆衛生研究所

*⁶ (財)日本食品分析センター

食品中に溶出するアルミニウムの摂取実態に関する研究：

松田りえ子、佐々木久美子、豊田正武

厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

動物用医薬品の残留防止対策に関する研究：近藤一成、村山三徳、豊田正武

厚生科学研究(平成8年4月～平成9年4月)，平成10年5月厚生省乳肉衛生課に報告。

必須アミノ酸製品等の健康影響に関する研究：豊田正武、合田幸広

厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

アフラトキシンの告示試験法の改良に関する研究：合田幸広、穂山 浩、豊田正武

厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4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：パツリンの汚染実態調査：穂山 浩、合田幸広、豊田正武

厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

米国における照射食肉の安全性に関する研究：宮原 誠、豊田正武

厚生科学研究費(平成10年1月～平成10年3月)，平成10年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

コウジ酸の食品中への残存量に対する調理等の影響：佐藤恭子、佐々木史歩、米谷民雄、山田 隆

食品添加物規格基準設定費(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

ウコン色素の成分分析及び光安定性に関する試験結果：佐々木史歩、佐藤恭子、杉本直樹、米谷民雄、山田 隆

食品添加物規格基準設定費(平成9年10月～平成10年3月)，平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

摂取量調査を目的とした天然添加物の成分分析：米谷民雄、佐藤恭子、佐々木史歩、久保田浩樹、杉本直樹

厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

アントー色素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、佐藤恭子、久保田浩樹、杉本直樹

厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

市販ブドウ果皮色素製品の標品としての可能性の検討：米谷民雄、杉本直樹、久保田浩樹

厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品添加物としてグルコン酸カリウム及びグルコン酸ナトリウム規格試験法の検討：川崎洋子、石綿 肇、杉田たき子、山田 隆

リウム規格試験法の検討：川崎洋子、石綿 肇、杉田たき子、山田 隆

食品添加物規格基準設定費(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

器具・容器包装の健康影響に関する報告：山田 隆

厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

アルミ箔製品から各種食品へのアルミニウムの移行に関する検討：武田由比子、河村葉子

厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

アルミニウム製器具・容器包装由来のアルミニウム摂取量の推定：河村葉子、馬場二夫、渡辺悠二、武田由比子

厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

食品用ポリスチレン製品に残存する未知物質の同定：河村葉子、杉本直樹、武田由比子、山田 隆

食品添加物安全性再評価等試験検査費(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

ポリカーボネート製品からのビスフェノールAの溶出：河村葉子、武田由比子、山田 隆

食品添加物安全性再評価等試験検査費(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

アルミ箔製品からの鉛、カドミウム等の溶出に関する調査研究：武田由比子、河村葉子、山田 隆

食品等規格基準設定費(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

食品添加物としてグルコン酸カリウム及びグルコン酸ナトリウム規格試験法の検討：川崎洋子、石綿 肇、杉田たき子、山田 隆

食品添加物規格基準設定費(平成8年4月～平成9年3月)，平成9年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

パン中の臭素酸の分析法並びにパン製造における臭素酸カリウムの有効性及び残存性に関する研究：石綿 肇、川崎洋子、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8年4月～平成9年3月)，平成9年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

不許可添加物の分析法の開発：石綿 肇、杉田たき子、山田 隆

厚生科学研究(平成8年4月～平成9年3月)，平成9年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

1996年度の食品中の食品添加物の行政検査結果を基にした食品添加物の摂取量の推定：石綿 肇、杉田たき子、川崎洋子、山田 隆

厚生科学研究(平成8年4月～平成9年3月)，平成9年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

魚類中の一酸化炭素含有量測定の実施：山田 隆、石綿

肇, 川崎洋子, 杉田たき子

特別行政試験(平成8年6月~平成8年8月), 平成8年8月厚生省生活衛生局食品化学課に報告.

イズミダイの一酸化炭素含有量について: 山田 隆, 石綿 肇, 川崎洋子, 杉田たき子

特別行政試験(平成8年6月~平成8年7月), 平成8年7月厚生省生活衛生局食品化学課に報告.

ダイオキシン類の免疫毒性について: 澤田純一

厚生科学研究(平成9年4月~平成10年3月), 平成10年2月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告.

農薬の低濃度暴露による影響に関する調査研究—アレルギーモデルを用いる低濃度暴露影響評価法の開発: 澤田純一, 手島玲子, 小野 宏, 小島幸一*, 金沢由基子*

厚生科学研究(平成9年4月~平成10年3月), 平成10年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告.

* 食品薬品安全センター

適正な放射線医療を確保するための評価基準の指標に関する研究: 澤田純一, 古賀佑彦¹, 菊地 透²

厚生科学研究(平成9年4月~平成10年3月), 平成10年5月厚生省医薬安全局安全対策課に報告.

¹ 藤田保健衛生大学

² 自治医科大学

調理施設と食品製造業における衛生管理に関する研究: 小沼博隆, 品川邦汎*

厚生科学研究(平成9年3月~), 平成10年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告.

* 岩手大学

農産物の食中毒菌による汚染機序等に関する研究: 小沼博隆, 熊谷 進¹, 増田高志², 安形則雄³, 丹野憲二⁴, 中川 弘⁵

厚生科学研究(平成9年3月~), 平成10年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告.

¹ 国立感染症研究所

² 静岡県環境衛生科学研究所

³ 名古屋市衛生研究所

⁴ 財団法人日本食品分析センター

⁵ 財団法人東京顕微鏡院

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: 神沼二眞
厚生科学研究(平成9年4月~10年3月), 平成10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:

高江須義矩¹, 井上 達, 関沢 純, 金子豊蔵, 香川 順²

山中すみへ³, 小野 宏³, 高月峰夫⁴, 八十川欣勇⁵

厚生科学研究(平成9年4月~平成10年3月), 平成10年3月厚生省医薬安全局安全対策課に報告.

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

農薬の低濃度曝露による影響に関する調査研究: 黒川雄二,

関沢 純

厚生科学研究(平成9年4月~平成10年3月), 平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告.

西洋わさび抽出物のラットを用いた90日間反復投与毒性試験(中間報告): 小川幸男, 内田雄幸, 斎藤 実, 関田清司, 川崎 靖, 鈴木幸子, 松島裕子, 降矢 強, 金子豊蔵, 井上 達

厚生科学研究(平成9年4月~10年3月), 平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告.

バイオテクノロジー応用医薬品の安全性評価に関する研究:

研究協力者: 井上 達 (協力研究者: 新井賢一, 勝木元也, 佐々木秀樹, 牧 栄二, 河合睦文, 堀井郁夫, 井上智彰, 筒井尚久, 金子豊蔵, 高木篤也)

厚生科学研究(平成9年4月~10年3月), 平成10年3月厚生省医薬安全局審査管理課に報告.

化学物質の毒性と化学物質過敏症の関連性について: 金子

豊蔵, 小川幸男, 井上 達

厚生科学研究「健康地球計画推進研究事業」, 平成10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.

医薬品等化学物質の毒性の評価のための分子生物学的試験法に関する研究: 井上 達, 金子豊蔵, 内藤克司, 鈴木幸子, 川崎 靖, 松島裕子, 平林容子

厚生科学研究(平成9年4月~10年3月), 平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告.

2-Mercaptomethylbenzimidazoleのラットにおける急性毒性試験および28日間反復投与試験(強制経口投与試験):

斎藤 実, 梅村隆志, 北嶋 聰, 松島裕子, 門馬純子, 津田充宥, 小川幸男, 鈴木幸子, 長谷川隆一, 伊佐間和郎, 鹿庭正昭, 鈴木孝昌, 林 真, 中村晃忠, 祖父尼俊雄, 井上 達

家庭用品等調査研究費(平成6年4月~平成7年3月), 平成9年8月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告.

ゴム老化防止剤2,5-di(tert-butyl)-1,4-hydroquinoneのラ

ットを用いた、急性毒性試験および28日間反復経口投与毒性試験: 北嶋 聰, 斎藤 実, 松島裕子, 川崎 靖, 津田充宥, 高田幸一, 今沢孝喜, 三森国敏, 黒川雄二, 井上 達

家庭用品等調査研究費(平成6年4月~平成7年3月), 平成10年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告.

水道水消毒副生成物ジブロモクロロ酢酸のラットにおける毒性試験(中間報告1): 北嶋 聰, 斎藤 実, 内田雄幸, 関田清司, 松島裕子, 金子豊蔵, 鈴木幸子, 長谷川隆一, 井上 達

水質試験検査3. 未規制物質基準化検討費(平成8年4月~平成10年3月), 平成9年10月厚生省生活衛生局水道部水道整備課に報告.

水道水消毒副生成物ジブロモクロロ酢酸のラットにおける

毒性試験(中間報告2): 北嶋 聰, 斎藤 実, 内田雄幸, 関田清司, 松島裕子, 金子豊蔵, 鈴木幸子, 小川幸男, 川崎 靖, 長谷川隆一, 井上 達

水質試験検査3. 未規制物質基準化検討費(平成8年4月~平成10年3月), 平成9年12月厚生省生活衛生局水道部水

道整備課に報告。

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：井上 達，北嶋 聰，佐井君江，高木篤也，梅村隆志，平林容子，長谷川隆一

厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

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(総括研究報告)：井上 達，黒川雄二，北嶋 聰，佐井君江，高木篤也，梅村隆志，平林容子，長谷川隆一
厚生科学研究(平成5年4月～平成10年3月)，平成10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毒性の評価のための分子生物学的試験法に関する研究—アボトーシスを指標とした遺伝子変動物による毒性評価：井上 達，北嶋 聰，金子豊蔵，内藤克司

厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省医薬安全局安全対策課に報告。

化粧品の眼刺激性試験代替法に関する調査研究：大野泰雄
厚生省薬物療法等有用性向上推進研究事業(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省厚生科学課及び医薬安全局審査管理課に報告。

新薬の有効性・安全性評価のためのヒト肝組織・細胞の利用法に関する研究：大野泰雄

厚生省特別研究事業(平成9年4月～平成10年3月)，平成10年4月厚生省厚生科学課及び医薬安全局審査管理課に報告。

残留農薬の相乗毒性に関する薬物動態学的研究：大野泰雄，紅林秀雄

厚生省残留農薬安全対策総合調査研究事業(平成9年4月～平成10年3月)，平成9年6月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

OECD試験法ガイドライン導入に際しての試験法の精度管理：トリメチルチジン(TMT) 並びにカルバリル(NAC) のラットを用いた単回経口投与による急性神経毒性試験：藤森觀之助

家庭用品等試験検査費(平成9年4月～平成11年3月)，平成10年4月厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室に報告。

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，安原加壽雄，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10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

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，安原加壽雄，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10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

ジオサマイシンの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，広瀬雅雄

食品等試験検査費(平成4年4月～平成7年3月)，平成10年5月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

乳酸鉄のF344ラットにおける長期毒性・発癌性試験(中間報告)：安原加壽雄，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7年3月)，平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

クチナシ青色素のF344ラットにおける長期毒性・癌原性試験(中間報告)：今沢孝喜，古川文夫，西川秋佳，広瀬雅雄
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10年5月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

ペクチン分解物のF344ラットにおける慢性毒性・発癌性試験(中間報告)：安原加壽雄，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7年4月～平成10年3月)，平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

硫酸アンモニウムの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，安原加壽雄，高橋道人

食品添加物安全性再評価費(平成9年4月～平成12年3月)，平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

ニトロフラゾンによる卵巣腫瘍誘発メカニズムの検討(最終報告)：三森国敏，安原加壽雄，小野寺博志，竹川 深，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10年3月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

チアンフェニコールのラットにおける精巣毒性発現メカニズム解明に関する研究(最終報告)：三森国敏，安原加壽雄，小野寺博志，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10年3月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

ファフィア色素の90日間毒性試験(最終報告)：小野寺博志，三森国敏，安原加壽雄，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10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

クロロフィルの90日間毒性試験(最終報告書)：古川文夫，今沢孝喜，西川秋佳，広瀬雅雄。

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10年5月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

納豆菌ガムの90日間毒性試験(中間報告)：今沢孝喜，古川文夫，西川秋佳，広瀬雅雄

食品添加物安全性再評価費(平成8年4月～平成9年3月)，平成10年5月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

シソ抽出物の90日間毒性試験(中間報告)：安原加壽雄，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8年4月～平成9年3月)，平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

キチンのラットにおける13週間亜慢性毒性試験(中間報告)：豊田和弘，畠山智香子，渋谷 淳，広瀬雅雄

食品添加物安全性再評価費(平成8年4月～平成9年3月), 平成10年5月厚生省生活衛生局食品化学課に報告.

D-キシロースの亜慢性毒性試験(中間報告): 今沢孝喜, 古川文夫, 西川秋佳, 広瀬雅雄
食品添加物安全性再評価費(平成9年4月～平成10年3月), 平成10年5月厚生省生活衛生局食品化学課に報告.

オレンジGの90日間毒性試験(中間報告書): 古川文夫, 今沢孝喜, 西川秋佳, 広瀬雅雄
食品添加物安全性再評価費(平成9年4月～平成10年3月), 平成10年5月厚生省生活衛生局食品化学課に報告.

没食子酸のラットにおける13週間亜慢性毒性試験(中間報告): 豊田和弘, 穴山智香子, 渋谷淳, 広瀬雅雄
食品添加物安全性再評価費(平成9年4月～平成10年3月), 平成10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10年3月), 平成10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: 能美健彦, 松井恵子, 増村健一, 山田雅巳, 祖父尼俊雄
(平成3年4月～平成10年3月), 平成10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
(平成元年4月～平成10年3月), 平成10年3月労働省労働基準局化学物質調査課に報告.

水質汚染モニタリングのための遺伝毒性を指標としたバイオセンサー系の開発: 林真, 松岡厚子, 本間正充, 鈴木孝昌, 祖父尼俊雄
(平成8年4月～平成10年3月), 平成10年3月環境庁企画調整局環境技術課に報告.

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10年3月), 平成10年3月厚生省医薬安全局審査管理課に報告.

化学物質の総合的安全性評価手法に関する研究: 能美健彦, 松井恵子, 祖父尼俊雄
(平成5年4月～平成10年3月), 平成10年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告.

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, 山田雅巳, 増村健一, 松井恵子, 祖父尼俊雄
(平成6年4月～平成11年3月), 平成10年3月科学技術庁原子力局技術振興課に報告.

ヒト初代培養系細胞の樹立と研究資源化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10年3月), 平成10年3月厚生省厚生科学課に報告.

培養細胞マスター・バンク整備に必須な品質管理手法の開発と情報サーバー構築に関する研究: 水沢博, 増井徹, 田辺秀之, 祖父尼俊雄

(平成6年4月～平成10年3月), 平成10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, 黒川雄二, 井上達, 大野泰雄, 高橋道人, 祖父尼俊雄, 中館正弘, 安藤正典, 神沼二真

厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月), 平成10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手法に関する研究: 中館正弘, 鎌田栄一, 広瀬明彦

厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月), 平成10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.

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, 金城芳秀*, 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10年3月), 平成10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.

* 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10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.

医薬品の迅速分析法: 谷本剛, 岡田敏史

監視指導課迅速分析法作成費(昭和57年3月～), 平成9年8月医薬安全局監視指導課に報告.

一般医薬品の品質試験法に関する研究: 真弓忠範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, 吉田乘繼⁹

厚生科学研究(平成8年4月～平成9年3月), 平成9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)

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, 嶋林三郎

厚生科学研究(平成6年3月～), 平成10年3月医薬安全局審査管理課に報告.

食品中食品添加物の分析法の設定(トコフェロールの内部標準品について): 辻澄子, 石光進, 柴田正

食品等試験検査費(平成9年4月～10年3月), 平成10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(クエルセチンの分析法)：
辻 澄子, 石光 進, 柴田 正
食品等試験検査費(平成9年4月～10年3月), 平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告.

フリーラジカル生成の多価不飽和脂肪酸及び食用着色料並びにラジカル捕捉の酸化防止剤の安全性に関する研究：辻 澄子, 石光 進, 藤本貞毅*, 酒井綾子, 手島綾子
厚生科学研究費特別研究(平成9年4月～10年3月), 平成10年4月厚生省厚生科学課に報告.

* 京都薬科大学

食品中残留農薬迅速分析法開発検討委員会平成9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9年4月～10年3月), 平成10年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告.

新開発食品素材の安全性評価に関する研究, ヘスペリジンの脂質代謝を指標とした安全性評価に関する研究：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9年4月～平成10年3月), 平成10年4月厚生省生活衛生局食品保健課新開発食品保健対策室に報告.

食品添加物公定書ヒ素試験法における“検液の調製”の改

良に関する検討：石光 進, 三島郁子, 辻 澄子, 柴田 正
食品等試験検査費(平成9年4月～平成10年3月), 平成10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, 超臨界流体抽出及びHPLC, GCによる穀類中各種残留農薬の一斉分析法の検討：吉井公彦, 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9年4月～10年3月), 平成10年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告.

農産物における複数農薬の残留実態の把握に関する調査研究, ポストカラム反応蛍光検出HPLCを用いるN-メチルカルバメート系農薬とそれらの代謝物の分析法に関する研究：津村ゆかり, 中村優美子, 吉井公彦, 外海泰秀, 柴田 正
厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月), 平成10年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告.

残留農薬分析のGLP対応に関わるクロマトグラフィー手法の研究：津村ゆかり, 中村優美子, 吉井公彦, 外海泰秀, 柴田 正
厚生科学研究(平成9年4月～平成10年3月), 平成10年4月厚生省大臣官房厚生科学課に報告.

Aoyagi, N.: **Japanese regulatory perspective**
Controlled Release Society Workshop, Stockholm, Sweden
(1997. 6)

Aoyagi, N.: **The role of in vitro dissolution tests in the assurance of in vivo performance**
The 4th International Conference on Harmonization,
Brussels, Belgium (1997. 7)

Kaniwa, N.: **Analytical Procedures**
The Fourth International Conference of Harmonization
(1997. 7)

青柳伸男：生物薬剤面での日米ガイドライン設定に向けて
第12回生体成分の分析化学シンポジウム (1997. 8)

Kaniwa, N.: **Regulatory Aspects of Delivery System-Regulation in Japan**
KSP and CRS Joint Symposium on Recent Advances in
Drug Delivery and Biomaterials (1997. 9)

青柳伸男：生物学的同等性試験における溶出試験の役割
創剤フォーラム第5回談話会(1997. 10)

鹿庭なほ子：分析法バリデーション—行政的側面
第8回クロマトグラフィー科学会(1997. 10)

青柳伸男：医薬品の同等性試験の展望について
第34回全国薬事指導所協議会(1997. 10)

Kaniwa, N., Katori, N., Aoyagi, N., Kojima, S., Ishigame, N.^{*1}, Seta, Y.^{*1}, Shinba, T.^{*1}, Fujiwara, K.^{*2}, Nakai, T.^{*2} and Oda, Y.^{*2}: **Collaborative Study on the Validation of Dissolution Testing : Assessment of the Vibration from Dissolution Apparatuses**

1997AAPS Annual Meeting & Exposition (1997. 11)

^{*1} The Pharmaceutical Manufacturers Association of Tokyo

^{*2} Osaka Pharmaceutical Association

青柳伸男：医薬品の同等性試験
滋賀県薬事指導所講演会(1997. 12)

青柳伸男：生物学的同等性試験の展望：後発品、スケールアップ、含量違い、处方変更
富山県薬事研究所講演会(1998. 2)

小村純子、青柳伸男、香取典子、鹿庭なほ子、小嶋茂雄：
徐放性製剤評価における回転透析セル法の有用性
日本薬学会第118年会(1998. 3)

青柳伸男、香取典子、鹿庭なほ子、小嶋茂雄、田中浩一郎^{*}、木村在久^{*}、秦武久^{*}：製剤評価におけるヒトホモジネット食摂取犬の有用性：アセトアミノフェン徐放顆粒の放出挙動

日本薬学会第118年会(1998. 3)

* 藤沢薬品工業(株)開発第二研究所

鹿庭なほ子、香取典子、青柳伸男、小嶋茂雄、石亀則子^{*1}、瀬田康生^{*1}、榛葉徹^{*1}、藤原和文^{*2}、中井亨^{*2}、小田容

三^{*2}：溶出試験法のバリデーション；装置の振動レベルの評価

日本薬学会第118年会(1998. 3)

^{*1} 東京医薬品工業協会

^{*2} 大阪医薬品協会

Kelly, R. M.* , Izutsu, K. and Carpenter, J. F.*: **Effect of collapse during freeze-drying on protein structure.**

Colorado Biopharmaceutical Delivery Conference (1997. 7)

* University of Colorado, USA

吉岡澄江、阿曾幸男、小嶋茂雄：タンパク質凍結乾燥製剤のガラス転移温度と、NMRで測定される分子運動性との関係

第36回 NMR 討論会(1997. 10)

阿曾幸男、吉岡澄江、小嶋茂雄：パルス磁場勾配NMRによるハイドロゲル製剤中のインスリン分子拡散の測定と放出速度との関係

第36回 NMR 討論会(1997. 10)

Izutsu, K., Heller, M. C.* , Randolph, T. W.* , and Carpenter, J. F.*: **Effect of Salts and Sugars on Phase Separation of Frozen Aqueous Polyvinylpyrrolidone (PVP)-dextran Solution Induced by Freeze-concentration.**

American Association of Pharmaceutical Scientist, 11th Annual Meeting (1997. 11)

* University of Colorado, USA

Izutsu, K., Manning, M. C.* , and Carpenter, J. F.*: **Different effect of stabilizers against freezing and freeze-drying induced secondary structural change of β -lactoglobulin B.**

American Association of Pharmaceutical Scientist, 11th Annual Meeting (1997. 11)

* University of Colorado, USA

Izutsu, K., Heller, M. C.* , Randolph, T. W.* , and Carpenter, J. F.*: **Lyotropic-dependent effect of inorganic salts on crystallization of poly(ethylene glycol)in frozen solutions**

American Association of Pharmaceutical Scientist, 11th Annual Meeting (1997. 11)

* University of Colorado, USA

Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: **Dependence of Protein Stability of Macromolecular Excipients in Freeze-Dried Formulations**

American Association of Pharmaceutical Scientists, 11th Annual Meeting (1997. 11)

吉岡澄江、阿曾幸男、小嶋茂雄：タンパク質凍結乾燥製剤のガラス転移温度(T_g)とNMR緩和による分子運動性の限界温度(T_{mc})に及ぼす高分子添加剤の影響

日本薬剤学会第13年会(1998. 3)

阿曾幸男、吉岡澄江、小嶋茂雄：ハイドロゲルの放出特性の指標としてのNMRで測定した拡散係数の有用性

日本薬剤学会第13年会(1998. 3)

伊豆津健一、吉岡澄江、小嶋茂雄、Randolph, T.W.* , Carpenter, J. F.*: **凍結溶液中のポリマー相分離と共存物質**

の影響

日本薬剤学会第13年会(1998.3)

* University of Colorado, USA

Y. Luo, 吉岡澄江, 阿曾幸男, 小嶋茂雄: 両親媒性ハイドロゲルのpH応答型薬物放出

日本薬学会第118年会(1998.3)

Y. Luo, 阿曾幸男, 吉岡澄江, 小嶋茂雄: 両親媒性ハイドロゲルの膨潤特性に及ぼす組成およびpHの影響

日本薬学会第118年会(1998.3)

伊豆津健一, Kelly, R. M.*., Carpenter, J. F.*: 凍結乾燥時のコラプスのタンパク質2次構造への影響

日本薬学会第118年会(1998.3)

* University of Colorado, USA

中原雄二: 覚醒剤の体内動態と検出法

第19回日本中毒学会(1997.7)

木倉瑠理, 中原雄二: 妊娠中プロン液及び覚醒剤乱用の母親と新生児の毛髪分析例

第19回日本中毒学会(1997.7)

中原雄二: 薬物乱用の身体への影響

第5回薬物乱用防止教育研修会(1997.8)

Nakahara, Y.: Diagnosis of Drug History During Pregnancy by Hair Analysis. Maternal Methamphetamine Abuse.

1997 The International Association of Forensic Toxicologists, Padova, Italy (1997.8)

Nakahara, Y., Kikura, R.: Incorporation Behavior of Amphetamines in Rat Hair Root

5th International Conference of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology, Vancouver, Canada (1997.11)

Nakahara, Y.: Hair Analysis for Hallucinogens (LSD, MDMA and PCP)

Expert group meeting on detection and assay of hallucinogens (e.g. LSD, PCP) and methaqualone in biological specimens, Barcelona, Spain (1997.11)

渡部基信*, 木村郁子*, 川満 徹*, 津田明美*, 林 修平*, 中村凱次*, 中原雄二: 新生児離脱症候群の1例

第42回日本未熟児新生児学会(1997.11)

* 福井赤十字病院小児科

Hayakawa, T.: New Medicines from Biotechnology : Overview : International Endeavor Toward Harmonization of Technical Requirements in Biotechnology

The Fourth International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Brussels, Belgium (1997.7)

Kawanishi, T.: New Medicines from Biotechnology : Cell Substrate

The Fourth International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (1997.7)

中西真人¹, 水口裕之^{1,2}, 芥 照夫^{1,3}, 名越絵美¹, 真弓忠範², 早川堯夫: 細胞内への遺伝子ターゲッティング法の開発

第13回日本DDS学会シンポジウム(1997.7)

¹ 大阪大学微生物病研究所² 大阪大学薬学部³ (株)ディナベック研究所

森本和滋, 内田恵理子, 川崎ナナ, A. A. Said*, 早川堯夫: エリスロポエチンの生物活性と糖鎖及びタンパク質構造に及ぼす活性酸素の影響

第19回糖質シンポジウム(1997.8)

* Zagazig University

Yamaguchi, T., Mukasa, T., Uchida, E., Kanayasu-Toyoda, T., Hayakawa, T.: Involvement of Nuclear Translocation of STAT3 in G-CSF-Enhanced Neutrophilic Differentiation of HL-60 Cells; Antagonized by GM-CSF IUBMB Conference '97 Meeting (1997.8)

El Borai, N., Inoue, M.*., LeFevre, C.*., Naumova, E. N.*., Yamamura, M.*., Hayakawa, T.: Diagnostic Nested PCR Assay to Detect Herpes Simplex Virus 1 DNA : Application to Menstrual Blood of Infertile Women

XV FIGO World Congress of Gynecology and Obstetrics (1997.8)

* 東海大学医学部

Morimoto, K., Tsuda, E.*¹, Said, A. A.*², Uchida, E., Hatakeyama, S.*¹, Ueda, M.*¹ and Hayakawa, T.: Bioactivity of Human Erythropoietin : Optimum Sialic Acid Content and Effect of Sialyltransferase Modification

XIVth International Symposium on Glycoconjugates (1997.9)

¹ 雪印乳業(株)生物科学研究所² Zagazig University

早川堯夫: バイオテクノロジー医薬品の特性解析、品質・安全性評価

第4回日中薬品分析技術セミナー, 天津, 中国(1997.9)

豊田淑江, 武笠 隆, 内田恵理子, 山口照英, 早川堯夫: 好中球分化におけるG-CSFの促進作用とGM-CSFの抑制作用(シグナル伝達レベルでの解析)

第70回日本生化学会大会(1997.9)

押澤 正, 山口照英, 鈴木和博, 山本行男*, 早川堯夫: カリクリンAによるヒト好中球のO₂⁻生成の阻害と67kDaのタンパク質のリン酸化状態の関連

第70回日本生化学会大会(1997.9)

* 都臨床研

渡部明子, 水口裕之^{1,2}, 江口暁子¹, 中西真人¹, 山口照英, 内田恵理子, 川西 徹, 真弓忠範², 早川堯夫: 膜融合リポソームの標的細胞特異性

第70回日本生化学会大会(1997.9)

¹ 大阪大学微生物病研究所² 大阪大学薬学部

内田恵理子, 早川堯夫, Chung, J.*., Grammer, T. C.*., Blenis, J.*: STATのセリンリン酸化におけるMAPKの役割

第70回日本生化学会大会(1997.9)

* Department of Cell Biology, Harvard Medical School

小木美恵子, 山口照英, 押澤 正, 鈴木和博, 岩田明子*, 田中建志*, 早川堯夫: HL-60細胞をモデルとした好中球の機能分化に伴う活性酸素産生系の各因子の発現調節について

第50回日本細胞生物学会大会(1997.9)

*埼玉日赤研究部

小林 哲, 福岡正道, 新見伸吾, 早川堀夫: フタル酸エステルの抗溶血作用

第19回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム(1997.9)

田中 光*, 関根敏行*, 川西 徹, 中村 竜*, 重信弘毅*: 心筋カルシウムトランジエントおよびスパークの共焦点マイクロ秒解析

第6回日本バイオイメージング学会学術集会(1997.10)

* 東邦大学薬学部

*2 ニコン(株)

山本雅幸, 川西 徹, 木内猛仁*, 大幡久之*, 百瀬和享*, 井上和秀, 早川堀夫: ラット初代培養海馬神経細胞におけるグルタミン酸およびイオノマイシンによる細胞内カルシウムイオンとpH変化の差異

第6回日本バイオイメージング学会学術集会(1997.10)

* 昭和大学薬学部

田中 光*, 西丸和秀*, 関根敏行*, 重信弘毅*, 川西 徹, 中村 竜*, 山垣浩司*: 高速走査型共焦点レーザー顕微鏡による心筋Ca²⁺の解析: β-アドレナリン受容体制激の影響およびsarcomere構造との関係

第41回日本薬学会関東支部大会(1997.10)

*1 東邦大学薬学部

*2 ニコン(株)

Suzuki, N.*, Kawasaki, N., Lee, R. T.* and Lee, Y. C.*: Quantum Dye (a Non-Radioactive Europium Chelate) for Quantitative Assays in Glycobiology

The 25th Meeting of the Society for Glycobiology(1997.11)

* Department of Biology, Johns Hopkins University

Deras, I. L.*, Kawasaki, N. and Lee, Y. C.*: Quantitative Recovery of Man,GlcNAc₂Asn Derivatives from Concanavalin A

The 25th Meeting of the Society for Glycobiology(1997.11)

* Department of Biology, Johns Hopkins University

押澤 正, 山口照英, 小木美恵子, 鈴木和博, 山本行男*, 早川堀夫: ヒト好中球による活性酸素生成酵素の活性化に伴いリン酸化される 67kDa のタンパク質について

第18回日本炎症学会(1997.11)

* 都臨床研

川西 徹: 画像化された細胞内カルシウムイオンのマイクロダイナミクス

創薬科学シンポジウム(1998.1)

山本雅幸, 藤田薰子*, 大幡久之*, 百瀬和享*, 井上和秀, 早川堀夫, 川西 徹: ラット海馬神経細胞における細胞内カルシウムイオンとpH調節のグルタミン酸による不可逆

的障害

第70回日本薬理学会年会(1998.3)

* 昭和大学薬学部

田中 光*, 関根敏行*, 川西 徹, 中村 竜*, 重信弘毅*: ラット心筋細胞収縮初期のサルコメア内Ca²⁺濃度の不均一性およびCa²⁺スパークとの関係

第70回日本薬理学会年会(1998.3)

*1 東邦大学薬学部

*2 ニコン(株)

関根敏行*, 高橋宗久*, 渡辺直子*, 小林芳郎*, 川西 徹, 田中 光*, 重信弘毅*: 新規ジヒドロピリジン誘導体AHC-93の免疫細胞および心筋に対する作用

第70回日本薬理学会年会(1998.3)

*1 東邦大学薬学部

*2 東邦大学理学部

前田 希*, 小菅 崇*, 豊島 聰*, 田村敏生*, 成内秀雄*, 川崎ナナ, 森本和滋, 早川堀夫: ヘルパーT細胞(Th1, Th2)表面のN-結合型糖鎖のFACE法による解析

日本薬学会第118年会(1998.3)

*1 星葉科大学

*2 東京大学医科学研究所

石崎 悟*, 大幡猛之*, 百瀬和享*, 中村 竜*, 川崎ナナ, 山本雅幸, 川西 徹, 早川堀夫: pH蛍光プローブcarboxySNARF-1の肝細胞内における蛍光スペクトル変化の解析

日本薬学会第118年会(1998.3)

*1 昭和大学薬学部

*2 ニコン(株)

高橋宗久*, 小林芳郎*, 渡部直子*, 田中 光*, 重信弘毅*, 川西 徹: NK細胞株YTNの細胞障害性に対するジヒドロピリジン化合物AHC-93の影響

日本薬学会第118年会(1998.3)

*1 東邦大学理学部

*2 東邦大学薬学部

小林 哲, 新見伸吾, 早川堀夫, 福岡正道: mRNA変動の高精度測定系としてのRT-PCR/HPLC法

日本薬学会第118年会(1998.3)

今津 進*, 米屋由理*, 中西 剛*, 水口裕之*, 堤 康夫*, 早川堀夫, 真弓忠範*: プラズミドベクターが及ぼすDNAワクチンの免疫誘導能への影響

日本薬学会第118年会(1998.3)

* 大阪大学薬学部

掛樋一晃*, 田中日出美*, 小田泰雄*, 森本和滋, 早川堀夫: 両性イオン存在下における糖タンパク質のキャビラリー電気泳動

日本薬学会第118年会(1998.3)

* 近畿大学薬学部

川西 徹, 山本雅幸, 柴山理恵, 内田恵理子, 渡部明子, 大幡久之*, 百瀬和享*, 井上和秀, 早川堀夫: 海馬神経細胞におけるグルタミン酸刺激によるpH変動について
レーザー顕微鏡研究会第21回講演会(1998.5)

* 昭和大学薬学部

早川堯夫：遺伝子治療用医薬品及び細胞治療用医薬品の品質・安全性等確保
第44回日本低温生物工学会セミナー(1998.5)

Ozaki, Y., Sakaguti, I., Tujimura, M., Ikeda, N., Nakayama, M., Kato, Y., Suzuki, H. and Satake, M.: Study of accelerative effect of shikonin and alkannin on the proliferation of granulation tissue in rats

International Symposium on Natural Medicines(1997.10)

阪本英二^{*1}, 小野景義, 阿部 誠^{*1}, Gaëten Jasmin^{*2}, 浩俊彦^{*1}, 村上康文^{*1}, 真崎知生^{*3}, 花岡文雄^{*1}, 豊岡照彦^{*1}: 心筋症ハムスターは、肥大型及び拡張型共にデルタ・カルコグリカン遺伝子の異常で発症する
第71回日本薬理学会年会(1998.3)

^{*1} 理化学研究所

^{*2} モントリオール大

^{*3} 京都大学医学部

^{*4} 東京大学医学部

Kawahara, N., Nozawa, M., Flores, D., Bonilla, P.^{*1}, Sekita, S., Satake, S. and Kawai, K.^{*2}: Novel sesterterpenoids from peruvian folk medicine "Hercampuri" (*Gentianella nitida* and *G. alborosea*)

International Symposium on Natural Medicines(1997.10)

^{*1} サンマルコス大学

^{*2} 星薬科大学

羽田紀康^{*1}, 横山裕作^{*2}, 村上恭興^{*2}, 川原信夫, 杉村 隆^{*1}, 若林敬二^{*1}: N-Aminophenyl-β-carboline 誘導体の合成と変異原性

第17回メディシナルケミストリーシンポジウム(1997.11)

^{*1} 国立がんセンター研究所

^{*2} 東邦大学薬学部

川原信夫, 関田節子, 河合賢一, 佐竹元吉: 植物内生菌 *Balansia cyperi* の代謝産物の研究 (3)

マイコトキシン研究会第46回学術講演会(1998.1)

* 星薬科大学

川原信夫: 日本と中国の薬局方における共通点と相違点
薬局方生薬に関する日中國際共同シンポジウム(1998.1)

川原信夫, 関田節子, 佐竹元吉, 萩原 熱^{*}, 衣塚高志^{*}: ブラジル生薬 *Canela de cheiro* より得られる IL-2遺伝子発現増強活性成分

日本薬学会第118年会(1998.3)

* 東京理科大学薬学部

黒柳正典^{*1}, 関 貴弘^{*1}, 林 達男^{*2}, 永島慶士^{*2}, 川原信夫, 関田節子, 佐竹元吉: *Cordia multispicata* の抗男性ホルモン物質の研究

日本薬学会第118年会(1998.3)

*1 静岡県立大学薬学部

*2 (株)ライオン

戸塚ゆ加里^{*1}, 羽田紀康^{*1}, 杉村 隆^{*1}, 若林敬二^{*1}, 鶴巻久美子^{*2}, 中澤裕之^{*2}, 川原信夫, 村上恭興^{*3}, 横山裕作^{*3}: *Norharman* と *o-toluidine* の共存下に生成する変異原物質の同定

日本薬学会第118年会(1998.3)

^{*1} 国立がんセンター研究所

^{*2} 星薬科大学

^{*3} 東邦大学薬学部

野沢幸平^{*1}, 佐藤達哉^{*1}, 河合賢一^{*1}, 山岡裕一^{*2}, 柿篤眞^{*2}, 勝屋敬三^{*2}, 佐藤 剛^{*3}, 萩原 廣^{*3}, 川原信夫: コムギ赤さび病菌の冬孢子形成誘導物質の研究Ⅱ
日本菌学会第42回大会(1998.5)

*1 星薬科大学

*2 筑波大学農林学部

*3 農業研究センター

Kamakura, H., Sekita, S., Takatori, K., Ito, H.* and Satake, M.: Effect of the gamma-irradiation on the microorganic contamination for crude drugs.

International Symposium on Natural Medicines(1997.10)

* 原研, 高崎

鎌倉浩之, 関田節子, 高島浩介, 鈴木明子, 成田紀子, 伊藤 均^{*}, 佐竹元吉: 生薬の微生物汚染に対する γ線照射に関する研究

日本薬学会118年会(1998.4)

* 原研, 高崎

Shirota, O., Vibha P., Sekita, S. and Satake, M.: Phenolic constituents from *Dalbergia cochinchinensis*

International Symposium on Natural Medicines(1997.10)

Kohjyouma, M., Iida, O., Yoshida, N.^{*1}, Hatakeyama, Y., Satake, M., Sekita, S. and Kohda, H.^{*2}: Random amplified polymorphic DNA analysis of *Angelica acutiloba* and its varieties

International Symposium on Natural Medicines(1997.10)

*1 北海道大学薬学部

*2 広島大学医学部総合薬学科

関田節子: 生薬の定量用標準品について

薬局方生薬に関する日中國際共同シンポジウム(1998.1)

奥山恵美^{*}, 高橋真理衣^{*}, 藤本治宏^{*}, 山崎幹夫^{*}, 関田節子, 佐竹元吉: ペルー民間薬 *Hierba Santa (Cestrum herdon-dinum)* の生理活性と成分

日本薬学会第118年会(1998.4)

* 千葉大学薬学部

樋口行人, 小野景義, 関田節子, 小野寺博志, 三森国敏, 佐竹元吉: 脳卒中易発症高血圧自然発症ラットの高血圧性腎障害に対する麻黄湯の効果

日本薬学会第118年会(1998.4)

樋口行人, 小野寺博志, 三森国敏, 小野景義, 関田節子, 佐竹元吉: 七物降下湯の脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(SHRSP)に対する効果

日本薬学会第41回関東支部大会(1997.10)

関田節子, 鎌倉浩之, 安田一郎^{*}, 浜野朋子^{*}, 佐竹元吉: 生薬に含まれる Aristolochic acid について

日本薬学会第118年会(1998.4)

* 都衛研

矢上 健, 配島由二, 中村晃忠, 小宮山忠純^{*}, 北川幸巳^{*}

: β-1,3-グルカナーゼ活性を有するラテックス抗原
(Hev b 2)の糖鎖部分の役割

第2回日本ラテックスアレルギー研究会(1997.7)

* 新潟薬科大学

大砂博之^{*1}, 山本美穂^{*1}, 高橋さなみ^{*1}, 武川るみ^{*1}, 宮沢めぐみ^{*1}, 大沼すみ^{*1}, 大沢純子^{*1}, 北村和子^{*1}, 池澤善郎^{*1}, 椿 和文^{*2}, 矢上 健: 多種の食物にも感作された, ラテックスアレルギーの1例—第2報 ラテックス成分による検査結果を中心

第2回日本ラテックスアレルギー研究会(1997.7)

^{*1} 横浜市立大学医学部

^{*2} AFT 研究所

矢上 健: 植物の生体防御蛋白質とラテックスアレルギー
第22回日本接触皮膚炎学会総会・学術大会(1997.11)

Ikezawa, Z.^{*1}, Osuna, H.^{*1}, Okajima, M.^{*1}, Onuma, S.^{*1}, Osawa, J.^{*1}, Kitamura, K.^{*1}, Tsubaki, K.^{*2} and Yagami, T.: A study of specific IgE antibodies to latex proteins in patients with atopic dermatitis

11th International Symposium on Contact Dermatitis (1997.6)

^{*1} 横浜市立大学医学部

^{*2} AFT 研究所

Ikezawa, Z.^{*1}, Osuna, H.^{*1}, Yamamoto, M.^{*1}, Okajima, M.^{*1}, Onuma, S.^{*1}, Osawa, J.^{*1}, Kitamura, K.^{*1}, Tsubaki, K.^{*2} and Yagami, T.: A study of latex allergy in patients with atopic dermatitis

International Symposium on Occupational, Environmental Allergy and Immune Diseases '97(1997.9)

^{*1} 横浜市立大学医学部

^{*2} AFT 研究所

Yagami, T., Sato, M., Nakamura, A., Akasawa, A.^{*1} and Ikezawa, Z.^{*2}: Plant defense-related enzymes as latex antigens

XVII International Congress of Allergology and Clinical Immunology(1997.10)

^{*1} 国立小児病院小児医療研究センター

^{*2} 横浜市立大学医学部

Kitagawa, K.^{*1}, Aida, C.^{*1}, Fujiwara, H.^{*1}, Yagami, T. and Futaki, S.^{*2}: Total solid-phase synthesis of human cholecystokinin (CCK)-39

Fifteenth American Peptide Symposium (1997.6)

^{*1} 新潟薬科大学

^{*2} 京都大学化学研究所

Yagami, T., Sato, M., Nakamura, A., Kitagawa, K.^{*1}, Aida, C.^{*1}, Fujiwara, H.^{*1} and Futaki, S.^{*2}: Self-stabilization of a tyrosine-O-sulfate residue in peptides by their own chain

14th International Mass Spectrometry Conference (1997.8)

^{*1} 新潟薬科大学

^{*2} 京都大学化学研究所

Yagami, T., Kitagawa, K.^{*1}, Aida, C.^{*1}, Fujiwara, H.^{*1}. and Futaki, S.^{*2}: Stabilization of tyrosine-O-sulfate residues through the formation of a conjugate acid-base pair

First International Peptide Symposium (1997.12)

^{*1} 新潟薬科大学

^{*2} 京都大学化学研究所

Kitagawa, K.^{*1}, Yagami, T., Aida, C.^{*1}, Fujiwara, H.^{*1}, Futaki, S.^{*2}, Kogire, M.^{*3}, Ida, J.^{*3} and Inoue, K.^{*3} : Desulfation vs. deprotection : Direct solid-phase synthesis of Tyr(SO₃H)-containing peptides using the S_N1-type deprotection procedure

First International Peptide Symposium (1997.12)

^{*1} 新潟薬科大学

^{*2} 京都大学化学研究所

^{*3} 京都大学医学部

北川幸己^{*1}, 間知嘉子^{*1}, 藤原英俊^{*1}, 矢上 健, 二木史朗^{*2} : 脱硫酸化反応 vs. 酸脱保護反応: S_N1型脱保護法による硫酸化チロシン含有ペプチドの直接的固相合成

第23回反応と合成の進歩シンポジウム(1997.11)

^{*1} 新潟薬科大学

^{*2} 京都大学化学研究所

北川幸己^{*1}, 間知嘉子^{*1}, 藤原英俊^{*1}, 矢上 健, 二木史朗^{*2} : S_N1型酸脱保護法による硫酸化チロシン含有ペプチドの合成

日本薬学会第118年会(1998.3)

^{*1} 新潟薬科大学

^{*2} 京都大学化学研究所

伊佐間和郎, 鹿庭正昭, 中村晃忠, 門馬純子* : 2-メルカプトベンズイミダゾール誘導体の皮膚感作性について
第34回全国衛生化学会技術協議会年会(1997.11)

* 医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構

伊佐間和郎, 鹿庭正昭, 中村晃忠, 門馬純子* : Thioureylene 化合物の皮膚感作性におけるメチル基の影響

日本薬学会第118年会(1998.4)

* 医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構

Nakaoka, R., Tsuchiya, T. and Nakamura, A. : The role of superoxide and interleukin 1 on the difference of tumor formation with polyetherurethanes

The 3rd far-eastern symposium on biomedical materials (1997.7)

中岡竜介, 土屋利江, 中村晃忠: ポリエチレン上の細胞間連絡機能と関連タンパク質の発現

第26回医用高分子シンポジウム(1997.7)

Tsuchiya, T., Nakamura, A., Wang, C., Sakaguchi, K., Yang, C. Z.^{*1} and Cooper, S. L.^{*2} : A new strategy for lowering the tumorigenic potentials of biomaterials

XIth World Congress of the International Society for Artificial Organs(1997.6)

^{*1} University of Nanjing

^{*2} University of Delaware

Tsuchiya, T., Wang, C., Yoshizawa, N., Nakaoka, R. and Nakamura, A.: A useful marker for designing safer tissue engineering products : Gap-junctional intercellular communication

1st Smith & Nephew International Symposium (1997.7)

土屋利江：米国組織工学会および Smith & Nephew Symposium での動向と in-vitro 評価法の進歩
日本バイオマテリアル学会講座(1997.8)

土屋利江：エキシマレーザーの生物傷害作用について
第11回国際眼研究会議 日本部会シンポジウム(1997.9)

土屋利江, 王 春仁, 中岡竜介, 吉沢直子, 中村晃忠：人工臓器材料の発癌機構に関する研究： polytetramethyleneglycol のギャップ結合連絡阻害機構
第70回日本生化学会大会(1997.9)

土屋利江, 王 春仁, 坂口圭介, 張 清, 中岡竜介, 中村晃忠 : ポリウレタンの発癌機構に関する研究：細胞内シグナルの活性化とギャップ結合コネキシンの機能・分子変化
第19回日本バイオマテリアル学会大会(1997.12)

坂口圭介, 土屋利江, 中村晃忠 : ポリエチレンテレフタレートの発癌プロモーター作用について—細胞間連絡阻害活性の検出
第19回日本バイオマテリアル学会大会(1997.12)

土屋利江：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
ヒューマンサイエンス基礎研究事業 官民共同プロジェクト研究成果シンポジウム

Tsuchiya, T., Wang, C., Nakaoka, R. and Nakamura, A.: A molecular mechanism of tumorigenesis of polyurethanes in vivo and in vitro.
89th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research(1998.3)

五十嵐良明, 土屋利江, 中村晃忠 : ポリ L-乳酸の加熱処理と骨芽細胞活性
第19回日本バイオマテリアル学会大会(1997.12)

五十嵐良明, 土屋利江, 中村晃忠 : ポリ L-乳酸による骨芽細胞様 MC3T3-E1細胞の活性化
日本薬学会第118年会(1998.3)

Kaniwa, M., Isama, K., Gun, L., Hino, H.*: A study on colour ingredients in plastic frame of eyeglasses causing allergic contact dermatitis
11th International Symposium on Contact Dermatitis (1997.6)

* 関東中央病院皮膚科

鹿庭正昭：ゴムによる遲延型アレルギーの原因究明：現状と今後の課題
第2回日本ラテックスアレルギー研究会(1997.7)

長谷川毅¹, 湧川基史¹, 服部尚子¹, 日野治子¹, 見城一敏², 鹿庭正昭：先セルに含まれる着色剤による接触皮膚炎の1例
日本皮膚科学会第731回東京地方会城南部会(1997.9)

¹ 関東中央病院皮膚科

² コンテス

Kaniwa, M., Isama, K., Gun, L., Hino, H.*¹, Shono, M.*²: Identification of a new allergenic dye C.I.Solvent Orange 60

in two cases of ear dermatitis from plastic eyeglass frames
4th Asia Pacific Environmental and Occupational Dermatology Symposium(1997.10)

*¹ 関東中央病院皮膚科

*² しょうの皮膚科

鹿庭正昭, 伊佐間和郎 : 抗菌防臭加工剤の安全性評価(17)
：抗菌防臭加工製品着用における皮膚常在菌への影響
第34回全国衛生化学技術協議会(1997.11)

鹿庭正昭 : 室内環境中のハプテンアレルゲンの分布
第22回日本接触皮膚炎学会学術大会(1997.11)

水足久美子*, 小野友道*, 鹿庭正昭 : 歯科治療の根管充填材料に配合された酸化亜鉛によるじんましんの2例
第22回日本接触皮膚炎学会学術大会(1997.11)

* 熊本大学医学部皮膚科

生野麻美子*, 鹿庭正昭 : めがねの先セルに使用された顔料 C.I.Solvent Orange 60 によるアレルギー性接触皮膚炎
第22回日本接触皮膚炎学会学術大会(1997.11)

* しょうの皮膚科

Shintani, H.: How to attain appropriate separation efficiency free from complicated biological matrix
Maria Curie Skłodowska University, Lublin, Poland(1997.1)

Shintani, H.: Complicated compound analysis using on-line automated SPE
Nicolaus Copernicus University, Torun, Poland(1997.10)

Shintani, H.: Comparison of selective efficiency between SPE and ultrafiltration
Maria Curie Skłodowska University, Lublin, Poland(1997.10)

Shintani, H.: Selective analysis of compounds in biological fluids and how to avoid artifact formation during treatment
30th Korean Chemical Society, Seoul, South Korea(1997.10)

Shintani, H.: How to validate sterility assurance using biological indicator
Validation Technology Institute, Palm Beach, FL(1998.1)

新谷英晴 : 医療用具の滅菌バリデーション : 生物指標による滅菌保証法
日本防菌防黴学会, 大阪(1998.2)

新谷英晴 : 第13回 GMP とバリデーションをめぐる諸問題に関するシンポジウム
日本防菌防黴学会, 大阪(1998.3)

佐藤道夫, 中村晃忠, 平野滋三*, 宮下健吾*, 長尾正憲* : 義歯床中モノマーの唾液への溶出に関する研究
第19回日本バイオマテリアル学会大会(1997.12)

* 東京医科歯科大学歯学部

中村晃忠 : 前臨床試験と材料評価

第11回日本 ME 学会秋季大会(1997.11)

中村晃忠 : 医療用具の生物学的評価の国際調和一進展と問

題点一日本の方向と課題

シンポジウム「医療用具の設計管理と生物学的評価：日米欧の動向」(1997.10)

中村晃忠：組織・細胞工学製品の規制環境について
第10回日本バイオマテリアル学会講座(1997.8)

中村晃忠：細胞・組織工学製品の規制環境
Bionic Design Workshop '98(1998.1)

Nakamura, A.: **Protein allergy: So-called "Latex Allergy"**
RCA Regional Training Course/Quality Control of RVNRL
(1997.7)

Nakamura, A.: **Other safety issues: Nitrosamines, cytotoxicity, sensitization, and pyrogenicity**
RCA Regional Training Course/Quality Control of RVNRL
(1997.7)

Hayashi, Y. and Matsuda, R.: **Routine check of analytical instruments : I. Superiority of theoretical SD prediction to common repetitive method.**

111th AOAC International Annual Meeting(1997.9)

林 譲：分析法バリデーションにおける精度について
第8回クロマトグラフィ科学会議(1997.10)

蒲生啓司¹, 篠原佳彦², 松田りえ子, 林 譲：定量精度に基づく LC-MS 計測法における最適化(2)：内部標準法の有効性に関する研究
第8回クロマトグラフィ科学会議(1997.10)

¹ 高知大学教育学部

² 東京薬科大学薬学部

勝峰万里^{*}, 岩木和夫^{*}, 松田りえ子, 林 譲：ベースライン揺らぎに基づくイオンクロマトグラフィの精度の検証
第8回クロマトグラフィ科学会議(1997.10)

* 莢原総合研究所

高山光男^{*}, 林 譲：質量分析測定の精度に関する研究
日本薬学会第118年会(1998.4)

* 東邦大学薬学部

林 譲, 松田りえ子：分析機器の検出限界を予測するソフト(TOCO)の試作
日本薬学会第118年会(1998.4)

勝峰万里^{*}, 岩木和夫^{*}, 松田りえ子, 林 譲：イオンクロマトグラフィの system suitability の検証法
日本薬学会第118年会(1998.4)

* 莢原総合研究所

松村年郎, 関田 寛, 安藤正典, 大塚健次^{*}：化学物質による室内汚染(23) トリス(2-クロロエチル)ホスフェートの放散量及び室内濃度の測定結果について
第38回大気環境学会(1997.9)

* 鋼管計測株

松村年郎, 浜田実香, 関田 寛, 安藤正典, 長田英二^{*}：化学物質による室内汚染(24) 居住環境内における VOC の測定結果について

第38回大気環境学会(1997.9)

* 電気化学計器株

松村年郎, 浜田実香, 関田 寛, 安藤正典：化学物質による室内汚染(25) 居住環境内における有機リン系化合物の測定法の検討とそのアプリケーションについて
第38回大気環境学会(1997.9)

松村年郎, 関田 寛, 浜田実香, 安藤正典：化学物質による室内汚染(26) TVOC 計の検討とそのアプリケーションについて
第38回大気環境学会(1997.9)

岡本繁雄¹, 松村年郎, 村松 学²：気密住宅における HCHO 濃度の減衰について
第38回大気環境学会(1997.9)

¹ 日本大学薬学部

² 武藏野女子大学

松村年郎：ホルムアルデヒドによる室内汚染
第38回大気環境学会(1997.9)

松村年郎：室内環境から発生する化学物質
第6回日本臨床環境医学会総会(1997.6)

松村年郎, 浜田実香, 関田 寛, 安藤正典, 忠地厚男^{*}：居住環境内の揮発性有機塩素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16回空気清浄とコンタミネーションコントロール研究大会(1998.4)

* アサヒ化学株

佐々野僚一^{*}, 松村年郎：ディスク型固相を用いた大気雰囲気中の有機リン化合物の分析

第16回空気清浄とコンタミネーションコントロール研究大会(1998.4)

* ジーエルサイエンス株

徳永裕司, 小笠知彦^{*}, 内野 正, 安藤正典：UVA による紫外線防御剤の *in vitro* 評価法に関する研究

日本化粧品技術者会第40回研究討論会(1997.6)

* 北里大学衛生学部

徳永裕司, 内野 正, 安藤正典：非イオン性界面活性剤のポリオキシエチレン(EO)鎖のメチルパラベン, サリチ酸の皮膚透過あるいは赤血球の溶血に及ぼす影響
香粧品科学会第22回学術大会(1997.6)

徳永裕司, 小笠知彦^{*}, 内野 正, 安藤正典：UVA による紫外線防御剤の *in vitro* 評価法に関する研究

第34回全国衛生化学技術協議会年会(1997.11)

* 北里大学衛生学部

徳永裕司, 内野 正, 安藤正典：界面活性剤の CHO 細胞への影響

日本薬学会第118年会(1998.3)

内野 正, 徳永裕司, 安藤正典：赤血球を用いた紫外線防

御剤の *in vitro* 評価法

日本香粧品科学会第22回学術大会(1997.6)

内野 正, 徳永裕司, 安藤正典: ヘマトポルフィリン-UVA 増感による 3 次元培養細胞(skinTM)中の過酸化脂質の生成及び細胞毒性発現に対する抗酸化剤及び紫外線吸収剤の防御効果
第5回生体パークサイド研究会(1997.9)

内野 正, 徳永裕司, 安藤正典: 過酸化脂質の培養細胞に対する細胞毒性及びサイトカイン放出への影響
日本薬学会第118年会(1998.3)

埴岡伸光, 神野透人, 西村哲治, 安藤正典: トリクロサンによるラット肝シトクロム P450 の誘導
第3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(1997.8)

神野透人, 埴岡伸光, 西村哲治, 安藤正典: 消毒副生成物の肝細胞毒性
第3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(1997.8)

埴岡伸光, 神野透人, 西村哲治, 安藤正典: ビスフェノール A によるラット肝シトクロム P450 の変動
日本薬学会第118年会(1998.3)

神野透人, 埴岡伸光, 香川(田中)聰子, 西村哲治, 安藤正典, 尾澤玉青*, 武田 健*: マトリゲル上で培養したラット肝細胞におけるクロロ-2-プロパン類の細胞毒性
日本薬学会第118年会(1998.3)

* 東京理科大学薬学部

石川雅章*, 林 讓, 松田りえ子: 分析機器の日常点検と Validation における精度と検出限界
第12回生体成分の分析化学シンポジウム(1997.8)

* 沼津保健所

Ishikawa, M.*¹, Matsuda, R., Hayashi, Y., Sasaki, K., Toyoda, M., Ishidzuki, Y.*² and Kato, T.*²: Routine check of analytical instruments : I. HPLC for food analysis
AOAC INTERNATIONAL the 111-th annual meeting (1997.9)

¹ Numadzu Health Center

² Analytical Instruments Calibration Cooperative Society

石川雅章*, 林 让, 松田りえ子: HPLC の日常点検と精度の検証
第8回クロマトグラフィー科学会議(1997.10)

* 沼津保健所

松田りえ子, 佐々木久美子, 豊田正武, 黒木俊郎*, 山井志朗*, 衛藤繁男*: 行政検査における精度管理システム構築に関する研究結果 平成 8 年の理化学部門外部精度管理調査(有機リン系農薬)
第34回全国衛生化学技術協議会年会(1997.11)

* 神奈川県衛生研究所

石川雅章¹, 永野隆夫², 松田りえ子, 林 让, 佐々木久美子, 豊田正武: HPLC のベースラインゆらぎに基づいた検出下限(LOD)の求め方について
第34回全国衛生化学技術協議会年会(1997.11)

*¹ 沼津保健所

*² 静岡県環境衛生科学研究所

高附 巧, 松田りえ子, 林 让, 佐々木久美子, 豊田正武: 多波長検出器を用いた HPLC における最適検出波長の選択
日本薬学会第118年会(1998.4)

根本 了, 佐々木久美子, 豊田正武, 尾添充津子*: 農作物中の残留農薬分析に対する超臨界流体抽出の適用—茶試料について—

日本食品衛生学会第74回学術講演会(1997.10)

* 横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター

Nemoto, S., Sasaki, K. and Toyoda, M.: Comparison of supercritical fluid extraction method and solvent extraction method for the analysis of pesticide residues in tea
2nd European Pesticide Residue Workshop(1998.5)

Lehotay, S. J.*¹, Krynnitsky, A. J.*² and Nemoto, S.: Comparison of different extraction, clean-up, and analytical techniques in the development of a multiresidue method for polar herbicides in soybean

2nd European Pesticide Residue Workshop(1998.5)

*¹ USDA Agricultural Research Service

*² US EPA Analytical Chemistry Laboratory

近藤一成, 鈴木 隆, 豊田正武: アルブミン存在下でのカテキン類の抗酸化性

'97朝霧シンポジウム(1997.10)

Kondo, K., Kurihara, M., Suzuki, T., Miyata, N., Toyoda, M.: Studies on antioxidative mechanisms of catechins against lipid peroxidation

215th ACS National Meeting(1998.3)

田中祐二*, 浦野泰照*, 樋口恒彦*, 長野哲雄*, 合田幸広, 稔山 浩, 豊田正武: Cu²⁺-アスコルビン酸-O₂ 系による窒素官能基を有する芳香族化合物の水酸化反応

第30回酸化反応討論会(1997.10)

* 東京大学薬学部

Nakamura, T., Kubota, K., Akiyama, H., Goda, Y., Toyoda, M.: NMR structural elucidation of proanthocyanidin at -40 °C

International Symposium on Natural Medicine(1997.10)

合田幸広: 食品中の生理活性物質

第17回家庭薬開発研究シンポジウム(1997.11)

中村高敏, 酒井信夫, 合田幸広, 豊田正武: モロヘイヤ (*Corchorus olitorius L.*) 種子中の新規強心配糖体について
日本薬学会第118年会(1998.3)

合田幸広, 阿部有希子, 稔山 浩, 豊田正武: アントシアニン類の RBL-2H3 細胞からのヒスタミン遊離抑制活性について
日本薬学会第118年会(1998.3)

中村高敏, 星野香織, 稔山 浩, 合田幸広, 豊田正武: クレソン中の *in vitro* 抗アレルギー活性成分について
日本薬学会第118年会(1998.4)

合田幸広, 酒井信夫, 中村高敏, 近藤一成, 稲山 浩, 豊田正武: モロヘイヤ (*Corchorus olitorius*) 及びその加工品中の強心作用成分の分析 (その2)
日本食品衛生学会第75回学術講演会(1998.5)

Akiyama, H., Teshima, R., Akasaka, R., Fujimori, K., Goda, Y., Sawada, J. and Toyoda, M.: Quantitative Evaluation of Passive Cutaneous Anaphylaxis (PCA) Using A Hand-Held Spectrophotometer

The 36th Annual Meeting of the Society of Toxicology (1997.3)

稻山 浩, 久保田薰, 星野香織, 中村高敏, 合田幸広, 豊田正武, 神田智正*, 柳田顕郎*: リンゴ未熟果実由来プロシアニジンの抗アレルギー活性について

第11回天然薬物の開発と応用シンポジウム(1997.8)

* ニッカウヰスキー(株)

稻山 浩, 星野香織, 手島玲子, 合田幸広, 澤田純一, 豊田正武: ニンジン汁のマウスにおける IgE, IgG 抗体産生に及ぼす影響

第4回免疫毒性研究会(1997.9)

稻山 浩, 合田幸広, 菊池 裕, 成田紀子, 鈴木明子, 高鳥浩介, 豊田正武, 一戸正勝*: 国産穀物から分離された *Fusarium moniliforme* 及び *F.proliferatum* のフモニシン産生能

日本食品衛生学会第74回学術講演会(1997.10)

* 東京家政大学

稻山 浩, 手島玲子, 合田幸広, 澤田純一, 星野香織¹, 谷村顕雄¹, 森 啓信², 稲熊隆博², 石黒幸雄²: ニンジン果汁の抗アレルギー活性について

日本薬学会第118年会(1998.4)

¹ 昭和女子大学

² カゴメ総合研究所

稻山 浩, 久保田薰, 徳住真帆, 中村高敏, 合田幸広, 豊田正武, 神田智正*, 柳田顕郎*: リンゴ未熟果実由来プロシアニジン少量体の *in vitro* 試験による抗アレルギー活性の評価

日本食品衛生学会第75回学術講演会(1998.5)

* ニッカウヰスキー(株)

宮原 誠, 伊藤 均¹, 長沢妙子², 豊田正武, 斎藤行生: オルトチロシン法による照射食品の検知
日本照射食品協議会第33大会(1997.12)

¹ 高崎原研

² 北里大

Miyahara, M., Ito¹, H., Kamimura², T., Toyoda, M., Saito, Y.: Determination of mitochondrial DNA damages by gamma-ray irradiation using PCR technique with random primers: A new detection procedure for irradiated foods.
215th ACS National Meeting, (1998.3)

*¹ The Japan Atomic Energy Research Institute
Takasaki Establishment

*² The University of Kitazato

Maitani, T., Kubota, H., Sato, K. and Yamada T.: HPCE analysis of phytochelatins and their desglycyl peptides

induced by cadmium in root cultures of *Rubia tinctorum* L.
The Fourth International Metallothionein Meeting (Kansas City, MO) (1997.9)

米谷民雄, 久保田浩樹, 佐藤恭子, 山田 隆: 重金属暴露による植物培養細胞のフィトケラチン類 (クラスⅢメタロチオネイン) の誘導—セイヨウアカネとセイヨウワサビの比較—

第9回金属の関与する生体関連反応シンポジウム(1998.5)

佐藤恭子, 坂元(佐々木)史歩, 安井義徳, 杉本直樹, 米谷民雄, 山田 隆: ファフィア色素及びヘマトコッカス藻色素の主色素成分

日本薬学会第118年会(1998.3)

久保田浩樹, 佐藤恭子, 山田 隆, 米谷民雄: セイヨウワサビ毛状根に誘導されるフィトケラチン類の研究
日本薬学会第118年会(1998.3)

坂元(佐々木)史歩, 佐藤恭子, 阿部雅美, 杉本直樹, 米谷民雄, 山田 隆: ウコン色素の成分分析及び光安定性について

日本食品衛生学会第74回学術講演会(1997.10)

杉本直樹, 合田幸広, 鈴木淳子, 山田 隆, 義平邦利, 米谷民雄, 黒柳正典*: コチニールカイガラムシの微量色素成分

日本薬学会第118年会(1998.3)

* 静岡県立大学薬学部

河村葉子: 食品用容器包装の照射滅菌

日本食品照射研究協議会第32回大会(1997.12)

河村葉子, 杉本直樹, 武田由比子, 山田 隆: 食品用ポリスチレン製品中のスチレンオリゴマーについて

日本食品衛生学会第75回学術講演会(1998.5)

杉田たき子, 川崎洋子, 石綿 肇, 山田 隆: キシリトル及び他の糖アルコールの定量法

第34回全国衛生化学技術協議会年会(1997.11)

山越葉子, 末吉祥子, 宮田直樹: C₇₀の生物活性—DNA切断活性と溶血活性—

第13回フラーレン総合シンポジウム(1997.7)

Miyata, N. and Yamakoshi, Y.: Biological Actions of [60]-Fullerene under Photoirradiation Conditions

Joint International Meeting of 192nd Meeting of The Electrochemical Society and 48th Meeting of The International Society of Electrochemistry (1997.9)

Yamakoshi, Y., Yamazaki, E., Sueyoshi, S., and Miyata, N.: Hemolytic Effect of Photoexcited [60]Fullerene

Joint International Meeting of 192nd Meeting of The Electrochemical Society and 48th Meeting of The International Society of Electrochemistry (1997.9)

Desai, D.*¹, Krzeminski, K.*¹, Ling, J - M.*¹, Chada, A.*¹, Miyata, N., Yagi, H.*¹, Jerina, D.*¹ and Amin, A.*¹: Synthesis and Identification of Benzo[c]chrysene metabolites

16th PAC Meeting(1997.11)

* NIDDK, NIH (USA)

栗原正明, 石井 圭, 笠原容子, 宮田直樹: プロテアーゼ阻害剤の合成鍵中間体アミノエポキシドの合成
第23回反応と合成の進歩シンポジウム(1997.11)

甲斐陽子, 山越葉子, 末吉祥子, 宮田直樹: 光照射下における C₆₀ の抗菌活性
第14回フラーレン総合シンポジウム(1998.1)

宮田直樹, 山越葉子, 井上英史¹, 小島正樹¹, 高橋健治¹,
岩田修永²: C₆₀ によるグルタチオン S-トランスフェラーゼの活性阻害メカニズムの解析
第14回フラーレン総合シンポジウム(1998.1)

¹ 東京薬科大 生命科学部
² 東京医科大 法医学

Yamakoshi, Y., Sueyoshi, S., and Miyata, N.: Mechanistic Studies of DNA-Cleavage by Photoexcited Fullerene (C₆₀ and C₇₀)

The First Regional Meeting on Medicinal Sciences: "The Roles of Free Radicals in Health and Disease" (1998.3)

Yamakoshi, Y., Sueyoshi, S., and Miyata, N.: Effects of C₆₀ and C₇₀ on the Biomembrane under Photo-irradiation

The First Regional Meeting on Medicinal Sciences: "The Roles of Free Radicals in Health and Disease" (1998.3)

Fukuhara, K., Nagakawa, M., and Miyata, N.: DNA strand scission by resveratrol and its polyhydroxylated stilbene analogues

215th ACS National Meeting (1998.3)

Kurihara, M and Miyata, N.: Stereoselective epoxidation with dioxiranes generated from ketones

215th ACS National Meeting (1998.3)

Miyata, N., Yamakoshi Y., Inoue, H.¹, Kojima, M.¹,
Takahashi, K.¹ and Iwata, N.²: Inhibition of Glutathione S-transferase by [60]Fullerene

215th ACS National Meeting (1998.3)

¹ 東京薬科大 生命科学部
² 東京医科大 法医学

丹野雅幸, 末吉祥子, 宮田直樹: 一酸化窒素とスーパーオキシドを遊離する化合物の合成
日本薬学会第118年会(1998.4)

末吉祥子, 丹野雅幸, 福原 潔, 宮田直樹: N-ニトロソ基を持つ徐放性 NO ドナーの合成
日本薬学会第118年会(1998.4)

今若直人*, 田中正一*, 末宗 洋*, 栗原正明: α, α-ジ置換アミノ酸より構成されるホモペプチドの合成とコンフォメーション解析
日本薬学会第118年会(1998.4)

* 九州大学薬学部

小林茂樹*, 若松秀隆*, 宮島理恵*, 壓地なほみ*, 石井耀子*, 田中 彰*, 宮田直樹: 合成ダブルストランドペプチドの培養細胞に対する作用: 情報分子としての役割

日本薬学会第118年会(1998.4)

* 昭和薬科大学 薬学部

Miyata, N., Yamakoshi Y., Inoue, H.¹, Kojima, M.¹,
Takahashi, K.¹ and Iwata, N.²: Mechanistic Study of the Inhibition of Glutathione S-transferase by C₆₀

193rd Meeting of The Electrochemical Society (1998.5)

¹ 東京薬科大 生命科学部

² 東京医科大 法医学

福原 潔, 宮田直樹: レスベラトロールによる DNA 切断反応の解析

第20回磁気共鳴医学会第2回 SFRRJapan 合同学会(1998.5)

Saito, Y., Teshima, R., Takagi, K., Yamazaki, T., Ikebuchi, H. and Sawada, J.: Enhancement of Growth Hormone-Binding Protein Release by Phorbol Ester
FEBS Special Meeting 1997 "Cell Signalling Mechanisms" (1997.7)

斎藤嘉朗, 手島玲子, 高木加代子, 山崎 壮, 池渕秀治,
澤田純一: ヒト成長ホルモン結合蛋白放出促進に関与する protein kinase C について

第70回日本生化学会大会(1997.9)

斎藤嘉朗, 手島玲子, 高木加代子, 山崎 壮, 池渕秀治,
澤田純一: ヒト成長ホルモン結合蛋白放出促進に関与する protein kinase C の分子種

日本薬学会第118年会(1998.4)

手島玲子: マスト細胞活性化のメカニズムについて
日本薬学会東海支部特別講演会(1997.7)

Teshima, R., Saito, Y., Ikebuchi, H., Nakanishi, M.¹,
Sawada, J. and Kitani, S.²: Effect of ecto-kinase inhibitor K252b on signal transduction of RBL-2H3 cells and human basophils

17th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology (1997.8)

¹ 名古屋市立大学薬学部

² 東京大学医学部

Nakanishi, M.*, Furuno, T.* Nakamura, R.* and Teshima, R.: Confocal and probe microscopy for studying cellular localization of signaling molecules in RBL-2H3 cells

17th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology (1997.8)

* 名古屋市立大学薬学部

手島玲子, 斎藤嘉朗, 池渕秀治, 澤田純一, 中西 守¹,
木谷誠一²: 好塩基球細胞内情報伝達系へのエクトキナーゼの関与について

第70回日本生化学会大会(1997.9)

¹ 名古屋市立大学薬学部

² 東京大学医学部

小野瀬淳一*, 手島玲子, 澤田純一: 小胞体 ATPase 阻害剤による RBL-2H3 細胞の TNF-α 誘導及びその作用機作について

第70回日本生化学会大会(1997.9)

* 明治薬大

古野忠秀*, 鈴木真弓*, 手島玲子, 澤田純一, 中西 守*: 好塩基球培養上清のPC12細胞の神経突起伸長への相乗効果

第70回日本生化学会大会(1997.9)

* 名古屋市立大学薬学部

手島玲子, 小野瀬淳一*, 澤田純一: 抗酸化剤及びバナデートのRBL-2H3細胞におけるTNF- α 産生促進について
第4回免疫毒性研究会(1997.9)

* 明治薬大

木谷誠一*, 手島玲子: マスト細胞におけるセリン/スレオノンキナーゼ

第47回日本アレルギー学会総会(1997.10)

* 東京大学医学部

木谷誠一*, 手島玲子, NR De Silva*, 森田 寛*: 環境汚染物質バナジウムによるマスト細胞活性化

第47回日本アレルギー学会総会(1997.10)

* 東京大学医学部

手島玲子, 澤田純一: 小胞体Ca²⁺-ATPase阻害剤によるマスト細胞からのヒスタミン遊離活性について
第2回日本ヒスタミン研究会(1997.11)

手島玲子, 畑尾正人*: 感作性試験

動物実験代替法の現状とOECDガイドラインに関するワークショップ(1998.1)

* 資生堂安全性・分析センター

Teshima, R., Saito, Y., Ikebuchi, H., Nakanishi, M.*¹, Sawada, J. and Kitani, S.*²: Effect of ectokinase inhibitor K252b on signal transduction of mast cells and basophils.

Third international workshop on signal transduction in the activation and development of mast cells and basophils (1998.3)

¹名古屋市立大学薬学部

²東京大学医学部

手島玲子, 稲山 浩, 合田幸広, 豊田正武, 澤田純一: マウス耳介を用いるPCA及びACA反応の定量的解析
日本薬学会第118年会(1998.4)

鈴木 亮^{*1}, 古野忠秀^{*1}, 中西 守^{*1}, 手島玲子, J. Bienenstein^{*2}: 神経節初代培養細胞から好塩基球へのシグナル伝達

日本薬学会第118年会(1998.4)

¹ 名古屋市立大学薬学部

² MacMaster University

Nagaishi, K.*¹, Akasaka, R., Sasaki, H., Yamaguchi, T., Kawanishi, T., Nishimaki-Mogami, T., Kasahara, T.*², Hayakawa, T. and Suzuki, K.: Participation of Cofilin in Activation of Leukocytes
FEBS Special meeting '97 Cell Signalling Mechanisms (1997.7)

* Kyoritsu College of Pharmacy

Nishimaki-Mogami, T., Okochi, E., Suzuki, K., Takahashi,

A.: Methylation of phosphatidylethanolamine is required for the assembly of apoB48-containing VLDL.

17th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology(1997.8)

佐々木晴代, 永石恵子*, 赤坂玲子, 最上(西巻)知子, 山口照英, 笠原 忠*, 早川堯夫, 鈴木和博: 白血球の機能発現におけるコフィリンの役割

第70回日本生化学会大会(1997.9)

* 共立薬科大学

赤坂玲子, 永石恵子*, 木下真澄*, 佐々木晴代, 最上(西巻)知子, 笠原 忠*, 鈴木和博: 白血球の遊走に対するNO-donorの効果

第70回日本生化学会大会(1997.9)

* 共立薬科大学

永石恵子*, 赤坂玲子, 佐々木晴代, 山口照英, 早川堯夫, 笠原 忠*, 鈴木和博: 白血球の活性化におけるコフィリンの役割

第27回日本免疫学会総会・学術集会(1997.10)

* 共立薬科大学

丸山若重*, 福島 健*, 三田智文*, 本間 浩*, 今井一洋*, 鈴木和博: 走化性物質によるモルモット好中球内のアクチソニン及びカルシウム動態の変化の同時測定

第6回日本バイオイメージング学会学術集会(1997.10)

* 東京大学薬学部

最上(西巻)知子, 鈴木和博, 嶺岸謙一郎: VLDL形成過程でのホスファチジルエタノールアミンメチル化の役割—fibrates類のPPAR非依存性血清脂質低下機構

日本薬学会第118年会(1998.3)

丸山若重*, 福島 健*, 三田智文*, 本間 浩*, 今井一洋*, 鈴木和博: 共焦点レーザー顕微鏡を用いた, 好中球内カルシウム動態とアクチン動態の可視化

日本薬学会第118年会(1998.3)

* 東京大学薬学部

三瀬勝利: 医薬品製造における微生物制御:品質保証のための微生物試験の国際動向について

日本防菌防黴学会第18回環境殺菌工学基礎講座(1997.8)

三瀬勝利: 衛生薬学面からみた食水系感染症の趨勢と対策

第1回衛生薬学フォーラム(1997.10)

三瀬勝利: 日本薬局方の微生物試験法及び滅菌法の改訂

第5回日本PDA年会(1997.11)

三瀬勝利: 医薬品の微生物試験法の国際動向

第9回生薬漢方製剤の微生物及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(1997.11)

三瀬勝利: 医薬品の微生物品質管理に関する国際動向

第13回GMPとバリデーションをめぐる諸問題に関するシンポジウム(1998.3)

安住聰子, 棚元憲一: 桂皮中の新規エンドトキシン中和物質の性状

第3回日本エンドトキシン研究会(1997.9)

安住聰子, 谷村顕雄*, 棚元憲一: 植物中の抗エンドトキシン中和物質

第71回日本細菌学会総会(1998.4)

* 昭和女子大学

細渕和成*, 棚元憲一: $^{60}\text{Co}-\gamma$ 線によるエンドトキシンの不活化(第3報)

第25回日本防菌防黴学会年次大会(1998.5)

* 東京都立産業技術研究所

Miyahara, M.: Detection of DNA cytosine-5-methyltransferase by PCR method

4th New England Biolabs Workshop on Biological DNA Modification(1997.9)

宮原美知子, 小沼博隆, 三瀬勝利: 血液成分を含む食品検体における腸管出血性大腸菌 O157 の PCR による毒素産生検出検査について

日本食品衛生学会第74回学術講演会(1997.10)

宮原美知子, 小沼博隆: PCR 反応を阻害するものについて
第20回日本分子生物学会年会(1997.12)

宮原美知子, 小沼博隆: 腸管出血性大腸菌 O157 の Shiga-like toxin 産生遺伝子配列による typing の試み
日本薬学会第118年会(1998.3)

小沼博隆: 食品の製造環境における微生物制御

日本防菌防黴学会第18回環境殺菌分野事例研究部会(1997.10)

小沼博隆: 食品の汚染原因特定のための微生物試験とその精度管理

日本防菌防黴学会第16回環境殺菌分野事例研究会(1998.2)

伊藤嘉典*, 小西良子, 春日文子*, 工藤由起子*, 岩城正昭*, 齊藤典子*, 熊谷 進*, 小沼博隆: *Escherichia coli* O157: H7 によるカイワレ大根の実験的汚染

第73回日本食品衛生学会(1997.5)

* 国立感染症研究所

高木弘隆*, 丸山 務*, 堂ヶ崎知格*, 小沼博隆: カイワレ大根の成育過程における強電解水の微生物制御効果

第73回日本食品衛生学会(1997.5)

* (株)環境衛生研究所

* 麻布大学

工藤由起子*, 熊谷 進*, 中川 弘*, 尾上洋一*, 寺西 大*, 小沼博隆: *Escherichia coli* O157: H7 検出法の検討: 菌株間の比較

第74回日本食品衛生学会(1997.10)

* 国立感染症研究所

* 財団法人東京顕微鏡院

* 神奈川県衛生研究所

中川 弘*, 安形則雄*, 赤羽壮資*, 甲斐明美*, 内村真佐子*, 内田貞夫*, 尾上洋一*, 金子通治*, 熊谷 進*, 工藤由起子*, 熊谷 学*, 後藤公吉*, 小沼博隆, 齊藤正路*, 丹野憲二*, 長 则夫*, 寺井克哉*, 中川 弘*, 貫名正文*, 堀川和美*, 正木宏幸*, 町垣栄壱*, 真原 進*: *Escherichia coli* O157: H7 の増菌培養条件の比較; 研究室間共同研究

究室間共同研究

第74回日本食品衛生学会(1997.10)

*1 財団法人東京顕微鏡院

*2 名古屋市衛生研究所

*3 社団法人日本食品衛生協会研究所

*4 東京都立衛生研究所

*5 千葉県衛生研究所

*6 財団法人食品薬品安全センター

*7 神奈川県衛生研究所

*8 山梨県衛生研究所

*9 国立感染症研究所

*10 岩手県衛生研究所

*11 新潟県保健環境科学

*12 財団法人日本冷凍食品検査協会

*13 財団法人日本食品分析センター

*14 栃木県保健環境センター

*15 静岡県環境衛生科学研究所

*16 神戸市環境保健研究所

*17 福岡県保健環境研究所

*18 埼玉県衛生研究所

*19 財団法人日本油料検定協会総合分析センター

*20 茨城県衛生研究所

熊谷 進*, 工藤由起子*, 小西良子*, 安形則雄*, 赤羽壮資*, 甲斐明美*, 内村真佐子*, 内田貞夫*, 尾上洋一*, 金子通治*, 熊谷 学*, 後藤公吉*, 小沼博隆, 齊藤正路*, 丹野憲二*, 長 则夫*, 寺井克哉*, 中川 弘*, 貫名正文*, 堀川和美*, 正木宏幸*, 町垣栄壱*, 真原 進*: 牛挽肉からの *Escherichia coli* O157: H7 の検出法; 研究室間共同研究

第74回日本食品衛生学会(1997.10)

*1 国立感染症研究所

*2 名古屋市衛生研究所

*3 社団法人日本食品衛生協会研究所

*4 東京都立衛生研究所

*5 千葉県衛生研究所

*6 財団法人食品薬品安全センター

*7 神奈川県衛生研究所

*8 山梨県衛生研究所

*9 岩手県衛生研究所

*10 新潟県保健環境科学研究所

*11 財団法人日本冷凍食品検査協会

*12 財団法人日本食品分析センター

*13 栃木県保健環境センター

*14 静岡県環境衛生科学研究所

*15 財団法人東京顕微鏡院

*16 神戸市環境保健研究所

*17 福岡県保健環境研究所

*18 埼玉県衛生研究所

*19 財団法人日本油料検定協会総合分析センター

*20 茨城県衛生研究所

尾上洋一*, 安形則雄*, 赤羽壮資*, 甲斐明美*, 内村真佐子*, 内田貞夫*, 金子通治*, 熊谷 進*, 工藤由起子*, 熊谷 学*, 後藤公吉*, 小沼博隆, 齊藤正路*, 丹野憲二*, 長 则夫*, 寺井克哉*, 中川 弘*, 貫名正文*, 堀川和美*, 正木宏幸*, 町垣栄壱*, 真原 進*: カイワレ大根からの *Escherichia coli* O157: H7 の検出法; 研究室間共同研究

第74回日本食品衛生学会(1997.10)

*1 財神奈川県衛生研究所

- *² 名古屋市衛生研究所
- *³ 社団法人日本食品衛生協会研究所
- *⁴ 東京都立衛生研究所
- *⁵ 千葉県衛生研究所
- *⁶ 財団法人食品薬品安全センター
- *⁷ 山梨県衛生研究所
- *⁸ 国立感染症研究所
- *⁹ 岩手県衛生研究所
- *¹⁰ 新潟県保健環境科学
- *¹¹ 財団法人日本冷凍食品検査協会
- *¹² 財団法人日本食品分析センター
- *¹³ 栃木県保健環境センター
- *¹⁴ 静岡県環境衛生科学研究所
- *¹⁵ 財団法人東京顕微鏡院
- *¹⁶ 神戸市環境保健研究所
- *¹⁷ 福岡県保健環境研究所
- *¹⁸ 埼玉県衛生研究所
- *¹⁹ 財団法人日本油料検定協会総合分析センター
- *²⁰ 茨城県衛生研究所

小沼博隆：わが国における検査法の公的評価
第18回日本食品衛生学会(1997.12)

増田高志^{*1}, 仁科徳啓^{*2}, 小沼博隆：牛およびヒト分離 *Escherichia coli O157* の各種性状

第18回日本食品衛生学会(1997.12)

- *¹ 静岡県環境衛生科学研究所
- *² (株)中部衛生検査センター

上田成子^{*1}, 山川純代^{*1}, 熊谷 進^{*2}, 小沼博隆, 桑原祥浩^{*1}：生食用野菜の洗浄・殺菌、特に強酸化電解水に関する研究

第18回日本食品衛生学会(1997.12)

- *¹ 女子栄養大学
- *² 国立感染症研究所

上田成子^{*1}, 熊谷 進^{*2}, 小沼博隆, 桑原祥浩^{*1}：生食用野菜の細菌学的研究

第18回日本食品衛生学会(1997.12)

- *¹ 女子栄養大学
- *² 国立感染症研究所

小澤一弘^{*1}, 仁科徳啓^{*1}, 久保亮一^{*2}, 増田高志, *³, 小沼博隆, 品川邦汎^{*4}：食品従事者は保菌検査における酵素基質添加選択分離培地の検討

第18回日本食品衛生学会(1997.12)

- *¹ (株)中部衛生検査センター
- *² 関東化学(株)
- *³ 静岡県環境衛生科学研究所
- *⁴ 岩手大学

Hara-Kudo, Y.*¹, Konuma, H., Onoue, Y.*², Nakagawa, H.*³, Kumagai, S.*¹: Evaluation of Enrichment Method for *Escherichia coli O157:H7* Isolation from Ground Beef and Radish Sprouts

International Conference on Emerging Infectious Diseases, Atlanta, USA (1988.3)

- *¹ 国立感染症研究所
- *² 神奈川県衛生研究所
- *³ 財団法人東京顕微鏡院

Sakai, A. and Teshima, R.: Promoting Activity of 2,5-Di(*tert*-butyl)-1,4-hydroquinone in the Transformation of BALB/3T3 Cells and its Relationship to the Increase in the Intracellular Free Ca²⁺ Level

17th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology (1997.8)

酒井綾子：2,5-ジ-*tert*-ブチル-1,4-ヒドロキノンのトランスフォーメーション促進作用と細胞内遊離Ca²⁺濃度の上昇との関連
第56回日本癌学会総会(1997.9)

土屋敏行^{*1}, 岩瀬裕美子^{*2}, 梅田 誠^{*3}, 酒井綾子他：
BALB/c 3T3 細胞による形質転換試験法の有用性の評価
：第1回共同研究の中間報告
日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

*¹ 昭和电工

*² 三菱化学

*³ 横浜市大

岩瀬裕美子^{*1}, 梅田 誠^{*2}, 酒井綾子, 田中憲穂^{*3}, 土屋敏行^{*4}, 筒井健機^{*5}, 中村好志^{*6}, 矢嶋信浩^{*7}：代謝協同阻害試験の有用性に関する協同研究

日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

*¹ 三菱化学

*² 横浜市大

*³ 食品薬品安全センター秦野研究所

*⁴ 昭和电工

*⁵ 日本菌大

*⁶ 静岡県大

*⁷ 雪印乳業

松谷佐知子：挿入因子ISIの△AB蛋白質とDNAの相互作用
第12回遺伝的組換えとその制御ワークショップ(1997.7)

松谷佐知子：細菌の挿入因子ISIのコードする蛋白質とDNAの相互作用
第20回日本分子生物学会年会(1997.12)

Takatori, K., Ohta, T.*¹, J-C. Park^{*2} and Akiyama, K.*³: Application of fluorescence staining technique on findings of viable and non viable fungal cells.
13th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology (1997.6)

*¹ 相模女子大学

*² 延世大学

*³ 国立相模原病院

Takatori, K., Kosuge, J. and Anzai, T.*: Mycological and ecological studies of guttural pouch mycoses.

8th International Conference on Equine Infectious Diseases (1998.3)

* 日本中央競馬会

高鳥浩介, 黄吉城, 鈴木明子, 成田紀子, 太田利子*：寒天平板法による真菌数の測定範囲と信頼性
第24回日本防菌防黴学会(1997.5)

* 相模女子大学

Kikuchi, Y., O'Brien, L.* and Brindley, D. N.*: Cell-

permeable ceramide induces MAP kinase activities and actin stress fiber formation in fibroblasts
17th International congress of biochemistry and molecular biology(1997.8)

* University of Alberta

中田琴子, 五十嵐貴子, 神沼二眞: 受容体データベースの高次化
日本生物物理学会第36回年会(1997.10)

中田琴子: タンパク質の二次構造解析
タンパク質立体構造の構築原理 IV(1997.12)

Nakata, K., Igarashi, T. and Kaminuma, T.: **Integrated Receptor Database** (受容体データベースの高次化)
Genome Informatics Workhop VIII(1997.12)

関沢 純, 大屋幸江: 農薬の安全性評価における不確実性要因の解析
日本農薬学会第23回大会(1998.3)

Sekizawa, J.: **Risk Information and Uncertainty Analysis Using Database**
The First Japan-China Joint Workshop on Environmental Risk Analysis(1998.3)

関沢 純: リスクコミュニケーションの基本と目的
川崎市先端産業環境対策協議会(1998.2)

関沢 純: リスク情報データベースによるリスク評価手法と不確実性分析
日本リスク研究学会第10回研究発表会(1997.11)

Sekizawa, J.: **Health and Ecological Risk Assessment for Organotin Pollution in Japan.**
SETAC (Society of Environmental Toxicology and Chemistry) 18th Annual Meeting(1997.11)

Igarashi, T. and Kaminuma, T.: **Pathway Search System Developed in Cell Signaling Networks Database**
ACEDB Conference'97(1997.8)

中野達也, 大竹千代子, 山本 都, 菅山典子, 瀧 明子, 長谷川式子, 五十嵐貴子, 神沼二眞: 内分泌系搅乱物質(Endocrine Disruptor)の3次元構造データベースと, それに基づいた構造活性相関について
第25回構造活性相関シンポジウム(1997.10)

平林容子, 児玉幸夫, 梅村隆志, 内藤克司, 内田雄幸, 井上 達: 造血前駆細胞とTGF-β: p53欠失マウスに由来する骨髄高増殖性前駆細胞(HPP-CFC)のTGF-βに対する反応性
第86回日本病理学会総会(1997.6)

Inoue, T., Cronkite, EP.*¹, Hirabayashi, Y., Yoshida, K.*², Bullis, JE.*¹, Umemura, T.: **Perturbation of Hemopoietic Stem-Cell Kinetics in Mice Treated with Azidothymidine.**
First International Symposium on Hematotoxicology in New Drug Development(1997.6)

*¹ Brookhaven National Laboratory

*² 放射線医学総合研究所

Hirabayashi, Y., Yoshida, K.*¹, Umemura, T. and Inoue, T.: **BRDURD-UV Cytocide-A Hematotoxicological Measure to Analyze Cell Cycle of the Hemopoietic Stem Cells.**

First International Symposium on Hematotoxicology in New Drug Development(1997.6)

* 放射線医学総合研究所

Hirabayashi, Y., Yokota, T.*¹, Sasaki, H.*², Yoshida, K.*³, Kodama, Y. Inoue, T.: **Bone Marrow Cells Derived from Transgenic Mice Carrying Human IL-3 Receptor Genes can Produce in vitro-Colonies with Human IL-3.**

10th Molecular Biology of Hematopoisis(1997.7)

*¹ 東京大学医科学研究所

*² 横浜市立大学医学部

*³ 放射線医学総合研究所

平林容子, 梅村隆志, Cronkite EP*, 井上 達: **Azidothymidine(AZT)長期投与による実験的骨髄異形成症候群—造血幹細胞動態と組織学的变化の検討—**
第24回日本日本毒科学会学術年会(1996.7)

* Brookhaven National Laboratory

平林容子, 梅村隆志, 児玉幸夫, 佐々木秀樹*¹, 吉田和子*², 相澤慎一*³, 黒川雄二, 井上 達: **種々の発がん性遺伝子改变動物における真の幹細胞動態—BrdUrd投与と近紫外線照射(UV)を組み合わせたBUVV法—**
第56回日本癌学会総会(1997.9)

*¹ 横浜市立大学医学部

*² 放射線医学総合研究所

*³ 熊本大学遺伝発生研究所

吉田和子*, 相澤史郎*, 平林容子, 神作仁子*, 井上 達: **C3H/Heマウスに戻し交配したP53遺伝子欠失状態が惹起した放射線誘発白血病の病型変化**
第56回日本癌学会総会(1997.9)

* 放射線医学総合研究所

Hirabayashi, Y., Yoshida, K.*¹, Kanno, J. and Inoue T.: **BRDURD-UV Cytocide-A Hematotoxicological Measure of the Cell Cycle of the Hemopoietic Progenitor Cells.**
The 39th Annual Meeting of the American Society of Hematology(1997.12)

* 放射線医学総合研究所

平林容子, 横田 崇*¹, 佐々木秀樹*², 吉田和子*³, 児玉幸夫, 井上 達: **B細胞コロニー形成の制御:ヒトIL-3の同受容体遺伝子導入マウス骨髄細胞の増殖と分化への影響**
第60回日本血液学会総会(1998.3) (ワークショップ)

*¹ 東京大学医科学研究所

*² 横浜市立大学医学部

*³ 放射線医学総合研究所

平林容子, 児玉幸夫, 梅村隆志, 内田雄幸, 内藤克司, 菅野 純, 井上 達: **ヒトIL-3受容体遺伝子導入マウス骨髄細胞の生産する, ヒトIL-3によって制御されるB細胞コロニー形成**
第87回日本病理学会総会(1998.4)

梅村隆志, 児玉幸夫, 平林容子, 井上 達, 野村達次*, 黒川雄二: **プロト型c-Ha-ras遺伝子導入マウスを用いた発がん短期in vivo assay系の開発**

第56回日本癌学会総会(1997.9)

* 実験動物中央研究所

梅村隆志, 甲斐幸恵, 佐井君江, 長谷川隆一, 黒川雄二, 井上 達: マウス肝二段階発がんモデルを用いたペンタクロロフェノール (PCP) のプロモーション作用の検討
第14回日本毒性病理学会(1998.2)

相賀裕美子, 畑 直美¹, 古関明彦²: 体節形成の分子機構: MespP1 および MespP2 ノックアウトマウスの解析
第20回日本分子生物学会(1997.12)

¹ 萬有製薬(株)つくば研究所

² 千葉大学医学部

Saga, Y.: Mesp2: a novel mouse gene expressed in the presegmented mesoderm and essential for segmentation initiation
Meeting on somite development(1997.10)

Saga, Y.: The function of MesP1 during gastrulation and somitogenesis
くまもと医学・生物科学シンポジウム(1997.11)

高木篤也, 広瀬明彦, 黒川雄二, 井上 達: Methyl methane sulfonate によるラット初代培養肝細胞のDNA-damage-inducible gene 産物レベルに対するペルオキシソーム増殖剤の影響
第24回日本毒学会(1997.7)

高木篤也, 広瀬明彦, 黒川雄二, 井上 達: Transforming growth factor-beta(TGF-beta)誘導ラット初代培養肝細胞の apoptosis 及び apoptosis 関連蛋白に対するペルオキシソーム増殖剤の影響
第56回日本癌学会(1997.9)

Takagi, A., Saga, Y., Hirabayashi, Y., Kitajima, S. and Inoue T.: Effects of hormonal compounds on embryonic stem cells
Workshop on reproductive toxicology(1997.10)

Kitajima, S., Takagi, A., Hirabayashi, Y., Saga, Y. and Inoue, T.: Simple and rapid sorting method along with the murine spermatogenesis, using flow cytometry
International Society for Analytical Cytology XIX International Congress(1998.2)

佐井君江, 長谷川隆一, 井上 達: Pentachlorophenol による培養肝細胞のギャップ結合細胞間コミュニケーション阻害
第56回日本癌学会総会(1997.9)

武木田薰*, 谷村顕雄*, 長谷川隆一, 佐井君江, 梅村隆志, 井上 達: 緑茶による肝障害の予防効果に関する研究
第74回日本食品衛生学会(1997.10)

* 昭和女子大学生活機構研究科

Kang, K.-S., Sai, K. and Inoue, T.: PCP-induced apoptosis is related to the inhibition of gap junctional intercellular communication through p53-dependent manner.
第87回日本病理学会総会(1998.4)

鈴木幸子, 斎藤 実, 川崎 靖, 松島裕子, 金子豊蔵, 井上 達: 有害重金属の生体内挙動に関する研究—カドミウム・ニッケル・鉛—

第8回日本微量元素学会(1997.7)

小野 敦, 関田清司, 廣瀬明彦, 小川幸男, 鈴木幸子, 斎藤 実, 内藤克司, 金子豊蔵, 降矢 強, 松本清司*, 田中 悟, 井上 達, 黒川雄二: トルエン吸入曝露のラットにおける生殖発生毒性 II. 周産期及び授乳期吸入曝露試験

第24回日本毒科学会学術年会(1997.7)

* 信州大学医学部・動物実験施設

Inoue, T.: Pre-clinic safety testing for biotechnology-derived pharmaceuticals.

Fall annual conference of Korean society of toxicology and Korean environmental mutagen society, 1997(1997.10)

井上 達, 菅野 純: 内分泌障害性化学物質 (endocrine disruptors) の検出の為の新しい試み
第14回日本毒性病理学会(1998.2)

井上 達, 高木篤也, 金子豊蔵: 将来の Biotechnological Products (バイオ医薬品) の毒性試験のあり方
第24回日本毒科学会(1997.7)

平林容子, 井上 達: 造血幹細胞の heterogeneity について

第70回日本組織培養学会シンポジウム(1997.5)

井上 達: 特別講演「内分泌障害性化学物質の科学的基礎」
第34回日本衛生化学生物学協議会年会(1997.11)

Ohno, Y., Sunouchi, M., Miyajima, A., Ogawa, Y., Umemura, T., Inoue, T. and Nagamatsu, N.*: Lack of preneoplastic changes and induction of CYP2B11 in the liver of dogs treated with CNP

日米科学協力事業セミナー(1997.5)

* Faculty of Pharmaceutical Sci., Nihon University.

Ohno, Y.: Recent Progress of the International Harmonization of Toxicological Testing, TOXICOKINETICS AsiaTox Workshop(1997.7)

Ohno, Y.: ICH-M3 guideline, Impact of new guideline for regulators
ICH-4(1997.7)

大野泰雄: 非臨床試験として如何なるデータがあれば良いか; 一般薬理試験

日本毒科学会ワークショッピング(1997.7)

Ohno, Y.: Harmonization of repeated dose tissue distribution studies and its implementation into Japanese guidelines (Application of quantitative whole body autoradiography)
Society for Whole Body Autoradiography(1997.9)

Ohno, Y.: Inter-laboratory validation of the in vitro eye irritation tests for cosmetic ingredients 1) overview of the validation study and Draize scores for the evaluation of the tests

ECVAM Working Group Meeting(1997.10)

大野泰雄：臨床試験に関連した非臨床試験実施タイミング
公定書協会講演会(1997.10)

大野泰雄：非臨床試験と臨床試験の接点をめぐって—
ICHでの臨床試験の実施と関連した非臨床試験実施タイミングに関するStep 4合意とその背景について—
日本薬物動態学会ワークショッピング(1997.11)

Ohno, Y.: Japan Health and Welfare Ministry's perspectives on drug-interactions

Second international symposium on drug interactions
(1997.11)

大野泰雄：動物実験代替法の現状とOECDガイドライン
に関するワークショッピング、1) イントロダクションと代替
法の現状

日本動物実験代替法学会ワークショッピング(1998.1)

大野泰雄：未来環境創造型基礎研究推進制度・講演会「化
学物質による生物・環境負荷の総合評価手法の開発」「in
vitro 安全性評価法に対するOECDの取り組み」
未来環境創造型基礎研究推進制度「化学物質による生物・
環境負荷の総合評価手法の開発」研究班主催(1998.3)

Inoue, K., Koizumi, S., Nakazawa, K. and Ueno, S.:
Reciprocal regulation by zinc ion of ATP-receptors.

9th International Symposium on Chromaffin Cell Biology,
Sapporo(1997.5)

井上和秀：ATP受容体オーバービュウ
岡崎生理学研究所シンポジウム(1997.7)

上野伸哉, 井上和秀：遺伝子強制発現系におけるP2X2およびP2X3の生理機能

岡崎生理学研究所シンポジウム(1997.7)

井上和秀, 中嶋一行*, 森本高子*, 菊池義明*, 小泉修一,
高坂新一*: ATP刺激による培養ミクログリアからの
Ca²⁺依存性ミクログリア放出

第40回神経化学会大会(1997.10)

* 国立精神神経センター・神経研究所

井上和秀, 上野伸哉, 畠山寿之：ATP誘発ドバミン分泌
過程におけるジルチアゼムの抑制作用
第20回日本神経科学大会(1997.7)

Koizumi, S. and Inoue, K.: Capacitative calcium entry in
cultured rat hippocampal astrocytes

27th Annual Meeting of Society for Neuroscience, New
Orleans, USA(1997.10)

Ueno, S. and Inoue, K.: Characterization of Ca²⁺ influx of
recombinant P2X receptors in C6-BU1 cells

27th Annual Meeting of Society for Neuroscience, New
Orleans, USA(1997.10)

中嶋一行*, 森本高子*, 本田静世*; 井上和秀, 高坂新一*
: ミクログリア機能調節に関わるATPの役割
第71回日本薬理学会年会シンポジウム(1998.3)

* 国立精神神経センター・神経研究所

井上和秀, 小泉修一, 吉良哲也*, 上野伸哉, 赤池紀扶*: 容量性Ca流入の研究ツールとしてのB104細胞
第71回日本薬理学会年会(1998.3)

* 九州大学医学部

山本雅之, 藤田薰子, 大幡久之*, 百瀬和享*, 井上和秀,
早川堯夫, 川西徹: ラット海馬培養神経細胞における細胞内カルシウムイオンとpH調節のグルタミン酸による不可逆的障害

第71回日本薬理学会年会(1998.3)

* 昭和大学薬学部

内田裕久¹, 畠山寿之¹, 吉元良太¹, 井上和秀, 赤池紀扶²: シルニジピンのラット単離心室筋および交感神経節細胞のカルシウム電流抑制

第71回日本薬理学会年会(1998.3)

¹味の素㈱

²九州大学医学部

小浜とも子, 上野伸哉, 井上和秀, 中沢憲一: P2X2およびP2X3受容体発現細胞における、細胞外ATP惹起反応に対する亜鉛およびカドミウムイオンの効果
第71回日本薬理学会年会(1998.3)

上野伸哉, 井上和秀, 喜多彩, 川島紘一郎*: ラットDRG神経細胞におけるP2X受容体の発達による変化

第71回日本薬理学会年会(1998.3)

* 共立薬科大学

小泉修一, 井上和秀: PC12細胞における容量性Ca流入
第71回日本薬理学会年会(1998.3)

井上和秀: オーバービュウ, ATP受容体
第75回日本生理学会大会(1998.3)

藤森觀之助: 神経毒性をめぐる諸問題と今後の展望; 各国における試験ガイドラインの動向
第24回日本毒科学会学術年会シンポジウム(1997.7)

Nakazawa, K.: ATP receptor/channels: their contribution to calcium regulation and modulation by neurotransmitters
Invited Lecture, Korean Biophysical Society Meeting
(1997.7)

中澤憲一, 劉敏, 井上和秀, 大野泰雄: ハチ毒フィラントキシンによるニコチン受容体チャネルの抑制; PC12細胞を用いての検討
第71回日本薬理学会年会(1998.3)

中澤憲一, 井上和秀: チャネル形成型ATP受容体(P2X受容体)の構造およびその機能との連関
第71回日本薬理学会年会シンポジウム(1998.3)

簾内桃子, 宮島敦子, 張宝旭, 紅林秀雄, 大野泰雄: 尿素系農薬および分解・代謝産物のラット肝細胞におよぼす影響
第24回日本毒科学会学術年会(1997.7)

小野田文俊*, 宮島敦子, 佐藤友里恵*, 関政幸*, 榎本武

美* : DNA 修復および減数分裂における出芽酵母 SGS1 の機能の解析

日本薬学会第118年会(1998.3)

* 東北大学薬学部

Miyajima, A., Seki, M.*, Onoda, F.*, Ohta, K.* Ohno, Y. and Enomoto, T.*: Functional analysis of SGS1 gene, a Yeast homologue of the Bloom's and Werner's syndrome genes, in meiosis

International Symposium on Molecular and Cellular mechanisms of genetic recombination(1998.3)

* 東北大学薬学部

紅林秀雄, 小澤正吾, 宮島敦子, 篠内桃子, 韓晶, 引間知広, 酒見和枝, 津田充宥, 大野泰雄: ジフェニルのラットおよび BDF1 マウスでの代謝(1)

日本薬学会第118年会(1998.3)

酒見和枝, 伊藤理恵乃, 宇佐見誠, 大野泰雄, 津田充宥: 2-Mercaptobenzimidazole (MBI) 及びそのメチル誘導体のラット甲状腺毒性発現相違のトキシコキネティクス (TK) —血中未変化体濃度に及ぼす反復投与の影響—

第24回日本毒科学会学術年会(1997.7)

津田充宥, 酒見和枝, 伊藤理恵乃, 宇佐見 誠, 大野泰雄: 2-Mercaptobenzimidazole (MBI) 及びそのメチル誘導体のラット甲状腺毒性発現相違のトキシコキネティクス (TK) —尿中未変化体量及び代謝物量に及ぼす反復投与の影響—

第24回日本毒科学会学術年会(1997.7)

杉山 隆*, 石井里枝*, 島田英世*, 酒見和枝, 津田充宥: ニワトリ胚を用いた薬効・毒性評価 (12) Mercaptobenzimidazole 及びその誘導体の甲状腺に及ぼす影響

日本動物実験代替法学会第11回大会(1997.11)

* 北里大学薬学部臨床薬学研究センター病態解析部門

津田充宥: 円滑な TK-GLP 運用をめざして

日本 QA 研究会第3回 GLP 部会総会(1998.2)

伊藤理恵乃*, 二階堂保*, 酒見和枝, 津田充宥: 亜硝酸捕捉剤チオプロリンのキラルの差による急性毒性及び血中濃度の比較

日本薬学会第118回年会(1998.3)

* 東邦大学薬学部

宇佐見誠, 酒見和枝, 津田充宥, 大野泰雄: 損傷因子 C3 の培養ラット胚における胚栄養因子としての機能

第37回日本先天異常学会学術集会(1997.7)

宇佐見誠, 酒見和枝, 津田充宥, 大野泰雄: ラット全胚培養における異種補体成分 C3 の胚栄養因子活性に関する研究

日本動物実験代替法学会第11回大会(1997.11)

中島幹夫*, 小林洋四郎*, 宇佐見誠, 大野泰雄: ラットへの経口および静脈内投与によるインジウムの催奇形性

第37回日本先天異常学会学術集会(1997.7)

* 旭化成工業株式会社

Toyoda, K., Uneyama, C., Shoda, T., Takada, K., Takahashi, M.: Tumor enhancement and foreign-body carcinogenesis

due to subcutaneous implantation of polyurethane sheets in rats treated with N-methyl-N-nitrosourea

9th Lorne Cancer Conference Joint Special Conference with the AACR(1997.2)

Furukawa, F., Nishikawa, A., Lee, I.-S.*¹, Imazawa, T., Kasahara, K., Imaida, K.*², Takahashi, M.: Sequential immunohistochemical observation of lipid peroxidation and cell proliferation in LEC rats

SOT Annual Meeting(1997.3)

*¹ Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

*² 名古屋市立大学医学部

安原加壽雄, 三森国敏, 児玉幸夫, 高橋道人, 野村達次¹, 林 裕造²: Urethane および vinyl carbamate の短期発癌試験におけるヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックマウスの感受性

第123回日本獣医学会(1997.4)

*¹ (財)実験動物中央研究所

*² 北里大学薬学部

林 新茂¹, 三森国敏, 安原加壽雄, 森 郁生², 志野晟生¹, 野村達次³: 実験動物の増殖性病変の進展に係る遺伝子変異

第123回日本獣医学会(1997.4)

*¹ 武田薬品工業(株)薬理研究所

*² 武田薬品工業(株)薬剤安全研究所

*³ (財)実験動物中央研究所

Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Lee, I.-S.*¹, Wakabayashi, K.*², Takahashi, M.: Inhibition by β -carotene of upper respiratory tumorigenesis in hamsters receiving diethylnitrosamine followed by cigarette smoke exposure

UICC Symposium(1997.5)

*¹ Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

*² 国立がんセンター研究所

池田尚子*, 今沢孝喜, 木村修一*: Mg 欠乏における栄養生理学的研究—特に病理組織学的研究—

第14回微量栄養素研究会シンポジウム(1997.5)

* 昭和女子大学生活科学部

古川文夫, 西川秋佳, 笠原健一郎, 李 仁善*, 田中卓二, 高橋道人: ラット胃粘膜を用いる胃発癌抑制物質短期検索法の検討

第4回日本がん予防研究会(1997.5)

* Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

西川秋佳, 古川文夫, 高橋道人: 劇症肝炎, Wilson 病及び原発性胆汁性肝硬変症における脂質過酸化生成物の発現

第86回日本病理学会総会(1997.6)

古川文夫, 西川秋佳, 高橋道人: WBN/Kob ラットの臍炎発生過程における脂質過酸化生成物の発現

第86回日本病理学会総会(1997.6)

Mitsumori, K., Wakana, S.*¹, Yamamoto, S.*², Kodama, Y., Yasuhara, K., Takahashi, M., Nomura, T.*¹, Hayashi, Y.*³,

Maronpot, R. R.^{*4}: Carcinogenic susceptibility of Hras2 transgenic mice to vinyl carbamate and ras gene mutation in induced lung tumors

The 1st International Conference of Asian Society of Toxicology (1997.6)

^{*1} (財)実験動物中央研究所

^{*2} 慶應大学医学部

^{*3} 北里大学薬学部

^{*4} National Institute of Environmental Health Sciences

Toyoda, K., Uneyama, C., Shoda, T., Takada, K., Mitsumori, K., Takahashi, M.: Enhancement of skin tumorigenesis due to subcutaneous implantation of polyurethane sheets in rats treated with N-methyl-N-nitrosourea

The 1st International Conference of Asian Society of Toxicology (1997.6)

Nishikawa, A., Uneyama, C., Furukawa, F., Uchida, K.^{*1}, Nath, R.^{*2}, Chung, F.-L.^{*2}, Kasahara, K., Takahashi, M.: Sequential demonstration of lipid peroxidation-related biomolecules in rat livers treated with carbon tetrachloride

1st International Conference of Asian Society of Toxicology (1997.6)

^{*1} 名古屋大学農学部

^{*2} American Health Foundation

安原加壽雄, 三森国敏, 村越美由紀*, 小林裕子*, 小野寺博志, 竹川潔, 高木久宜, 高橋道人: ラットの xylazine 毒性影響における代謝物 xylidine の意義

第24回日本毒学会学術年会(1997.7)

* (財)残留農薬研究所

竹川潔, 三森国敏, 森安眞津子^{*1}, 酒盛政光^{*2}, 安原加壽雄, 小野寺博志, 野村達次^{*3}, 高橋道人: ニトロフランのマウス卵巣腫瘍発生メカニズムに関する検討

第24回日本毒学会学術年会(1997.7)

^{*1} パナファーム・ラボラトリーズ

^{*2} 吉富製薬(株)安全性研究所

^{*3} (財)実験動物中央研究所

正田俊之, 森安眞津子*, 豊田和弘, 畠山智香子, 高田幸一, 安原加壽雄, 三森国敏, 高橋道人: nitrofurazoneによるラット精巣毒性発現メカニズムの検討

第24回日本毒学会学術年会(1997.7)

* パナファーム・ラボラトリーズ

小野寺博志, 三森国敏, 竹川潔, 安原加壽雄, 高橋正一^{*1}, 船越拓志^{*2}, 高橋道人: コウジ酸の甲状腺腫瘍プロモーション作用に関する研究

第24回日本毒学会学術年会(1997.7)

^{*1} (財)佐々木研究所

^{*2} 吉富製薬(株)薬物動態研究所

Ikeda, T.*; Imazawa, T., Kimura, S.*: Effect of Dietary Magnesium Deficiency in the Rat: Histological and Ultrastructural Examination

16th International Congress of Nutrition (1997.7)

* Showa Women's University

豊田和弘, 畠山智香子, 正田俊之, 高田幸一, 今沢孝喜, 三森国敏, 高橋道人: Methabenzthiazuron の肝腫瘍プロ

モーション作用の検討

第56回日本癌学会総会(1997.9)

高田幸一, 豊田和弘, 正田俊之, 畠山智香子, 黒川雄二, 高橋道人: 防炎加工剤 Bis-BP・Mg のラットにおける長期毒性試験

第56回日本癌学会総会(1997.9)

小野寺博志, 三森国敏, 竹川潔, 安原加壽雄, 藤本成明^{*1}, 高橋正一^{*2}, 高橋道人: コウジ酸のラット甲状腺腫瘍プロモーション作用とその発現メカニズム

第56回日本癌学会総会(1997.9)

^{*1} 広島大学原爆放射能医学研究所

^{*2} (財)佐々木研究所

正田俊之, 三森国敏, 小野寺博志, 豊田和弘, 畠山智香子, 高田幸一, 高橋道人: CYP1A1/2 誘導剤である β -naphthoflavone のラットにおける肝腫瘍プロモーション作用

第56回日本癌学会総会(1997.9)

竹川潔, 三森国敏, 小野寺博志, 安原加壽雄, 北浦敬介, 下武男, 高橋道人: ヨウ化カリウム長期大量投与ラットによるラット唾液腺における扁平上皮癌の誘発

第56回日本癌学会総会(1997.9)

今沢孝喜, 西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 李仁善, 田中丸善洋, 曽根秀子^{*1}, 内田浩二^{*2}, 池田尚子^{*3}, 高橋道人: LEC ラットにおける 4-hydroxy nonenal 修飾蛋白の超微形態学的観察

第56回日本癌学会総会(1997.9)

^{*1} 国立環境研究所

^{*2} 名古屋大学農学部

^{*3} 昭和女子大学生活科学部

安原加壽雄, 三森国敏, 森郁生^{*1}, 竹川潔, 小野寺博志, 野々山孝^{*1}, 高橋道人, 林裕造^{*2}: MNUR 誘発ハムスター肺増殖性病変に対する NNK の修飾作用

第56回日本癌学会総会(1997.9)

^{*1} 武田薬品工業(株)薬剤安全研究所

^{*2} 北里大学薬学部

笠原健一郎, 西川秋佳, 古川文夫, 池崎信一郎, 田中丸善洋, 李仁善*, 今沢孝喜, 高橋道人: ジョサマイシンの F344 ラットにおける癌原性試験

第56回日本癌学会(1997.9)

* Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

古川文夫, 西川秋佳, 笠原健一郎, 李仁善*, 今沢孝喜, 高橋道人: ハムスター-BOP 発がんモデルにおける魚粉と亜硝酸の同時投与の影響

第56回日本癌学会(1997.9)

* Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

小出彰宏*, 森幸雄*, 古川文夫, 西川秋佳, 高橋道人: シガレット煙(CS)の実験発癌に対する修飾作用

第56回日本癌学会(1997.9)

* 岐阜薬科大学

西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 李仁善^{*1}, 若林敬

二², 高橋道人: DEN と喫煙曝露で誘発されるハムスターの上気道腫瘍に対するβカロチンの抑制作用
第56回日本癌学会(1997.9)

*¹ Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

*² 国立がんセンター研究所

三森国敏, 安原加壽雄, 児玉幸夫, 高橋道人, 森 郁生¹, 山本 慧², 若菜茂晴³, 野村達次⁴, 林 裕造⁴: Urethane とその代謝物に対するヒトプロト型 c-Ha-ras トランスジェニックマウスおよび p53 ノックアウトマウスの発がん感受性および遺伝子変異
第55回日本癌学会(1997.9)

*¹ 武田薬品工業(株)中央研究所

*² 慶應大学医学部

*³ (財)実験動物中央研究所

*⁴ 北里大学薬学部

畠山智香子, 畠山寿之¹, 今沢孝喜, 高橋道人, 赤池紀扶²: ラット巨核球において環状ヌクレオチドは細胞内 Ca²⁺ 濃度の抑制と形態変化の抑制作用を持つ
第70回日本生化学会(1997.9)

*¹ 薬理部

*² 九州大学医学部

田村 啓, 豊田和弘, 正田俊之, 畠山智香子, 三森国敏, 高田幸一, 高橋道人: ピリジン・トリフェニルボランのラット免疫系組織への影響
第4回免疫毒性研究会(1997.9)

三森国敏: 免疫毒性試験ガイドラインの国際的動向: 免疫病理学の検査を中心
第4回免疫毒性研究会(1997.9)

Yamazaki, Y.¹, Furukawa, F., Nishikawa, A., Takahashi, M., Oka, S.²: Histochemical determination of esterase stereoselectivity in hamster pancreatic tumor

9th International Symposium on Chiral Discrimination (1997.10)

* 工業技術院

森 郁生¹, 三森国敏, 安原加壽雄, 林 新茂², 野々山孝¹, 野村達次³: 実験動物の増殖性病変の進展に係る遺伝子変異
第124回日本獣医学会(1997.10)

*¹ 武田薬品工業(株)薬剤安全研究所

*² 武田薬品工業(株)薬理研究所

*³ (財)実験動物中央研究所

三森国敏, 山本 慧¹, 野村達次²: ヒトのプロト型 c-Ha-ras 遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを用いる短期発癌試験法
日本薬学会第23回環境トキシコロジーシンポジウム(1997.10)

*¹ 慶應大学医学部

*² (財)実験動物中央研究所

木苗直秀¹, 谷所達幸¹, 今村希美¹, 古郡三千代¹, 下位香代子¹, 西川秋佳, 高橋道人: クロロフラノン MX の毒性と分解性
日本薬学会第23回環境トキシコロジーシンポジウム(1997.

10)

* 静岡県立大学食品栄養科学部

Takahashi, M., Nishikawa, A., Furukawa, F., Mori, Y.¹: Alteration of metabolic enzymes and cell kinetics by chemopreventive agents active against hamster pancreatic carcinogenesis

平成9年度財団法人高松宮妃癌研究基金 第2回国際ワーキングショップ(1997.11)

* 岐阜薬科大学

正田俊之, 三森国敏, 小野寺博志, 今沢孝喜, 豊田和弘, 畠山智香子, 池田尚子, 田村 啓, 高田幸一, 高橋道人: クロフィブレート投与ラットにおけるコネクシンの抑制と CYP の誘導との関連性
第14回日本毒性病理学会(1998.2)

小野寺博志, 三森国敏, 藤本成明¹, 安原加壽雄, 竹川 潔, 高橋道人: 鞣酸のラットにおける甲状腺腫瘍プロモーション作用の閾値の検討
第14回日本毒性病理学会(1998.2)

* 広島大学原爆放射能医学研究所

竹川 潔, 三森国敏, 小野寺博志, 高木久宜, 安原加壽雄, 高橋道人: 各種ヨウ素化合物の毒性標的部位としてのラット唾液腺の変化
第14回日本毒性病理学会(1998.2)

高木久宜, 三森国敏, 小野寺博志, 竹川 潔, 安原加壽雄, 高橋道人: ラット乳腺二段階発癌モデルにおける食物線維成分のプランタゴオバタ種皮末の発癌修飾作用
第14回日本毒性病理学会(1998.2)

安原加壽雄, 三森国敏, 小野寺博志, 高木久宜, 高橋道人: 2,6-Dimethylaniline 誘発ラット鼻腔腫瘍における初期病変の病理組織学的解析
第14回日本毒性病理学会(1998.2)

第14回日本毒性病理学会(1998.2)

桑原真紀¹, 乾 公正¹, 杉本加代子¹, 竹内幸子¹, 島中規行¹, 原田孝則¹, 小坂忠司¹, 真板敬三¹, 安原加壽雄, 三森国敏: チアンフェニコール投与ラットにおける精巣毒性の評価
第14回日本毒性病理学会(1998.2)

* (財)残留農薬研究所

田村 啓, 三森国敏, 安原加壽雄, 小野寺博志, 高橋道人, 野村達次¹, 林 裕造²: 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における Monocrotaline の影響
第14回日本毒性病理学会(1998.2)

*¹ (財)実験動物中央研究所

*² 北里大学薬学部

渋谷 淳, 三森国敏, 佐藤伸一¹, 小野寺博志, 高橋道人, 林 裕造², 安藤正典³: 塩化カドミウム 8 力月間投与ラットにおける体内蓄積と肝・腎毒性発現との関連性について
第14回日本毒性病理学会(1998.2)

*¹ イナリサーチ(株)第2研究所

*² 北里大学薬学部

*³ 環境衛生化学部

笠原健一郎, 古川文夫, 西川秋佳, 李 仁善*, 高橋道人 : p53 ノックアウトマウスの MNNG 投与による発がん性の検討

第14回日本毒性病理学会(1998.2)

* Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

今沢孝喜, 三森国敏, 小野寺博志, 竹川 潔, 西川秋佳, 池田尚子, 高橋道人 : Thiram の長期反復投与ラットに発現した神経毒性変化の超微形態学的解析

第14回日本毒性病理学会(1998.2)

西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 田中丸善洋, 池崎信一郎, 今沢孝喜, 李 仁善¹, 谷所達幸², 木苗直秀², 高橋道人 : ラット二段階胃発癌モデルにおける水道水中の変異原性物質 MX の影響

第14回日本毒性病理学会(1998.2)

*¹ Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

² 静岡県立大学食品栄養科学部

一鬼 勉, 三森国敏, 児玉幸夫, 高木久宜, 安原加壽雄, 小野寺博志, 高橋道人, 野村達次¹, Maronpot, R.R.²: p-Cresidine とその類似物質のヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入トランジエニックマウスにおける発がん標的性の検討 : 1. p-cresidine の投与実験

第14回日本毒性病理学会(1998.2)

*¹ (財)実験動物中央研究所

² National Institute of Environmental Health Sciences

古川文夫, 西川秋佳, 笠原健一郎, 北浦敬介¹, 内田浩二², 泉 啓介¹, 高橋道人 : ラット二段階胃発癌モデルにおける水道水中の変異原性物質 MX の影響

第14回日本毒性病理学会(1998.2)

*¹ 徳島大学医学部

² 名古屋大学農学部

糀谷高敏, 三森国敏, 児玉幸夫, 高木久宜, 安原加壽雄, 小野寺博志, 高橋道人, 野村達次¹, Maronpot, R. R.²: p-Cresidine とその類似物質のヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入トランジエニックマウスにおける発がん標的性の検討 : 2. P-anisidine の投与実験

第14回日本毒性病理学会(1998.2)

*¹ (財)実験動物中央研究所

² National Institute of Environmental Health Sciences

Takahashi, M., Furukawa, F., Nishikawa, A., Wakabayashi, K.: Dose-dependent inhibition by β -carotene of upper respiratory tumorigenesis in hamsters receiving diethyl-nitrosamine followed by cigarette smoke exposure

The Fourth Joint Conference of the American Association for Cancer Research and the Japanese Cancer Association (1998.2)

* 日本がんセンター研究所

Sofuni, T.: Harmonization of genotoxicity testing requirements

The 1st International Conference of Asian Society of Toxicology (1997.6)

王 雪, 鈴木孝昌, 伊藤俊明, 本間正充, 西川秋佳, 古川

文夫, 高橋道人, 祖父尼俊雄 : トランジエニックマウスにおける λcII セレクションを利用した突然変異検出系 第56回日本癌学会総会(1997.9)

宮田祐子*, 佐伯憲一*, 川添 豊*, 鈴木孝昌, 林 真, 祖父尼俊雄 : トランジエニックマウスを用いたキノリンの *in vivo* 突然変異誘発の検討

第56回日本癌学会総会(1997.9)

* 名古屋市立大学

Honma, M., Zhang, L.S., Hayashi, M., Takeshita, K., Nakagawa, Y.*., Tanaka, N.* and Sofuni, T.: Genomic instability by mutant p53 leading to allelic loss and translocation via illegitimate recombination

7th International Conference on Environ. Mutagens(1997.9)

* 食品薬品安全センター秦野研究所

Hayashi, M.: Integration of genotoxicity evaluation into general toxicology studies-Blood micronucleus assay in rodents

7th International Conference on Environ. Mutagens(1997.9)

Morita, T.* and Hayashi, M.: 1,4-Dixane: Lack of *in vitro* genotoxic activity

7th International Conference on Environ. Mutagens(1997.9)

* 日本グラクソ(株)

Miyata, Y.*., Saeki, K.*., Kawazoe, Y.*., Suzuki, T., Hayashi, M. and Sofuni, T.: Detection of quinoline-induced mutation in the lacZ transgenic mouse

7th International Conference on Environ. Mutagens(1997.9)

* 名古屋市立大学

Wang, Z., Suzuki, T., Itoh, T., Hayashi, M. and Sofuni, T.: Mutant frequencies and mutation spectra of lacI and lambda cII gene in Big Blue mice treated with dimethylnitrosamine

7th International Conference on Environ. Mutagens(1997.9)

The Collaborative Study Group for the Transgenic Mouse Mutation Assay/Mammalian Mutagenicity Study Group of the Environmental Mutagen Society of Japan (Organizer in chief : Suzuki, T.): Collaborative study on the transgenic mutation assay by JEMS/MMS

7th International Conference on Environ. Mutagens(1997.9)

Itoh, T., Suzuki, T., Wang, X., Hayashi, M., Nishikawa, A., Ikezaki, S., Furukawa, F., Takahashi, M. and Sofuni, T.: In vivo mutagenicity of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-F] quinoxaline (MEIQX) in lacI transgenic mice

7th International Conference on Environ. Mutagens(1997.9)

Katsuma, Y.*¹, Matsunaga, K.*¹, Suzuki, T., Sofuni, T., Asano, N.*², Tamura, H.*³, Higashikuni, N.*⁴ and Hayashi, M.: Automation of scoring micronucleated reticulocytes by image analysis in the mouse peripheral blood micronucleus assay

7th International Conference on Environ. Mutagens(1997.9)

*¹ 東洋紡(株)

*² 日東电工(株)

*³ 日本新薬(株)

*⁴ 伊藤ハム(株)

Sofuni, T., Honma, M., Hayashi, M., Shimada, H.*¹, Tanaka, N.*², Wakuri, S.*², Awogi, T.*³, Yamamoto, K. I.*⁴, Nishi, Y.*⁵, Nakadate, M.: Report of an international collaborative study of the mouse lymphoma assay using the microwell method

7th International Conference on Environ. Mutagens(1997.9)

*¹ 第一製薬(株)

*² 食品薬品安全センター秦野研究所

*³ 大塚製薬(株)

*⁴ 武田薬品工業(株)

*⁵ 日本たばこ産業(株)

Matsuoka, A., Ozaki, M., Takeshita, K., Sakamoto, H., Hayashi, M. and Sofuni, T.: Numerical aberration induction by benzo[a]pyrene and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene in Chinese hamster cell lines V79-MZ and V79

7th International Conference on Environ. Mutagens(1997.9)

Sofuni, T.: ICH and the Japanese regulatory view

1997 Fall Meeting of the Genetic Toxicology Association (1997.10)

林 真, 田中憲穂*¹, 高橋淳子*¹, 上田高嘉*², 早乙女京子*³, 佐々木 有*⁴, 祖父尼俊雄: 河川水の汚染モニタリング

日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

*¹ 食品薬品安全センター秦野研究所

*² 宇都宮大学

*³ 横浜市立衛生研究所

*⁴ 八戸高専

鈴木孝昌, 伊藤 悟*¹, 中嶋 圓*², 蜂谷紀之*³, 原 巧*⁴: 第2回トランスジェニックマウスを用いる変異原性試験に関する共同研究—各種変異原物質による臓器特異的な変異の誘発とその経時変化—

日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

*¹ 第一製薬(株)

*² 案評センター

*³ 秋田大学

*⁴ 食品薬品安全センター秦野研究所

Honma, M., Sofuni, T. and Hayashi, M.: Genomic instability in p53- and mismatch repair mutant human lymphoblastoid cells

Environ. Mutagen Society 29th Annual Meeting(1998.3)

笠松俊夫*, 鈴木孝昌, Allal Ouhtit*, Nicole Martel*, 山崎 洋*: PNA 導入による発がん物質特異的 mutation 検出のための好感度 allele specific PCR 法

日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

* IARC, France

本間正充, 張 立実, 林 真, 武下健次, 中川ゆづき*, 田中憲穂*, 祖父尼俊雄: p53 によるゲノム安定化機構

日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

* 食品薬品安全センター秦野研究所

鈴木孝昌, 王 雪, 林 真, 祖父尼俊雄: トランスジェニックマウス(MutaTMMouse)を用いた各種制がん剤変異原性の解析

日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

松岡厚子, 松浦克子, 坂本浩子, 林 真, 祖父尼俊雄: V79-MZ 細胞における, benzo[a]pyrene および 7,12-dimethylbenz[a]anthracene 処理による染色体数分布の経時的变化

日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

鈴木孝昌, 宇野芳文*¹, 出原賢治*², 馬場恒夫*², 馬庭二郎*³, 大河内亜紀子*¹, 王 雪, 林 真, 祖父尼俊雄, 鶴岡雅樹*⁴, 近藤耕治*⁴: 第2回トランスジェニックマウスを用いる変異原性試験に関する共同研究—I. Procarbazine を用いた検討

日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

*¹ 三菱化学

*² ダイセル化学(株)

*³ 石原産業(株)

*⁴ 塩野義製薬(株)

上田高嘉*, 百瀬真希*, 大塚章子*, 林 真, 祖父尼俊雄: 環境酸性化のバラタナゴ胚に与える影響

日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

* 宇都宮大学

高井明徳*¹, 上野紘一*², 祖父尼俊雄, 林 真: 河川魚を用いた小核試験法による水質汚染の細胞遺伝毒性評価

日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

*¹ 大阪信愛短期大学

*² 近畿大学農学部

浅野哲秀*¹, 東久邇眞彦*², 田村博信*³, 勝間祥行*⁴, 林 真: 末梢血網状赤血球を用いた小核試験のイメージアナライザによる自動化の検討

日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

*¹ 日東電工(株)

*² 伊藤ハム(株)

*³ 日本新薬(株)

*⁴ 東洋紡(株)

早乙女京子*, 林 真, 祖父尼俊雄: ウニ胚を用いる小核試験系で見られた低張海水による小核の誘発

日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

* 横浜市立衛生研究所

Wang, X., Suzuki, T., Itoh, T., Hayashi, M. and Sofuni, T.: Application of λcII positive selection system for Big Blue transgenic mice

The 4th Joint Conference of American Association Research and Japanese Cancer Association(1998.2)

島田弘康*¹, 三宅幸雄*², 森田 健*³, 若田明裕*⁴, 醍醐秀雄*⁵, 本間正充, 林 真, 田中憲穂*⁶, 若栗 忍*⁶, 青儀巧*⁷, 生塩紀子*⁸, 西 義助*⁹, 中館正弘, 本多頼子*¹⁰, 吉村 功*¹⁰, 祖父尼俊雄: 厚生省・製薬協マウスリンゴーマ tk 試験 (MLA) 共同研究 (第3報)

日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

*¹ 第一製薬(株)

*² 塩野義製薬(株)

*³ 日本グラクソ(株)

*⁴ 山之内製薬(株)

*⁵ 東京田辺製薬(株)

*⁶ 食品薬品安全センター秦野研究所

*⁷ 大塚製薬(株)

*⁸ 武田薬品工業(株)
 *⁹ 日本たばこ産業(株)
 *¹⁰ 東京理科大学

Hayashi, M., Matsuoka, A., Sakamoto, H., Yamazaki, N. and Sofuni, T.: **Correlation between micronucleus induction and chromosomal aberrations**

Environ. Mutagen Society 29th Annual Meeting (1998.3)

Matsushima, T.*¹, Ishidate, M. Jr.*², Morimoto, K.*³, Shimizu, H.*⁴, Koshi, K.*⁵ and Sofuni, T.: **Validation study of the *in vitro* micronucleus test using Chinese hamster lung cells**

Environ. Mutagen Society 29th Annual Meeting (1998.3)

*¹ 日本バイオアッセイ研究所
 *² オリンパス光学工業(株)
 *³ 大阪大学医学部
 *⁴ 慈恵会医科大学
 *⁵ セントラル自動車(株)

Sofuni, T.: **Report of the international collaborative study on the mouse lymphoma assay using the microwell and soft agar methods**

Environ. Mutagen Society 29th Annual Meeting (1998.3)

田辺秀之, 祖父尼俊雄, 水沢 博: (TTAGGG)_n 配列を用いた FISH 法による培養細胞株のテロメアの解析
日本組織培養学会第70回大会(1997.5)

増井 徹: 上皮細胞の創傷治癒機構
日本組織培養学会第70回大会(1997.5)

田辺秀之, 祖父尼俊雄, 水沢 博: テロメアおよびセントロメア DNA を用いた FISH 法による培養細胞株の染色体分析
第56回日本癌学会総会(1997.9)

田辺秀之, 祖父尼俊雄, 水沢 博: FISH 法による各種培養細胞株の染色体分析: テロメア癒合 (telomeric association) についての検討
日本人類遺伝学会第42回大会(1997.10)

増井 徹, 高田容子, 岡戸 清, 松野淳美, 田辺秀之, 岩下新太郎*, 祖父尼俊雄, 水沢 博: 密度依存性増殖停止に関わる eti-1 の機能ドメイン
第56回日本癌学会総会(1997.9)

* 三菱化学生命科学研究所

能美健彦: ニトロアレーンに高感受性を示す変異原性試験法の開発
第38回大気環境学会(1997.9)

Nohmi, T., Suzuki, H.*¹, Katoh, M.*², Masumura, K., Suzuki, M.*³, Matsui, K., Matsui, M., Yamada, M., Watanabe, M.*⁴, Horiya, N.*⁵, Ueda, O.*¹, Shibuya, T.*⁵, Ikeda, H.*⁶ and Sofuni, T.: **New transgenic mouse gpt-delta for the efficient detection of point mutations and deletions *in vivo***

7th International Conference on Environ. Mutagens (1997.9)

*¹ 中外製薬(株)

*² チリ大学

*³ 理化学研究所

*⁴ 国立がんセンター研究所

*⁵ 食品薬品安全センター秦野研究所
 *⁶ 東京大学医科学研究所

鈴木昭浩*¹, 串田浩孝*¹, 岩田 宏*¹, 藤田健一*¹, 渡辺雅彦*², 能美健彦, Frank J. Gonzalez*³, 鎌滝哲也*¹: ヘテロサイクリックアミンに極めて高い感受性を示すサルモネラ菌株の樹立

第56回日本癌学会総会(1997.9)

*¹ 北海道大学薬学部

*² 国立がんセンター研究所

*³ NIH, USA

新村和也*¹, 森下和廣*¹, 河野隆志*¹, 葛西 宏*², 金 秀良, 能美健彦, 横田 淳*¹: ヒト OGG1 遺伝子の単離およびその 8-ヒドロキシグアニン除去活性

日本癌学会第56回総会(1997.9)

*¹ 国立がんセンター研究所

*² 産業医科大学

新村和也*¹*³, 河野隆志*¹, 谷 賢実*¹, 登坂雅彦*¹, 葛西 宏*², 金 秀良, 能美健彦, 相村春彦*³, 横田 淳*¹: ヒトおよびマウス OGG1 遺伝子の単離とその 8-ヒドロキシグアニン除去修復能の検討

1st 3R Symposium (1997.10)

*¹ 国立がんセンター研究所

*² 産業医科大学

*³ 浜松医科大学

金 秀良, 松井恵子, 新村和也*, 河野隆志*, 横田 淳*, 祖父尼俊雄, 能美健彦: ヒト 8-ヒドロキシグアニン DNA 修復酵素遺伝子による自然突然変異・誘発突然変異の抑制
日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

* 国立がんセンター研究所

能美健彦: 大腸菌の突然変異誘発を促進する SOS 遺伝子群: *umuDC* と *dinB*

1st 3R Symposium (1997.10)

能美健彦: ヒトのアセチルトランスフェラーゼ遺伝子を導入した細胞を用いる変異原性試験法

第23回環境トキシコロジーシンポジウム・第1回衛生薬学フォーラム合同大会(1997.10)

能美健彦: トランスジェニックマウスを用いる *in vivo* 突然変異の検出

日本放射線影響学会第40回大会(1997.11)

鈴木昭浩*¹, 串田浩孝*¹, 岩田 宏*¹, 渡辺雅彦*², 能美健彦, Frank J. Gonzalez*³, 藤田健一*¹, 鎌滝哲也*¹: 環境変異原物質に高感受性を示すサルモネラ菌株の樹立
日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

*¹ 北海道大学薬学部

*² 国立がんセンター研究所

*³ NIH, USA

増村健一, 松井恵子, 堀口美恵子*¹, 山田雅巳, 石田香*², 渡辺雅彦, 上田乙也*³, 鈴木宏志*³, 菅家裕輔*¹, 若林敬二*², 能美健彦, 祖父尼俊雄: トランスジェニックマウス *gpt* Δ を用いた PhIP の各臓器に対する変異原性の解析

日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

*¹ 東京農業大学

*² 国立がんセンター研究所

*³ 中外製薬(株)

岡田奈緒子*, 和田孫四郎*, 増子巖美*, 矢嶋信浩*, 能美健彦: Transgenic mouse (*gpt*Δ) を用いたエチルニトロソウレア投与による突然変異誘発試験

日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

* 雪印乳業(株)生物科学研究所

山田雅巳, Javier J. Espinosa - Aguirre^{*1}, 渡辺雅彦^{*2}, 松井恵子, 能美健彦, 祖父尼俊雄: ニトロ還元酵素を特異的に欠損させた *Salmonella typhimurium* TA98 及び TA100 誘導株の樹立

日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

*¹ メキシコ Ciudad 大学生物医学研究所

*² 国立がんセンター研究所

串田浩孝^{*1}, 鈴木昭浩^{*1}, 藤田健一^{*1}, 山田雅巳, 遠藤徹^{*2}, 能美健彦, 鎌滝哲也^{*1}: ニトロソアミンにきわめて高い感受性を示すサルモネラ菌株の樹立: ヒト CYP2A6 と CYP2E1 による代謝的活性化における役割の比較

日本環境変異原学会第26回大会(1997.12)

*¹ 北海道大学薬学部

*² ツムラ中央研究所

新村和也^{*3}, 河野隆志^{*1}, 谷 賢実^{*1}, 登坂雅彦^{*1}, 葛西宏^{*2}, 金 秀良, 能美健彦, 梶村春彦^{*3}, 横田 淳^{*1}: ヒトおよびマウス OGG1 遺伝子の単離とその 8-ヒドロキシガアニン除去修復能の検討

第20回日本分子生物学会年会(1997.12)

*¹ 国立がんセンター研究所

*² 産業医科大学

*³ 浜松医科大学

山田雅巳, Petr Gruz, 金 秀良, 祖父尼俊雄, 能美健彦: 大腸菌 DinB 蛋白の解析

第20回日本分子生物学会年会(1997.12)

金 秀良, 松井恵子, 祖父尼俊雄, 能美健彦: 大腸菌フレームシフト型自然突然変異に関与する *dinB* 遺伝子の機能解析

第20回日本分子生物学会年会(1997.12)

Wagner, J., Sofuni, T. and Nohmi, T.: Specificity of mutagenesis induced by increased expression of *dinB*: Analysis of the mutation spectrum in the *cII* gene of phage lambda

第20回日本分子生物学会年会(1997.12)

Gruz, P., Sofuni, T. and Nohmi, T.: Analysis of MucA' and MucB protein interactions with the putative mutasome components using the BIACore 2000 instrument

第20回日本分子生物学会年会(1997.12)

Kim, S.-R., Wagner, J., Yamada, M., Matsui, K., Sofuni, T. and Nohmi, T.: *DinB/P*: An SOS inducible frameshift mutator gene in *Escherichia coli*

Environ. Mutagen Society 29th Annual Meeting(1998.3)

能美健彦, 鈴木 任^{*1}, 松井恵子, 山田雅巳, 増村健一,

上田乙也^{*2}, 鈴木宏志^{*2}, 池田日出男^{*3}, 祖父尼俊雄: *Spi*-アッセイを用いた *in vivo* マウス欠失突然変異の検出と解析

第20回日本分子生物学会年会(1997.12)

*¹ 理化学研究所

*² 中外製薬(株)探索研究所

*³ 東京大学医科学研究所

増村健一, 松井恵子, 山田雅巳, 堀口美恵子^{*1}, 石田香^{*2}, 渡辺雅彦^{*2}, 上田乙也^{*3}, 鈴木宏志^{*3}, 菅家裕輔^{*1}, 若林敬二^{*2}, 祖父尼俊雄, 能美健彦: トランスジェニックマウス *gpt*Δを用いた PhIP の各臓器に対する変異原性の解析

DNA Repair and Mutagenesis '98(1998.2)

*¹ 東京農業大学

*² 国立がんセンター研究所

*³ 中外製薬(株)探索研究所

Gruz, P., Sofuni, T. and Nohmi, T.: Separate overexpression and purification of MucA' and MucB mutagenesis proteins DNA Repair and Mutagenesis '98(1998.2)

Nohmi, T., Suzuki, H.^{*1}, Katoh, M.^{*2}, Masumura, K., Yamada, M., Suzuki, M.^{*3}, Ueda, O.^{*1}, Matsui, K., Matsui, M., Watanabe, M.^{*4}, Horiya, N.^{*5}, Shibuya, T.^{*5}, Ikeda, H.^{*6} and Sofuni, T.: New transgenic mouse *gpt-delta*: An efficient method to detect point mutations and deletions *in vivo*

Environ. Mutagen Society 29th Annual Meeting(1998.3)

*¹ 中外製薬(株)探索研究所

*² チリ大学

*³ 理化学研究所

*⁴ 国立がんセンター研究所

*⁵ 食品薬品安全センター秦野研究所

*⁶ 東京大学医科学研究所

岡田敏史: 医薬品の分析法バリデーション

第1回分析化学東京シンポジウム(1997.9)

岩上正蔵*, 山下治夫*, 岡田敏史: 液体クロマトグラフ法における「試験の再現性」について

日本薬学会第118年会(1998.4)

* 大阪府立公衆衛生研究所

四方田千佳子, 宮崎玉樹, 松本泰誠, 岡田敏史: ヒアルロン酸の SEC による分子量評価

第2回高分子分析討論会(1997.9)

宮崎玉樹, 四方田千佳子, 岡田敏史: ヒアルロン酸の光分解性医薬品による分子量低下

第47回日本薬学会近畿支部大会(1997.9)

四方田千佳子, 田頭洋子, 岡田敏史, 林 譲, 松田りえ子: 示差屈折検出器を用いた HPLC の分析精度

第8回クロマトグラフィー科学会議(1997.10)

宮崎玉樹, 四方田千佳子, 岡田敏史: ヒアルロン酸水溶液の超音波分解における溶質濃度およびイオン強度の影響

日本薬学会第118年会(1998.3)

四方田千佳子, 岡田敏史: ヒアルロン酸架橋ゲルの医薬品による特異的収縮挙動

日本薬学会第118年会(1998.3)

田頭洋子, 四方田千佳子, 岡田敏史, 新田哲士*, 笹川秀男*, 田口都一*: 多成分解析用 UV モニターによる溶出試験の精度評価

日本薬学会第118年会(1998.3)

* 大塚電子株式会社

四方田千佳子, 田頭洋子, 岡田敏史, 林 譲, 松田りえ子: 示差屈折検出器を用いる HPLC における system suitability

日本薬学会第118年会(1998.3)

Tanimoto, T., Maekawa, K., Okada, S., Kubo, E.*, Takahashi, Y.* and Akagi, Y.*: Relationship between Erythrocyte Aldose Reductase Levels and Diabetic Retinopathy in NIDDM Patients

16th International Diabetes Federation Congress(1997.7)

* 福井医科大学

谷本 剛, 前川京子, 岡田敏史, 矢部(西村)千尋*: 糖尿病合併症の病因鑑別法としてのアルドース還元酵素の臨床分析とそれに基づく薬物療法の最適化

第12回生体成分の分析化学シンポジウム(1997.8)

* 京都府立医科大学

大石なみき*, 都筑昌哉*, 久保江理*, 河合礼子*, 高橋幸男*, 赤木好男*, 前川京子, 谷本 剛: ヒト糖尿病網膜症患者における赤血球アルドース還元酵素値と網膜症の関係

第51回日本臨床眼科学会(1997.10)

* 福井医科大学

Kubo, E.*¹, Aoki, S.*¹, Takahashi, Y.*¹, Akagi, Y.*¹, Maekawa, K., Tanimoto, T. and Fujisawa, S*²: Biochemical and Morphological Changes on Development of Sugar Cataract in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rat

12th Congress of US - Japan Cooperative Cataract Research Group(1997.11)

*¹ 福井医科大学

*² 大塚製薬

前川京子, 谷本 剛, 岡田敏史, 鈴木猛志*, 鈴木常正*, 矢部千尋*: 培養ラットシュワン細胞におけるアルドース還元酵素遺伝子発現に対する高浸透圧ストレスの影響

第71回日本薬理学会(1998.3)

*¹ 三和化学研究所

*² 京都府立医科大学

辻谷昌訓*, 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阻害活性

日本薬学会第118年会(1998.3)

* 大阪薬科大学

前川京子, 谷本 剛, 岡田敏史, 鈴木猛志*, 鈴木常正*, 矢部千尋*: 培養ラットシュワン細胞におけるポリオール経路の動態。

日本薬学会第118年会(1998.3)

*¹ 三和化学研究所

*² 京都府立医科大学

谷本 剛, 前川京子, 岡田敏史, 久保江理*, 赤木好男*: 糖尿病合併症発症と赤血球アルドース還元酵素レベルとの関連—2—

日本薬学会第118年会(1998.3)

* 福井医科大学

前川京子, 谷本 剛, 鈴木猛志*, 鈴木常正*, 矢部千尋*: 培養ラットシュワン細胞におけるアルドース還元酵素遺伝子発現への浸透圧ストレスの影響

第41回日本糖尿病学会

*¹ 三和化学研究所

*² 京都府立医科大学

斎藤博幸, 有本 達*, 公文道子*, 半田哲郎*, 宮嶋孝一郎*: エマルション表面膜の構造変化によって制御されるアポリボ蛋白質の結合性—スフィンゴミエリン及びコレステロールの影響—

第39回日本脂質生化学研究会研究集会(1997.6)

* 京都大学大学院薬学研究科

有本 達*, 斎藤博幸, 川島恭子*, 半田哲郎*, 宮嶋孝一郎*: エマルション表面膜の脂質組成とリボ蛋白質リバーゼ活性

第39回日本脂質生化学研究会研究集会(1997.6)

* 京都大学大学院薬学研究科

斎藤博幸, 谷本 剛, 岡田敏史, 松本智津子*, 半田哲郎*: 血漿アポリボ蛋白質の結合性を制御する脂質エマルションの動的構造の解明

第47回日本薬学会近畿支部大会(1997.9)

* 京都大学大学院薬学研究科

斎藤博幸, 谷本 �剛, 岡田敏史, 都 保啓*, 半田哲郎*, 宮嶋孝一郎*: アポリボ蛋白質 A-I と脂質二分子膜との相互作用—膜結合性に及ぼすコレステロールの影響

第19回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム(1997.9)

* 京都大学大学院薬学研究科

公文道子*, 有本 達*, 宮嶋孝一郎*, 半田哲郎*, 斎藤博幸: 脂質エマルションの粒子径によるアポリボ蛋白質結合選択性の変化

第19回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム(1997.9)

* 京都大学大学院薬学研究科

斎藤博幸: リン脂質—トリグリセライドエマルションの形成とその表面膜構造

第50回コロイドおよび界面化学討論会(1997.10)

松本智津子*, 有本 達*, 斎藤博幸, 宮嶋孝一郎*, 半田哲郎*: エマルションとリボソーム表面への血漿アポリボ蛋白質の結合性と代謝

第50回コロイドおよび界面化学討論会(1997.10)

* 京都大学大学院薬学研究科

斎藤博幸: 脂質エマルションの表面膜構造と血漿アポリボ蛋白質の結合性に関する研究

膜シンポジウム '97(1997.11)

有本 達*, 松本智津子*, 斎藤博幸, 宮嶋孝一郎*, 半田哲郎*: エマルション表面膜の脂質組成に依存するリポリシス

膜シンポジウム'97(1997.11)

* 京都大学大学院薬学研究科

岡村恵美子¹, 若井千尋¹, 斎藤博幸, 谷本 剛, 岡田敏史, 半田哲郎², 中原 勝¹: リン脂質膜表面の曲率の相違に基づく脂質原子サイトのミクロ構造特性—NMRによる比較研究—

膜シンポジウム'97(1997.11)

*1 京都大学化学研究所

*2 京都大学大学院薬学研究科

岡村恵美子¹, 若井千尋¹, 斎藤博幸, 谷本 剛, 岡田敏史, 半田哲郎², 中原 勝¹: リポソームの内側と外側の層を識別するNMR研究

日本化学会第74春季年会(1998.3)

*1 京都大学化学研究所

*2 京都大学大学院薬学研究科

斎藤博幸, 谷本 剛, 岡田敏史, 有本 達^{*}, 田中将史^{*}, 半田哲郎^{*}: スフィンゴミエリンを表面脂質とするエマルションの膜物性と代謝

日本薬学会第118年会(1998.3)

* 京都大学大学院薬学研究科

松本智津子^{*}, 有本 達^{*}, 宮嶋孝一郎^{*}, 斎藤博幸, 半田哲郎^{*}: 脂質粒子表面への血漿アポリボ蛋白質の結合性を決定する因子

日本薬学会第118年会(1998.3)

* 京都大学大学院薬学研究科

川岸明美^{*}, 半田哲郎^{*}, 斎藤博幸, 谷本 剛, 岡田敏史: 脂質エマルションの安定性に及ぼす表面脂質の曲率の影響

日本薬学会第118年会(1998.3)

* 京都大学大学院薬学研究科

岡村恵美子¹, 若井千尋¹, 斎藤博幸, 谷本 剛, 岡田敏史, 半田哲郎², 中原 勝¹: リポソームの内側と外側の層を識別するNMR研究

日本薬学会第118年会(1998.3)

*1 京都大学化学研究所

*2 京都大学大学院薬学研究科

斎藤博幸, 谷本 剛, 岡田敏史, 有本 達^{*}, 田中将史^{*}, 半田哲郎^{*}: エマルション表面膜の水和状態—二分子膜との比較

日本膜学会第20年会(1998.5)

* 京都大学大学院薬学研究科

辻 澄子, 石光 進, 柴田 正: オリーブ油およびベニバナ油の自動酸化におけるビタミンE同族体含有量の推移

日本脂質学会第6回大会(1997.9)

辻 澄子, 三島郁子, 石光 進, 柴田 正, 大西優子^{*}: ジメドン蛍光誘導体化を利用した高速液体クロマトグラフィーによる多価不飽和亜脂肪酸中の脂肪族アルデヒドの分析法について

日本薬学会第118年会(1998.4)

* 大阪薬科大学

中村優美子, 津村ゆかり, 外海泰秀, 柴田 正: ギムネマ・シルベスタ葉の有効成分ギムネマ酸及びコンズリトール

Aのラットの生長、体内脂質レベル及びステロイド排泄に及ぼす影響

日本薬学会第118年会(1998.4)

Ishimitsu, S., Mishima, I., Tsuji, S. and Shibata, T.: Study on the Formation of a Hydroxyl Radical from Food Color by Photo-Illumination

World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences '97(1997.8)

石光 進, 三島郁子, 辻 澄子, 柴田 正: ICP発光分析による食用色素中のヒ素の定量法とその実態調査
第34回全国衛生化学技術協議会年会(1997.11)

津村ゆかり, 中村優美子, 吉井公彦, 外海泰秀, 柴田 正: 高速液体クロマトグラフィーによる農産物中の38種N-メチルカルバメート系農薬及び代謝物の同時分析

日本薬学会第118年会(1998.4)

吉井公彦, 外海泰秀, 津村ゆかり, 中村優美子, 柴田 正: 超臨界流体抽出(SFE)-HPLCによる穀類中残留農薬の一斉分析法(1)

日本食品衛生学会第74回学術講演会(1997.10)

吉井公彦, 外海泰秀, 津村ゆかり, 中村優美子, 柴田 正: 穀類中に残留する有機リン系農薬の抽出時における分解
日本食品衛生学会第75回学術講演会(1998.5)

Yoshii, K., Tonogai, Y., Tsumura, Y., Nakamura, Y. and Shibata, T.: Studies on Determination of 18 Pesticides in Cereals by SFE and HPLC
10th California Pesticide Residue Workshop(1998.3)

外海泰秀, 吉井公彦, 津村ゆかり, 中村優美子, 柴田 正: 超臨界流体抽出(SFE)-GC(GC/MS)による穀類中残留農薬の一斉分析法(2)
日本食品衛生学会第74回学術講演会(1997.10)

高橋 研^{*}, 寺本昭二^{*}, 川島邦夫: セルトリ細胞・生殖細胞共培養系に対するジニトロフェノール系化学物質の影響
第24回日本毒科学会学術年会(1997.7)

* (財)残留農薬研究所

川島邦夫, 小野 敦: ハムスターテストによるラット受胎能検査の検討
第37回日本先天異常学会学術集会(1997.7)

磯部雄司^{*}, 堀本政夫^{*}, 橋 正克^{*}, 川島邦夫: 2,5-Hexanedione(HD)のラット雄性生殖能に及ぼす影響
第37回日本先天異常学会学術集会(1997.7)

* ファイザー製薬(株)中央研究所

Iwase, T.* Ema, M., Ohyama, N.* Iwase, Y.* and Ogawa, Y.: Dysmorphogenic potential of di-n-butyltin dichloride in cultured rat embryos
The 37th Annual Meeting of the Teratology Society(1997.6)

* 三菱化学(株)

Ema, M., Miyawaki, E., Harazono, A., Kawashima, K. and Ogawa, Y.: Developmental toxicity of dibutyl phthalate after

a single administration in rats

The first International Conference of Asian Toxicology
(1997.6)

江馬 真, 宮脇英美子, 原園 景, 小川義之: トリフェニルスズのラットにおける着床阻害作用
第37回日本先天異常学会学術集会(1997.7)

江馬 真, 宮脇英美子, 原園 景, 川島邦夫, 小川義之: ラットにおけるトリブチルスズの投与日による発生毒性の変化

第24回日本毒学会学術年会(1997.7)

Ema, M., Miyawaki, E., Kawashima, K.: Suppression of uterine decidualization as a cause of early embryonic loss induced by butyl benzyl phthalate in rats

The 18th Annual Meeting of American College of Toxicology (1997.11)

江馬 真, 岩瀬隆之*: ジブチルスズの *in vivo* 及び *in vitro* における発生毒性

第16回 *In vitro* 生殖発生毒性研究会(1997.11)

* 三菱化学(株)

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K.: Inhibition of decidual cell response as a cause of implantation failure induced by triphenyltin chloride in rats

Society of Toxicology, the 37th Annual Meeting (1998.3)

江馬 真: トリフェニルスズの着床阻害作用
第17回 *In vitro* 生殖発生毒性研究会(1998.5)

原園 景, 江馬 真, 川島邦夫, 小川義之: トリブチルスズの妊娠初期投与によるラット母体及び胚に対する影響
第24回日本毒学会学術年会(1997.7)

村井敏美, 中川ゆかり, 寺田衣子, 川島邦夫, 小川義之: ヒトメラノーマ細胞に対するインターロイキン-1 β (IL-1 β) の増殖抑制作用の解析
第70回日本生化学会大会(1997.9)

畠山好雄: 薬用品種「北幸相」の特性について
第7回薬用植物栽培技術フォーラム(1997.7)

Anetai, M.*; Aoyagi, M.*; Kumagai, T.; Hatakeyama, Y. and Sibata, T.: Impact of soil hardness in the field on rootgrowth and glycoside contents in *Astragalus mongholicus* and *A. membranaceus* (Leguminosae)

International Symposium on Natural Medicines, Kyoto, Japan(1997.10)

* Hokkaido Institute of Public Health

Kohjyouma, M.*¹, Iida, O., Yoshida, N.*², Hatakeyama, Y., Satake, M., Sekita, S and Kohda, H.*¹: Random amplified polymorphic DNA analysis of *Angelica acutiloba* and its varieties

International Symposium on Natural Medicines, Kyoto, Japan(1997.10)

*¹ Hiroshima University

*² Hokkaido University

谷 宏志^{*1}, 柏田良樹^{*1}, 池城安正^{*1}, 畠山好雄, 土田貴志^{*2}, 宇野敏夫^{*2}, 小坂 昇^{*2}: 新鮮大黄のフェノール成分の分析

日本薬学会第118回年会(1998.3)

*¹ 新潟薬科大学

*² 鐘紡漢方研究所

姉帯正樹^{*1}, 青柳光敏^{*1}, 林 隆章^{*1}, 畠山好雄, 古屋博之^{*2}: 北海道帰農調査時における希エタノールエキス及びシヨ糖含量の経時変化

日本生薬学会北海道支部第22回例会(1998.5)

*¹ 道立衛生研究所

*² 訓子府農協

柴田敏郎: 薬用植物の栽培指針(栽培と品質評価), Part6 の作成に向けて

第7回薬用植物栽培技術フォーラム(1997.7)

Minami, M., Sakai, E., Shibata, T., Kondo, S.*¹, Nunoura, Y.*¹, Tabei, Y.*², Kayano, T.*² and Nishi, K.: Production of *Artemisia capillaris* Flos (1), Ecological, Pharmacognostical and Molecular Characterization of *Artemisia capillaris* Distributed in Japan

International Symposium on Natural Medicines(1997.10)

*¹ 小太郎漢方製薬(株)

*² 農林水産省生物資源研究所

Sakai, E., Shibata, T., Minami, M., Kondo, S.*¹, Nunoura, Y.*¹ and Nishi, K.: Production of *Artemisia capillaris* Flos (2), The Effects of Propagation Methods and Soil Groups on Quality and Quantity of Crude Drug in *Artemisia capillaris* International Symposium on Natural Medicines(1997.10)

* 小太郎漢方製薬(株)

Mia, M. W., Sakai, E., Nishi, K., Anetai, M.* and Shibata, T.: Effect of Soil Hardness in the Field on Root Growth and Furanoocoumarins Contents in *Saposhnikovia divaricata* (Umbelliferae)

International Symposium on Natural Medicines(1997.10)

* 北海道立衛生研究所

Mia, M. W., Sakai, E., Anetai, M.*¹, Aoyagi, M.* and Shibata, T.: Effect of Soil Compaction on Root Growth and Glycoside Contents in *Astragalus mongholicus* and *A. membranaceus* (Leguminosae)

International Symposium on Natural Medicines(1997.10)

* 北海道立衛生研究所

Mia, M. W., Sakai, E., Anetai, M.*¹, Aoyagi, M.*¹, Kumagai, T., Hatakeyama, Y. and Shibata, T.: Impact of Soil Hardness in the Field on Root Growth and Glycoside Contents in *Astragalus mongholicus* and *A. membranaceus* (Leguminosae)

International Symposium on Natural Medicines(1997.10)

* 北海道立衛生研究所

Yoshida, M.*¹, Tanaka, J.*¹, Sakai, E., Noro, Y.*², Kawamura, T.*², Thuan, N. V.*³ and Tanaka, T.*⁴: Studies on Cultivation of *Geranium thunbergii* Sieb. et Zucc. in Viet-Nam (1), Morphology and Geraniin Content

International Symposium on Natural Medicines(1997.10)

- *¹ 本草製薬株
 *² 名城大学薬学部
 *³ Research Station of Medicinal Plants Van Dien
 *⁴ 岐阜薬科大学

柴田敏郎 : Studies on Cultivation Methods of *Astragalus* Plants (Leguminosae)

韓国薬用作物学会1997年度年会(1997.11)

芝野真喜雄*, 抜井久司*, 鈴木直樹*, 草野源次郎*, 柴田敏郎 : 国内薬用植物園で植栽される *Glycyrrhiza* 属植物の調査と優良品種選抜のための基礎研究 (その8)

日本薬学会第118年会(1998.3)

* 大阪薬科大学

Mia, M. W., Sakai, E., Shibata, T. and Kono, Y.*: Root Growth of *Astragalus mongolicus* and *A. membranaceus* (Leguminosae) as Influenced by Several Soil Physical Factors

28 th Annual Crop Simulation Workshop(1998.4)

* 名古屋大学農学部

中西 史¹, 佐々木和生², 梅津博紀², 下村講一郎 : 各種栽培条件下でのベラドンナ馴化植物体におけるリットリンの消長

第15回日本植物分子生物学会(1997.7)

*¹ 東京学芸大学生物

*² 青森大学工学部生物工学

吉松嘉代, 山口浩子¹, 下村講一郎, Shu, W.²: Cryopreservation of Medicinal Plants : Somatic Embryos of *Panax ginseng*, *Coptis japonica* and *Papaver somniferum*

第15回日本植物分子生物学会(1997.7)

*¹ 佐賀県薬業指導所

*² Singapore Polytechnic

Sakamoto, K.*¹, Shimomura, K., Komeda, Y.*², Fukui, K.*³, Kamada, H.*¹ and Satoh, S.*¹: Analysis of the Structure of Sex Chromosomes in a Dioecious Plant, *Cannabis sativa* L.

Plant Biology '97, August 2-6, Vancouver, Canada.

*¹ 筑波大学生物学系

*² 北海道大学大学院理学研究科

*³ 北陸農試

Yagi, A.*¹, Hine, N.*¹, Asai, M.*¹, Nakazawa, M.*¹, Tateyama, Y.*¹, Okamura, N.*¹, Fujioka, T.*¹, Mihashi, K.*² and Shimomura, K.: Tetrahydroanthracene Glucosides in Callus Tissue from *Aloe barbadensis*

International Symposium on Natural Medicines, Kyoto, Japan(1997.10)

*¹ 福山大学薬学部

*² 福岡大学薬学部

Murakami, Y.*¹, Omoto, T.*², Shimomura, K., Yoshihira, K.*³ and Ishimaru, K.*¹: Caffeic Acid Derivatives in Lamiales and Boraginaceae

International Symposium on Natural Medicines, Kyoto, Japan(1997.10)

*¹ 佐賀大学農学部生物工学

*² 株式会社エフエフアイ

*³ 東亞大学大学院生命科学

Tanaka, N.*¹, Shimomura, K., Kamiya, T.*² and Ishimaru, K.*¹: Tannins and Related Phenolics in Tissue Cultures of *Cornus* species

International Symposium on Natural Medicines, Kyoto, Japan(1997.10)

*¹ 佐賀大学農学部生物工学

*² 株式会社小野田セメント

Nishikawa, K.*¹, Shimomura, K. and Ishimaru, K.*¹: Flavonoids in Tissue Cultures of *Scutellaria baicalensis*

International Symposium on Natural Medicines, Kyoto, Japan(1997.10)

* 佐賀大学農学部生物工学

Ando, M.*¹, Shimomura, K., Yamakawa, T.*² and Ishimaru, K.*¹: Shoot Regeneration and Polyacetylene Production in Hairy Root Cultures of *Wahlenbergia marginata*

International Symposium on Natural Medicines, Kyoto, Japan(1997.10)

*¹ 佐賀大学農学部生物工学

*² 東京大学大学院農学研究科

Ando, M.*¹, Shimomura, K., Yamakawa, T.*² and Ishimaru, K.*¹: Polyacetylene Production and Shoot Regeneration in Hairy Root Cultures of *Campanula lactiflora*

International Symposium on Natural Medicines, Kyoto, Japan(1997.10)

*¹ 佐賀大学農学部生物工学

*² 東京大学大学院農学研究科

Touno, K.*¹, Kamada, K.*¹, Yoshimatsu, K., Shimomura, K.: Characteristics of *Atropa belladonna* Hairy Roots Cryopreserved by Vitrification Method

International Symposium on Natural Medicines, Kyoto, Japan(1997.10)

* 筑波大学遺伝子実験センター

Yoshimatsu, K., Shimomura, K.: Morphology and Protoberberine Alkaloid Production in Transformed Cultures of *Coptis japonica*

International Symposium on Natural Medicines, Kyoto, Japan(1997.10)

Nose, M.*¹, Oguri, K.*¹, Terawaki, K.*¹, Ogihara, Y.*¹, Yoshimatsu, K., Shimomura, K.: Evaluation of Kampo-sho (No. 96) Activation of Macrophages by Crude Polysaccharide Fractions Obtained from Shoots of *Glycyrrhiza glabra* and Hairy Roots of *Glycyrrhiza uralensis*

International Symposium on Natural Medicines, Kyoto, Japan(1997.10)

* 名古屋市立大学薬学部

Sakamoto, K.*¹, Shimomura, K., Komeda, Y.*², Fukui, K.*³, Kamada, K.*¹, Satoh, S.*¹: Analysis of the Structure of Sex Chromosomes in a Dioecious Plant, *Cannabis sativa* L.

The 5th Japan-French Workshop on "Plant physiology and plant molecular biology" Tsukuba, Japan(1997.11)

*¹ 筑波大学生物学系

*² 北海道大学大学院理学研究科

*³ 北陸農試

Sasaki, K.*¹, Ishise, T.*¹, Shimomura, K., Kobayashi, T.*², Kamada, K.*², Matsubayashi, Y.*³, Sakagami, Y.*³ and Umetsu, H.*¹: Effects of Phytosulfokine- α on Growth and Tropane Alkaloid Production in *Atropa belladonna* Hairy Roots

The 5th Japan-French Workshop on "Plant physiology and plant molecular biology" Tsukuba, Japan (1997.11)

*¹ 青森大学工学部生物工学

*² 筑波大学生物学系

*³ 名古屋大学大学院農学研究科

Touno, K.*¹, Kamada, K.*¹, Yoshimatsu, K., Shimomura, K.: Stability of Alkaloid Production and DNA in *Atropa belladonna* Hairy Roots Cryopreserved by Vitrification Method

The 5th Japan-French Workshop on "Plant physiology and plant molecular biology" Tsukuba, Japan (1997.11)

*¹ 筑波大学遺伝子実験センター

李 昆達*¹, 山川 隆*¹, 児玉 徹*², 五十嵐泰夫*¹, 下村 講一郎: ベラドンナ毛状根培養による tropane alkaloid の漏出と回収

日本農芸化学会1998年度大会, 名古屋(1998.3)

*¹ 東京大学大学院農学研究科

*² 信州大学纖維学部

李 昆達*¹, 鈴木 豪*¹, 五十嵐泰夫*¹, 山川 隆*¹, 児玉 徹*², 下村 講一郎: ベラドンナ毛状根の tropane alka-

loid 生産に対する炭素源の種類、濃度および MS 培地濃度の影響について

日本薬学会第118年会, 京都(1998.3)

*¹ 東京大学大学院農学研究科

*² 信州大学纖維学部

野口 衛: 漢方薬原料薬用植物の栽培・調製法とその品質

日本東洋医学会関東甲信越支部神奈川県部会学術大会
第9回神奈川県東洋医学会(1997.6)

野口 衛: 私の社会薬学活動ー「薬草を食べる会ー十年の経験から」

社会薬学研究会第16回全国総会(1997.9)

野口 衛: ケシの栽培法とアヘンについての基礎知識

シンポ「アヘン、その功罪と日高地方」(1997.10)

野口 衛: 中国薬膳の処方解析ー料理素材、配合生薬と効能の関連性について

第26回生薬分析シンポジウム(1997.11)

Katsuki, S., Iida, O. and Suzuki, H.: Differences in Germination, Growth and Geraniin Content among Wild and Cultivated Species of *Geranium thunbergii* (Geraniaceae)

International Symposium on Natural Medicines, Kyoto (1997.10)

会議名：日米欧三葉局方会議ならびにICH4(準備会議および本会議)

出席者：薬品部 小嶋 茂雄(①, ②に参加)

〃 青柳 伸男(〃)

〃 鹿庭なほ子(②に参加)

開催場所、時期：①日米欧三葉局方会議：ブリュッセル(ベルギー), 1997年7月11日～12日,
②ICH4(準備会議および本会議)：ブリュッセル(ベルギー), 1997年7月14日～18日

参加者内訳、人数：①は、日米欧三葉局方の代表約10名,
②の準備会議は、日米欧三極の医薬品規制当局および製薬団体関係者約40名,
また、②の本会議の「化学合成医薬品の品質に関するワークショップ」は、
日米欧三極を中心に約300名

会議の内容：日米欧三葉局方会議(7/11～12)においては、ICH4本会議の「化学合成医薬品の品質に関するシンポジウム」におけるUSPおよびEPの報告の内容、ならびに医薬品添加剤および試験法の調和の進捗状況について検討が行われた。

ICH4準備会議(7/14～16)においては、小嶋、青柳、鹿庭が、専門家会議における残留溶媒に関するガイドラインならびに化学合成医薬品の規格及び試験方法に関するガイドラインの検討に参加した：

1. 残留溶媒に関するガイドライン(Q3C)

残留溶媒に関するガイドラインは、1996年11月のロンドンでの専門家会議でステップ2に達しており、今回の会議において、最終合意に達するための検討が行われた。小嶋は、この会議のラボターを努めた。会議においては、①製造工程でクラス3の溶媒(低毒性の溶媒)しか使われなかつた場合に試験が必要かどうか、②クラス2の溶媒(基準値を設けて規制すべき溶媒)の濃度限度値(オプション1)は、一日最大服用量が10gを超える医薬品の場合にも適用しうるかどうか、③原薬や添加剤のメーカーから如何なるデータが報告されるべきか、④本ガイドラインの実施時期をいつにするか、⑤メンテナンス組織の構築に関する運営委員会への再要請などについて検討を行い、これに基づいてドラフトの修正を行った結果、最終合意に達することができた。

2. 化学合成医薬品の規格及び試験方法に関するガイドライン(Q6A)

葉局方の試験法の調和の問題についての解決を一部先送りする形で、ステップ2に漕ぎ着けた。ステップ2ドラフトの特徴を次に挙げる：

①定期的試験/スキップ試験、パラメトリックリリース、工程内試験など、我が国の現行の医薬品承認・許可制度にない考え方を含むこと。

②日米欧三葉局方間での試験法の統一が要望されていること。

日米欧の三葉局方の間で試験法の違いがあると、せっかく規格の試験項目について調和が達成されても、試験を繰り返さなければならなくなるため、含量均一性、質量均一性、溶出性、崩壊性、保存効力、微生物限度などの試験法について、違いを解消して統一した試験法とするべく検討が続けられており、本ガイドラインの最終合意には、これらの試験法の調和の達成が必要とされている。

③規格の試験項目がUniversal Tests(原薬や製剤の規格に必ず設定すべき試験項目)とSpecific Tests(原薬や製剤の用途や剤形の特性などに応じてケースバイケースで設

定が必要となる試験項目)に大きく分けられたこと。

④各試験項目をどのような場合に規格に設定すべきかを理解しやすくするため、8つのフローチャート(Decision Trees)が添付されたこと。

ICH4本会議(7/16～18)においては、青柳と鹿庭が「化学合成医薬品の品質に関するワークショップ」のシンポジストとして参加し、青柳はin vivoでの製剤機能、特にバイオアベイラビリティを保証するための評価法について、また、鹿庭は適切な分析法の選択とそのバリデーションに関して報告した。

会議名：生体試料中の幻覚剤の同定・定量に関する専門家会議；尿・血液以外の生体試料の可能性について

出席者：薬品部 中原雄二

開催場所、時期：バルセロナ(スペイン), 1997年11月24日～28日

参加者内訳、人数：12カ国(米国、ドイツ、日本、フランス、スイス、イタリア、ベルギー、英國、スペイン、オーストラリア、ルクセンブルグ、オーストリア)、国連麻薬部など15名

会議内容：議長にスペイン代表、報告責任者にオーストラリア代表が選ばれた後、各国代表者が1人づつ会議のテーマに関するトピックスを発表し、討議を行った。その後、2つのグループ(薬物グループ、新生体試料グループ)に分かれ、グループ討論とレポートを作成した。中原は、新生体試料(毛髪・唾液・汗)グループに入り、ガイドラインと推奨試験法を作成した。以下に報告書の項目を示す。

1. Introduction, 2. The hair matrix, 3. Incorporation of drugs into hair, 4. Specimen collection, 5. Sample preparation, 6. Extraction and clean-up, 7. Analytical techniques, 8. Practical procedures, 9. Analytical problems, 10. Interpretation of drug concentrations in hair, 11. Conclusions and recommendations, 12. Sweat and saliva

2グループが作成したガイドラインと推奨試験法を全員で討議し、追加、修正を行った後、採択した。この報告書は印刷・校正後、国連の出版物として、世界に配布される。

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：生物薬品部 早川堯夫(①②に参加)

〃 山口照英(①に参加)

〃 川西 徹(①②に参加)

開催場所、時期：①専門家会議およびICH4会議；ブリュッセル(ベルギー), 1997年7月10日～7月20日, ②専門家会議；ワシントン(米国), 1998年1月31日～2月8日

参加者内訳、人数：専門家会議；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30名、ICH4バイオ医薬品の品質部門のワークショップ；日米欧三極を中心として約300名

会議内容：専門家会議ではバイオテクノロジー医薬品(バイオ医薬品)の製造に用いられる細胞基材に関する課題(Q5D)および規格に関する課題(Q6B)について討議した。

1. CELL SUBSTRATE(細胞基材)

正式ガイドライン名は「Derivation and Characterization of Cell Substrate Used for Production of Biotechnological/Biological Products(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及び特性

(Q5D)」である。PhRMA が担当し、1997年1月にステップ2のサインがなされた。その後の三極内でのコンサルテイションでも、文章表現上の問題以外の指摘はなく、この修正の後、ブリュッセルの専門家会議でステップ3のサインがなされた。しかし、(1)細胞の無菌試験およびマイコプラズマ試験の試験法について、三極の薬局方の相互受け入れを述べた部分、(2)細胞の発ガン性試験についてWHOの細胞基材に関するガイドラインへの参照を述べた部分、について運営委員会の一部メンバーによって内容の修正が行われ、ステップ4文書として公表された。この修正については、専門家会議のメンバーから抗議の意見が寄せられ、ワシントンの専門家会議で再び議題として取り上げられたが、その間WHOガイドラインへの参照部分は復活し、Step4の正式文書となった。

2. SPECIFICATIONS OF BIOTECHNOLOGICAL/BIOLOGICAL PRODUCTS

正式ガイドライン名は「Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products(バイオテクノロジー応用製品/生物起源由来製品の規格および試験方法)(Q6B)」である。EFPIAとFDAが共同で担当している。1996年5月に正式な討議が開始されて以来、5回の専門家会議を経てワシントンでStep2の合意に達した。趣旨、目的は、十分な特性解析が可能である生物薬品(バイオテクノロジー応用製品/生物起源由来製品)を対象として、特性解析及び品質評価のあり方並びにロットリリースにあたって定めるべき規格及び試験方法に関する指針の国際調和を図ることにある。内容は、1)目的・適用範囲、2)規格及び試験方法の設定にあたって考慮すべき事項及び概念、3)品質確保の方策全体における規格及び試験方法の位置づけ、4)原薬及び製剤での規格及び試験方法の項目、5)用語、6)補遺:理化学的解析法と不純物、からなる。

ICH4のバイオ医薬品の品質関連のワークショップでは、前半部分で、既にステップ4あるいはステップ5に達した4つのガイドラインについて、医薬品開発へのインパクトを中心テーマとした討議を行った。早川は各ガイドラインを総括し、その内容と意義を概説するとともに司会進行を行った。また川西はQ5D:細胞基材ガイドラインを紹介した。後半では、ステップ2を目前にしたQ6B:バイオ医薬品の規格に関するガイドラインについて討議が行われた。パネルディスカッションに参加した山口は本ガイドラインのインパクトを厚生省の立場から説明した。

会議名: Working Group on Herbal Medicines

出席者: 生薬部 佐竹元吉

開催場所、時期: マニラ、WHO西太平洋事務局、1997年12月8日～12日

参加者国、人数: 中国、韓国、香港、マカオ、フィリピン、オーストラリア、ベトナム、ラオス、ニュージーランド、カンボジア、マレーシア、モンゴル、シンガポール 計約15名

会議内容: 米国薬局方(USP)は、1820年の作成初期には217種の生薬および天然由来の薬物を収載していたが、時代を経るに従い合成医薬品が主流となり次第に数を減らし現在1/10になっている。ところが近年再び植物資源を見直す気運が高まり、多くの植物由来の医薬品、ダイエット食品を追加収載することが要求されている。USP委員会はこれらの要求に対する方針決定を目的に今回のUSP Open Conferenceを企画し、参加を要請された。米国は、中国、日本と異なり、系統立った伝統薬としての記録がなく、ヨーロッパのような民間薬としての習慣も少ないため、

どのような生薬をどのような基準で採用するか、有効性と有害性の情報をどのように方法により選択するか、またその情報をいかにして消費者に還元するか、モノグラフ作成に必要な項目は何か、等々全く基礎的な見地から討議が始まっている。GMPに関しては、現在、USP主導とFDA主導のものが個別に施行されているため両者をどう扱うか、WHOなど他国のGMPとどう調和させるかを検討。Dietary SupplementsとDrugsに対してはそれぞれ別個のGMPが必要であるとの認識に到達した。規格の設定においては日本薬局方(JP)の内容が世界をリードしており、意見交換に大きな期待が寄せられた。今後は、JP、USP、ヨーロッパ薬局方、中国薬局方の間での国際調和が検討される時期が来るであろうと予想される。

会議名: ISO/TC150 「外科用インプラント」

出席者: 療品部 佐藤道夫

開催場所、時期: シンガポール、1997年11月28日～12月3日

参加者内訳、人数: 13ヶ国、62名

会議内容: 体内に埋植する医療用具、ならびにそれに使う材料の国際標準化を審議した。主に、「埋植・摘出時に記録すべき最低データセット」、「摘出インプラントの解析」に参加した。前者では患者のフォローアップが主目的であることを明確にし、医療用具の供給業者と医療機関とに分類して記録すべき項目を列挙した。また記録方法についても次回審議する予定である。後者についてはポリマー、金属、セラミックス材料において審議が進んだが、生物由来材料についてはTC150での審議を見送ることになった。次回のTC150は1998年10月にロンドンで行われる。

会議名: ISO/TC194/WG2 「医療用具の生体内分解」

ISO/TC194/WG14 「材料の同定・確認」

出席者: 療品部 中村晃忠

開催場所、時期: ロックヴィル(米国)、1998年1月12日～14日

参加者内訳、人数: 6カ国、26人

会議内容: WG2では、CD 10993-14:「セラミックス材料の分解産物の定性・定量法」とDIS 10993-13:「高分子材料の分解産物の定性・定量法」の修正を行った。前者は再度CD投票にかけること、後者は最終案としてFDIS投票に付し、ISOとして出版することを決定した。WG14では、material characterizationの意義についての議論に多くの時間を費やした。その結果、material characterizationのISO10993シリーズ中の意義は既存医療用具との同等性の確認であることで意見が一致した。今後の作業としては、化学的同等性確認をまず標準化することで一致した。

会議名: ISO/TC194 「医療用具の生物学的評価」

出席者: 療品部 中村晃忠、土屋利江

開催場所、時期: アレキサンドリア(米国)、1998年5月10日～14日

参加者内訳、人数: 14カ国、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。今回の特徴的な課題を以下に列記する。(1)新たな課題(免疫毒性、組織工学製品、異物発癌、発癌リスク評価法)に関する短いレクチャーがあった。(2)これらをISO10993シリーズにどのように反映させるかが焦点となった。(3)免疫毒性の取り扱い案をまとめタスクフォースができた。(4)既存のISO10993の各パートの利用法(歴史、限界、評価法など)を記述する解説的

付属書をつくる方向が確認され、そのフォーマットを考えるタスクフォースができた。(5)それぞれのパートも引き続いて見直し作業に入っており、段々と調和が進むと思われる。

会議名：FAO/WHO 合同食品規格計画第30回食品添加物・汚染物質部会(CCFAC)

出席者：食品部 豊田正武

開催場所、時期：ハーグ(オランダ), 1998年3月9日～13日

参加者内訳、人数：加盟54ヶ国及び41国際機関の代表304名

会議内容：一般議題として、CAC 総会及び他の Codex 部会からの報告、Codex 及び他の機関におけるリスクアセスメントに関する活動報告、第49回 JECFA の概要報告、ADI 及び他の毒性評価の変更に伴う作業の報告があった。食品添加物に関しては、食品添加物の最大使用基準の承認・改正、一般規格の構成項目、食品添加物リストと食品リスト、使用基準案、使用の必要性、成分規格、国際番号システム改訂等について討議があった。汚染物及び毒素については、アフラトキシンと鉛の残留基準値及びその他カドミウムのディスカッションペーパー、ヒ素、スズ、オクラトキシンA、パツリンとゼアラレノンのポジションペーパーについて討議があった。カドミウムの再評価については、我が国の提案により2000年まで延期されることとなった。本部会についての内容が食品化学課今井により紹介されているので、概要を知りたい方は、食品衛生研究48(5), 57(1998)を参照して下さい。

調査名：米国における照射食肉等の安全性に関する調査研究

調査員：食品部 宮原 誠

調査対象：米国 FDA, 米国 ARS, 米国 NIST, フードテクノロジー社等

調査場所、時期：米国東部地域にあるそれぞれの事務所、研究所、並びにフロリダの照射施設. 1998年3月10日～18日

対象者と人数：FDA の消費者保護官、各研究所の研究者と照射実務者等十数名。

調査内容：本研究は昨年末に FDA が照射肉類の安全性を確認しこれの流通を認めたことに関連し、同国における照射肉等の実態を調査し研究することを目的として実施された。FDA によると過去に照射ベーコン等について許可の取り消しを行った経緯があるが、今回種々の試験や調査に基づき生肉類の安全性について十分に検討を行い、これら照射肉類の安全性に問題がないことを確認しており、表示義務の励行に必要な照射食品の検知に関しても十分に留意をしたという。これら食品照射に関する微生物学的な研究を実施した農務省 ARS の研究所を訪問した。そこには実験用の小さな照射炉が設置されており、これを用いて様々な実験が行われ、照射食品の微生物学的な安全性確認の根拠として使用したデータが蓄積されていた。NIST にある放射線の線量測定を専門とする研究所では ESR を用いる方法を検討していた。骨のあるサンプルについては十分実用になるとの見解であった。フロリダにある食品照射を専門とする照射業者の工場では実際に照射を実行中であった。現在のところ照射食品の流通量は少ないが、O157 等の食中毒を防ぐためにはこのような技術を活用しなくてはならないだろうとの見解をこの工場の技術者は語った。

会議名：第49回 FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会

(JECFA)

出席者：食品添加物部 河村葉子

病理部 西川秋佳

開催時期、場所：ローマ(イタリア), 1997年6月17日～26日

参加者内訳、人数：WHO 委員 7名, FAO 規格グループ 12名, FAO 摂取評価グループ 7名, WHO 事務局及び顧問 23名の合計 49 名

会議内容：安全性評価の対象となったのは、1)以前の JECFA で毒性学的再評価が勧告されていた添加物 (tert-ブチルヒドロキノン, ショ糖脂肪酸エステル, trans-アニソール), 2)新しいデータが出てきたために毒性学的再評価が必要となった添加物 (微結晶セルロース, マルチトルシロップ), 3)優先的な評価が必要とされた新規添加物等 (d-アセト乳酸脱炭酸酵素, hydrogenated poly-1-decene, maltogenic amylase, salatrim), 4)第44回の JECFA での新しい評価手法が適用される香料, 5)食品汚染物質としてのアフラトキシンであり、さらに香料の評価手法そのものについても再検討された。また、上記の添加物等 9 品目、それ以外の添加物 34 品目及び香料について、製品規格が検討された。

会議名：第27回医薬品国際一般名(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), 1997年5月21日～23日

参加者内訳、人数：日, 米, 欧などから INN 委員 7人, WHO 事務局 5人, オブザーバー 1人

会議内容：WHO の Division of Drug Management & Policies の主催で、27th Consultation on Nonproprietary Names for Pharmaceutical Substances(第27回医薬品国際一般名委員会)が開催され、1) proposed INN リスト #78 等に収載するため、医薬品 105 品目について国際一般名(INN)の選定および見直し作業を行った。2) 医薬品の国際一般名の選定に関する基本原則について審議を行い、ステム名及び置換基名の見直しを行った。

会議名：第9回 IPCS プログラムアドバイザー委員会(PAC)への非公式のコンサルテーション会合

出席者：化学物質情報部 神沼二真

開催場所、時期：WHO, ジュネーブ, 1997年10月22日～24日

参加者内訳、人数：スウェーデン, カナダ, イギリス, ドイツの専門家と報告者など 5 名, 他に IPCS(WHO, ILO, UNEP) 関係者

会議内容：PAC は IPCS 事業計画全体にわたる専門家による助言のための委員会であり、前回は93年10月にブリュッセルで開催された。第9回に当たる次回は1998年10月3日～5日(あたり)に開催されることが予定されている。主な議題は、(1) PAC の開催を2年以上の間隔を置くこととし、その間に必要な協議事項は新たに専門小委員会(Bureau)を設置して対応すること、(2) PAC のメンバーを見直すこと、(3) 第9回の PAC に先立ち第2回の IPCS への参加機関(PI, Participating Institutions)会合を開くこと、(4) 登録されているが、休眠状態の PI を活性化すること、(5) 投出金を増大させる方策を探ること、(6) OECD と IPCS のアセスメント事業の重複について、事務局間で話し合うこと、(7) 次回の会合の議題をどうするか、などであった。

会議名：GINC 推進委員会

出席者：化学物質情報部 神沼二眞

開催場所、時期：General Executive Center (UNEP Chemicals), ジュネーブ, 1997年9月25日

参加者内訳、人数：R. Sigman(OECD), F. Ouane, O. Perreira, J. Wills(UNEP Chemicals), J. Jaines, M. Ruse(WHO/PCS), E. Clevenstein(ILO)

会議内容：GINC は IOMC のプロジェクトであるが、会合の開催やホームページの立ち上げ、パイロットスタディとしてのアジアネットワークの推進など、実際的な事業は報告者の部が担当してきた。ただ、インターネットの急速な普及により、GINC の当初の目標の一部が比較的短期間に達成されてきた結果、事業の見直しとともに、NIHS 先導型から IOMC を中核とした事業に移行する機が熟してきた。この結果、今回は報告者が用意した資料に基づき具体的行動目標が設定された。

会議名：環境保健クライテリア「環境健康に関する意志決定指標」のレビュー会合

出席者：化学物質情報部 神沼二眞

開催場所、時期：WHO, ジュネーブ, 1997年9月29日～10月2日

参加者内訳、人数：各国の専門家および WHO 関係者約 24名

会議内容：本会合は WHO の EHG(環境健康部) がまとめてきた標記の環境保健クライテリアのドラフトが作成されたため、その内容を再検討するために開かれた。討議は、この文書の表題から始まり、この中には地理情報システム(GIS) の応用、疫学、(複数の国にまたがる) 地域データをどう集めるかなど、多岐にわたった。

調査名：GINC アジアプロジェクトの一環としてのベトナムにおける化学物質情報ネットワーク構築の支援

出席者：化学物質情報部 神沼二眞

開催場所、時期：ベトナム、ハノイ市, 1998年2月23日～28日

調査内容：今回の訪問の主たる目的は、IFCS(国際化学物質安全性フォーラム) および IPCS(国際化学物質安全性計画) の一環である、GINC アジアプロジェクトのためのベトナムのパートナーを組織し、具体的な行動を促進することであった。また、これと関係して、ベトナムにおけるダイオキシンの研究状況を把握し、できればダイオキシンに関連した情報を GINC アジアプロジェクトとして提供する可能性を探ることであった。

具体的な訪問先や行動日程に関しては、去年10月に東京で開催された GINC アジア関連会合のベトナムからの出席者である Oanh 博士がすべてアレンジしてくれた。この結果、短期間ながらの13機関を訪問し、10名の機関長(研究所所長) を含む約40名以上の関係者と意見を交わすことができた。

会議名：IPCS CICAD(国際簡潔評価文書)第3回運営会議

出席者：化学物質情報部 関澤 純

開催場所、時期：英国、ロンドン、衛生安全庁, 1997年9月15日～18日

参加者内訳、人数：16カ国の委員16名、事務局、オブザーバー10名

会議内容：CICAD は、各国の安全性評価文書を基に簡潔

で国際的に有用な評価文書を作成するため、1995年より計画を開始した。前2回の運営会議では CICAD の内容の概要と、パイロット事業の計画について討議した。今回はパイロット事業の成果を踏まえ、内容と計画について改善すべき問題点を検討した。すなわち、筆者が作成した各國、国際機関の評価レビューデータベースを活用し候補物質選択の効率化、最終検討会議を年2回開催することでより多くの CICAD を作成、各國や外部機関、専門家によるピアレビュープロセスの透明化と効率化の推進、レビューとドラフト作成者および最終検討会議の分担と責任の明確化、CICAD と組み合わせて出版される国際化学物質安全性カードの作成とのリンク、CICAD の基礎にできるようなナショナルレビューを作成公表していない国(日本や途上国) に CICAD 原案を作る能力を持った専門家がいる場合の協力体制の構築、などにつき検討した。

会議名：第2回国際簡潔評価文書(CICAD)・最終検討会議(FRB)

出席者：化学物質情報部 関澤 純

開催場所、期間：ドイツ、ベルリン、1997年11月26日～28日

参加者内訳、人数：委員14名、事務局5名、オブザーバー4名

会議内容：CICAD の原案最終検討会議(FRB) の2回目として開かれた。Triglycidyl isocyanurate, 2-Butoxy ethanol, Manganese, 1, 1, 2-Tetrafluoroethane, N-Phenyl-2-naphthylamine の5物質の CICAD 原案を検討した。CICAD 作成の透明性と内容の信頼性を高めるため、各國の専門家、業界などから寄せられたコメントと原案作成担当者による回答を対照させた表が作られた。FRB ではコメントに対して担当者が解決できなかった問題とリスク評価上の問題に焦点をしぼり討議した。FRB の討議結果は表に追加されてオープンになる。このような手法で問題をクリアにしつつ効率良く検討を進めることができた。わが国にはこのようなプロセスを経たレビュー文書がこれまでなかったが、今後その枠組みを構築してゆくために CICAD 計画はおおいに参考になる。第1回 FRB で検討された7物質の CICAD が来年には出版可能であり CICAD 作成過程とその内容に国際社会が注目していることから、早期の出版は喜ばしいことである。1998年は東京で FRB の開催が要請され、国内の協力体制をいっそう強化する必要がある。

会議名：FAO/WHO 合同「食品基準と安全問題に係わるリスクコミュニケーションについての専門家諮問会議」

出席者：化学物質情報部 関澤 純

開催場所、時期：イタリア、ローマ、厚生省、1998年2月2日～6日

参加者内訳、人数：関澤と、厚生省食品保健課中山智紀氏の他に、FAO, WHO 8名、13カ国から18名、食品関連 NGO(消費者ユニオン、産業界) から計3名が出席

会議内容：WHO と FAO の共催した食品基準と安全問題に係わる「リスク分析」および「リスク管理」の会議に次ぎ第3ラウンドになる。前回テーマと異なり、今回は食品安全に係わる行政、業界、消費者団体の代表と、本分野の研究者と国際食品規格関係者、政府代表が一同に会した。日本は O157 病原菌食中毒事件対応の経験と教訓を紹介した。4分科会に分かれ、リスクコミュニケーションの定義、目的、対象、各セクターの役割、実施指針、障害と問題解決の考え方などを、平常時と緊急時の二つの場合に分けて

検討した。実績を持つ米国などの影響力が強かったが、関沢らはリスクコミュニケーションを専門家、政府や業界からの一方的な情報伝達と考へるべきでないこと、会議に出席している途上国などでは事情が大きく異なり配慮すべきであること、リスク管理の専門能力養成とあわせてコミュニケーションの専門能力の養成が重要であること、わが国の経験からも医師、食品衛生従事者、家庭、地方行政官など異なる立場の人々は異なるメッセージを必要としており、これにあわせたメッセージを検討すべきことなどを主張し、草案に取り入れられた。本テーマについての国際的討論ははじめてであり参加者が多方面にわたったことから議論も広がりが見られ、今後が期待される。

会議名：リスクコミュニケーションのあり方に関する米国訪問調査

出席者：化学物質情報部 関沢 純

開催場所、時期：米国東部諸都市、1998年2月23日～27日

参加者内訳、人数：関沢と福島大学行政社会学部村山武彦助教授が参加、訪問先はニュージャージー州環境保護庁、ラトガース大学環境情報センター、ロームアンドハース社、ナショナルエンバイロンメントトラスト、地域の知る権利ワーキンググループ、米国環境保護庁、国防省、ワールドリソースインスティテュート、厚生省毒物疾病登録庁(ATSDR)

会議内容：日本化学会の「化学物質のリスクコミュニケーション手法検討会」の研究の一端として行われた。わが国におけるリスクコミュニケーションを推進、改善するためには本分野で実績を持ち研究も進んでいる米国の関連機関、専門家を尋ね情報交換と討議を行った。行政、企業、NGOがそれぞれの立場で、情報の共有による信頼関係の構築、意見の交換を通してのより良いリスク管理の方向をめざしていくことが分かり参考となった。特にATSDRは有害廃棄物埋め立て地近辺でのリスク評価を行い、その結果に基づき地域でリスク管理計画を立案、住民にリスク情報を的確に広報し、要望を聞く支援をするユニークな専門機関である。最近わが国で軽視されがちな傾向にある予防衛生を本格的に支える研究を行う機関として多くの興味ある討論ができた。

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：ミラノ(イタリア)、1997年10月5日～12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完成させる。2グループに分かれ、それぞれ毒性データや化学データ等について約110物質のカード原案を検討した。日本が分担作成した原案はそのうち、シクロヘキサン、テトラヒドロフラン、ホスフィン、ヘキサクロロブタジエンなど28物質である。

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)、1998年3月21

日～29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：全体で約90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。日本はクロロブレン、硝酸銀、クマリン、ジクロルボス、カフェインなど8物質の原案作成を分担した。

会議名：ICH/EWG及びICH-4

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：ブリュッセル、ベルギー国、1997年7月12日～20日

参加者内訳、人数：三極の専門家、約1,500人

会議内容：ICH/EWGでは、S1B(がん原性における2種の問題)、S1CR(がん原性における限界用量の問題)、S4(非げっし類の反復投与期間の問題)、M3(離床試験と非臨床試験のタイミングの問題)の討議に参加した。その結果、S4を除きStep 4に達することが出来た。その後のICH-4では、安全性分野の全体に関するTechnical Workshop IIIにおいて座長をつとめた。なお、安全センターからは祖父尼、三森、大野が演者となった。

会議名：国際化学物質安全性計画運営委員会；IPCS Steering Committee on the Harmonization of Approaches to the Assessment of Risk from Exposure of Chemicals

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：Research Triangle Park, NC, USA, 1997年9月3日～5日

参加者内訳、人数：Steering Committeeメンバー、関連企業・機関代表、IPCS関係者など26名、12カ国(米国、英国、ドイツ、カナダ、オランダ、スエーデン、イタリー、イス、オーストラリア、ウルグアイ、中国、日本)

会議内容：このプロジェクトは92年にUNCED Agenda 21で提唱され、IPCSの主導のもとに93年から開始されている。その目的・原則として、①リスクアセスメントに関するものであり、リスクマネジメントは含まない、②リスクアセスメントプロセスの透明化を図る、③リスクアセスメントガイドライン等を作成するのではなく、まず各国・各機関での手法を理解する、④健康影響評価を目的とするが、隨時曝露評価及び疫学も取り入れる、の4点が上げられ、そのためには第一に科学的根拠を重視し、第二に政策決定と科学的見解の差を考慮することとしている。プロジェクト全体に関する助言・勧告をするためのSteering Committeeが95年に始まり、今回はそれに続く二回目である。座長は、Dr. Fielder(英国)、ラポーターはDr. Farland(米国)とDr. Hartley(オーストラリア)である。会議では以下のHarmonization Projectについて各担当者から報告を受け討議を行なった。①生殖発生毒性；用語集・図譜及び共通化を目指す報告書の作成、有害性の定義が進行中であり、今後はヒトデータのリスクアセスメントへの利用法、IARCに倣った国際機関の必要性が問題となる。②発がん性；リスクアセスメントの過程で重要な因子(発癌機構、ヒトへの外挿性、genotoxic or nongenotoxicなど)を取り上げ、データの豊富な12化学物質について各国・各機関での差異を検討する。③遺伝毒性；各国・各機関の評価法を検討して、ハーモナイズされた定性的評価法を完成し、Mutation Researchに掲載している。今後、定量的

評価法を生殖細胞のみならず体細胞に関しても作成するかが問題となる。④ Non-cancer endpoint に関する定量的評価；これは一言にすれば評価の際の不確実性(UF, NOAEL, LOAELなど)に関する問題であり、評価過程での透明化の問題が大きい。今後、適切な化学物質を選び、各国・各機関での評価手法の差異を認識することとなる。⑤用語集の作成；まずリスクアセスメントにおける一般概念的用語を50選びそれにWHOで集めた定義から適当なものをつけ個人単位で150カ国以上へ送付し意見を問い合わせた結果、現在約200人から応答があった。今後はIPCSのInternetを通じて意見を求めて97年末には完成の予定である。⑥リスクアセスメント手法総覧表作成；各国・各機関における行政上の健康及び環境影響に関するリスクアセスメント過程を相互に理解する目的で作成する。IPCSでは既に農薬登録に関してその総覧を作成しているが、今回はOECDとの共同事業として行う。総覧には、企業が申請する際に要求されるデータ・資料、リスクアセスメントに従事する行政側のトレーニング方法などが含まれる。⑦その他；神経毒性、免疫毒性、金属毒性、曝露評価については、今後の課題とする。

会議名：第13回 OECD 有害性評価委員会諮問委員会；
OECD/RAAB(Risk Assessment Advisory Body)
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：OECD Chateau de la Muette, Paris.
1997年12月1日～2日

参加者内訳、人数：OECD 加盟15ヶ国、関連団体、
OECD 事務局など約30名。日本からは、環境庁代表として安野氏(滋賀県立大学)、通産省代表として高月氏(化学品検査協会)と黒川であった。さらに、OECD 出向中の森下氏(環境庁)と近沢氏(厚生省)が事務局として出席した。

会議内容：この会議はこれまで HAAAB Hazard Assessment Advisory Body とされていたが、前回より各国の同意を得て、RAAB Risk Assessment Advisory Body と名称を変更し、より広義のリスクアセスメントに関するOECDの諮問機関という性格を強めた。議題は、環境問題と健康影響問題の二つに大別される。健康影響に関する話題としては、①非農業用農薬(Biocides)及び難分解性有機系農薬を含む工業用化学物質のリスクアセスメント。②リスクアセスメントに関する用語集、手法、報告書のハーモナイゼイション。③内分泌搅乱物質についてのテストガイドラインの修正、新規作成。これに関して、RAABでは National Coordinators Meeting, NCMとの共同のWGを設置することを提案した。(その後、NCMにおいて了承された)。④テストガイドライン作成の必要性(神経毒性、免疫毒性等)等が主なものであった。特記すべきこととして、今回最初の試みとして、RAABメンバーにより、この組織の意義、必要性、実施方法等々について極めて活発な討議が行われたことである。今後、この討議を踏まえてRAABがより重要な立場となることが予想される。第14回 RAABは、1998年9月が予定されている。

会議名：ICH 専門家会議、バイオ医薬品の安全性に関するトピックグループ会議および ICH-4 医薬品の規制についての技術的要件に関する国際協調会議
(Expert Working Group Meeting & Main Conference on Preclinical Testing of Biotechnology-

Derived Pharmaceuticals, International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use.)

出席者：毒性部 井上 達

開催場所、時期：ベルギー王国、ブリュッセル市
(Brussels, Belgium), 1997年7月12日～20日

参加者内訳、人数：(S6EWG に限る) Carstensen J. (EFPIA), Cavagnaro JA. (FDA, Rappateur), Green J. (PhRMA), Inoue T. (NIHS), Kawai M. (JPMA), Maki E. (JPMA), Nakaniwa H. (MHW), Osterberg RE. (PhRMA), Sims J. (EC), Vicari G. (EC). また、本会議は約1,800人参加。

会議内容：(今回のあらまし) 今回の主要な目標は、前回以降に寄せられた意見を織り込みながら、最終的な字句上の修正を行い、ステップ4に到達することにあったが、実質的に大きな問題はなく、これを達成した。これまでの認識の発展にともなって、今回あらたに明確にした点は、relevant animal の概念について明らかにしたこと、受容体原性シグナル伝達を中心とした生物学的 relevancy の存在を relevancy の基礎として合意した点である。
(感想と今後の見通し)：バイオ医薬品のガイダンスをまとめることが決まってから約2年あまりの間に、早くも概念が少しずつ変化してきた。例えば、受容体作動性の特異な毒性、バイオ医薬品障害は、シートル会議当時、当報告者がはじめて明確にした点であったが、その後、これがバイオ医薬品障害の主要なルートとして位置づけられるようになっていった。そのことと同様に、バイオ医薬品の発がん性や免疫原性の取り扱いについても、将来課題として、今後、研究を続けて行くべきことが合意に達した。

派遣研究課題名：農薬・食品添加物等のエストロジエン様作用の検出と評価に関する研究

出席者：毒性部 井上 達

開催場所、時期：FDA, Office of Testing and Research(米国コロンビア特別区ワシントン市), EPA, Office of Pollution, Prevention and Toxics(米国コロンビア特別区ワシントン市), EPA, Reproductive Toxicology Division, (ノースカロライナ州リサーチトライアングルパーク)など。1998年2月21日～28日

派遣先会見者：米国 FDA 試験・研究課長 James E. MacGregor 博士、米国 E 汚染防止毒物課長 Anthony F. Maciorowski 博士、米国 EPA、生殖毒性部長 Robert J. Kablock 博士、他。

研究課題の概要：ワシントン D.C. では、FDA の試験研究課長の James E. MacGregor 博士とそのグループより、技術的な、EPA の汚染防止毒物課長の Anthony F. Maciorowski 博士よりポリシー面で、エストロジエン様作用等エンドクリン作用全般に関する研究状況等について意見交流を行った。また、ノースカロライナ州リサーチトライアングルパークでは、EPA の生殖毒性課長の Robert J. Kablock 博士よりエストロジエン様作用の検出と考え方にに関する実験的研究の交流、CIIT の生殖発生部門長 Kelvin Gaido 博士と同博士の新しい実験結果の討論、NIEHS の Korach 博士と新しいエストロジエン作用改変動物の研究

成果などの研究交流を行った。

会議名：第1回OECD内分泌障害性化学物質(EDCs)の試験およびアセスメント(EDTA)に関する試験法指針に関する各国調整官(National Coordinator Meeting)及び、リスクアセスメント顧問団合同会議(First Meeting of the OECD Joint NCM/RAAB(Risk Assessment Advisory Body) the Risk Working Group on Endocrine Disrupter Testing and Assessment(EDTA))

出席者：毒性部 井上 達

開催場所、時期：経済開発協力機構本部 第四階会議室
(2 rue Anne Pascal). 1998年3月10日
～13日

参加者、人数：46名(独2, オーストリア2, 加2, デンマーク2, スペイン1, 米2, フィンランド1, 仏2, ハンガリー1, 伊2, 日0(4), ノルウェー2, オランダ2, チェコ2, 英2, スウェーデン2, スイス1, スロバキア1, EU5, ICCS1, BIAC6, WWF1)

会議内容：現在ある内分泌障害性化学物質に関する試験戦略を通して、国際的な試験の可能性を探ることを中心にして討議した。論点としては、第一に、この問題の国際戦略としての枠組みを明らかにすること。第二に、試験方法と通じたEDCsの定義付けを改めてはっきりすること(これは結局しなかった、というより、いまの段階では出来ない!). そして第三に、EDCsのadverse effectsのエンドポイントとは、一体何なのかを決める。第四に、以上を通して決まっていく試験について、どの程度フレキシビリティを持たせていくか、などが中心となった。それについて、合意に達したもの順次、公表していくことになった。

会議名：IPCS/OECD内分泌障害性化学物質(EDCs)に関する合同会議(IPCS/OECD Scoping Meeting on Endocrine Disruptors)

出席者：毒性部 井上 達

開催場所、時期：国連米州保健機構(PAHO)ビルディング, 1997年3月16日～18日

参加者、人数：Membership Steering Group: (計7人): Cynthia Bearer, Aake Bergman, Fernando Diaz-Barriga, Tohru Inoue, George Lucier, Sari Maekelae and Larry Reiter(座長)

会議内容：現在ある内分泌障害性化学物質に関する実態と研究状況を通してResearch Inventoryを一つのファイルに納める方向性を打ち出すこと、また2年程度の緊急作業でこの問題についてのWHO Publicationを刊行すること、Steering Committeeは、その編集を担当する。この為の著者の選出、それらを含めた次回以後の会合の持ち方に関する方針決定することなどを目的として開催。米(EPA)、加(カナダ環境防護庁)、および欧州で、相互情報交換の可能な同一データベースへの相互乗り入れの体制をKavlockを中心に組む。(日本については、差し当たり窓口を作りて欲しい旨の要請に基づいて、ヒト健康サイドとして内田康策生活科学安全対策室長、環境サイドとして福原毅文環境安全課長を連絡先とすることとした。内分泌障害性化学物質に関する実態と研究状況について討議。内分泌障害性化学物質の作用機構には、既存の化学物質と異なった作用機構があることを確認。内分泌障害性化学物質

の定義(definition)を決めた。

調査名：日米科学技術開発協力協定に基づく研究課題：新しい日米科学技術に関する研究(毒性学)の一環として日米両国の現状の把握情報交換

参加者：毒性部 菅野 純
毒性部 北嶋 智
食品部 佐々木久美子
環境衛生化学会 増岡伸光

訪問先：米国 国立毒性研究センター(NCTR, アーカンソー), 国立環境保健科学研究所(NIEHS, ノースカロライナ), 環境保護庁(EPA, 同上), 化学工業毒性研究所(CIIT, 同上)

時期：1998年3月6日～3月10日

調査内容：近年、野生動物の生殖機能低下に対する環境汚染化学物質の関与が指摘されており、その作用機序として内分泌系の攪乱が考えられている。これらの物質は内分泌障害性化学物質と呼ばれ、その作用機序の解明、生物学的スクリーニング法の開発、リスク評価法等に関する研究が各国で進められている。我が国においてもダイオキシンを含む内分泌障害性化学物質に対する実態把握と科学的検討を行っている。そこで、「毒性学研究」の研究事業の一環として、米国の研究機関における研究進展状況の調査をし、この課題に直接関わっている研究者と意見・情報交換を行うことによって最新の知見を得た。また、第19回国際アナリティカルサイトロジー学会に参加し成果の発表を行った(北嶋)。NCTRではDr. Sheehanを中心に生殖、神経学、行動学、免疫学及び生殖系発癌に対する効果について、NIEHSではDrs. Barrett, Selkirk, Lucier, Gray, Davisらと意見交換し、Dr. Korackからはエストロジエン β ノックアウトマウス、Dr. NegishiとはDESの作用機構について情報交換した。EPAにおいては Drs. Kavlock, Cooper, Kelch, Dixと、CIITにおいては Dr. Gaidoと最近の研究結果(HepG2細胞応答遺伝子系)について意見交換をした。

研究集会名：第19回国際アナリティカルサイトロジー学会(ISAC)

参加者：毒性部 北嶋 智

開催場所、時期：米国コロラド州コロラドスプリングス, 1998年2月28日～3月5日

参加人数：約1,500名

研究集会内容：内分泌障害性化学物質の生体への障害性に対する取り組みが、諸外国関係研究機関において急速に研究が進んでいる。この取り組みに関する研究集会への参加ならびに、各機関における科学的取り組みの現状を調査し、必要な研究交流をはかり、技術移転の方策を探った。その結果、セルソーターを用いた精子障害の新しい分析法に関する情報をいくつか得ることができた。例えば、Dr. Evensonら(South Dakota State University, USA)によるアクリジンオレンジの蛍光特性を応用した精子DNA状態の峻別法、また、Dr. Breitensteinら(National Institute for Occupational Safety and Health, USA)によるSYBR14という生きた精子のみを染色する蛍光色素と、PIという死んだ精子を染色する蛍光色素を組み合わせた精子生存率の峻別法等である。生殖細胞の中では、精子に関する解析法が進んでおり、このことに関する情報は、内分泌障害性化学物質に関する研究を進める上で、有益なものとなった一方、精子形成に寄与するその他の生殖細胞に関する研究成果は、ほとんど無く、今後この方面的研究推進の必要性の印象を持った。なお、この研究集会に参加した後、菅野 純(毒性部第3室長)、佐々木久美子(食品部第1室長)、増岡

伸光(環境衛生化学部)らとともに、米国 国立毒性研究センターの Dr. Sheehan のもとを訪れ、内分泌障害性化学物質の影響に関する研究の情報収集を行った。

会議名：WHO 主催国際薬物分類・使用量規定(ATC/DDD)に関する国際作業グループ第一回会議

出席者：薬理部 大野泰雄

開催場所、時期：スイス、ジュネーブ、1997年4月27日～5月1日

参加者内訳、人数：アジア4名、アフリカ3名、欧洲11名、北米1名、南米1名、豪州1名、WHO事務局8名、計29名

会議内容：本会議は医薬品の薬効や薬理作用を中心とした分類(ATC分類)と標準的な用量(DDD)指定に關係した一般的な作業を行うものであるが、今回の会議はATC/DDDシステムについての初めての国際会議であったことから、1) どのような薬物がどのように使用されているかを相互比較できるデータを作成するという本システムの目的、2) 医薬品の使用実態に関する surveillance と research を促進し、薬物使用を最適化し、適正使用を促進するという目標、3) ATC/DDDシステムの基本的な性格、指定、改訂のための手続き等についてEUでの経験をもとにWHO-Osloが作成したガイドラインについて説明された。また、4) システムの問題点について審議された。更に、5) ATC/DDDシステムがヨーロッパを中心にアジア、アメリカで薬剤使用統計や副作用モニタリング、薬物のカタログ作成、health reimbursement schemeなどに使用されていることが示された。また、インドネシア及びオランダでの例について説明された。この後、企業、EU諸国から提案されたATC/DDDの変更について審議された。

会議名：WHO 主催国際薬物分類・使用量規定(ATC/DDD)に関する国際作業グループ第二回会議

出席者：薬理部 大野泰雄

開催場所、時期：ノルウェー、オスロ、1997年10月27日～29日

参加者内訳、人数：アジア4名、アフリカ2名、欧洲3名、北米1名、南米1名、豪州1名、WHO事務局5名、計17名

会議内容：医薬品の使用に関する統計解析に資することを目的にした、医薬品の薬効や薬理作用を中心とした分類(ATC分類)と標準的な用量(DDD)を決定するための作業を行った。具体的には既存の約10種の薬物及び薬物群の分類について審議した。また、22種の薬物についてATCを新たに設定した。なお、実態の曖昧な抽出物や生薬ATC/DDDシステムに取り入れると大きな混乱が予想されることから、原則として、ATC/DDDに分類する薬物はWHOレベルで定義されたものにすべきとされた。また、ATC/DDDに関するガイドラインの改定作業を進める。なお、今回から会議をよりオープンなものとするために、IFPMAの代表の参加が認められた。

会議名：FAO/WHO 残留農薬に関する会議

出席者：薬理部 藤森觀之助

開催場所、時期：リオン(フランス)、国際癌研究機関、1997年9月22日～10月1日

参加者内訳、人数：WHO毒性評価正式委員6名、FAO残留評価正式委員7名、事務局所属24名(WHO毒性評価臨時顧問15名及び3名の環境毒性(専門家を含む)

会議内容：FAO/WHO 残留農薬合同会議の WHO毒性評

価専門家グループ会議に臨時顧問として参加し、新規評価2農薬、再評価11農薬および2光分解物、急性毒性評価2農薬および1光分解物について、動物における動態およびヒトを含む哺乳動物における毒性データからなる作業資料を基に毒性評価を行い、ADIおよび急性RfD(reference dose)を設定する作業を行った。評価の結果、FenbuconazoleはADI=0-0.03 mg/kg bw、FipronilはADI=0-0.0002 mg/kg bw、Fipronil光分解物MB46613は暫定ADI=0-0.0003 mg/kg bw、FenamiphosはADI=0-0.0008 mg/kg bw、Guazatineはno ADI、MalathionはADI=0-0.3 mg/kg bw、TriforineはADI=0-0.02 mg/kg bw、AbamectinはADI=0-0.002 mg/kg bw、AmitroleはADI=0-0.002 mg/kg bw、AMPA(glyphosate光分解物)はADI=0-0.3 mg/kg bw、ChlormequatはADI=0-0.05 mg/kg bw、Lindaneは0.001 mg/kg bw、PhosaloneはADI=0-0.02 mg/kg bw、EthepronはADI=0-0.05 mg/kg bw、急性RfDとしてFenthionはAcute RfD=0-0.01 mg/kg bw、MethidathionはAcute RfD=0-0.01 mg/kg bw、Fipronil光分解物MB46613はAcute RfD=0-0.003 mg/kg bwに設定された。

会議名：OECD神経毒性ガイダンスに関する検討会議

出席者：薬理部 藤森觀之助

開催場所、時期：トロント(カナダ)、1998年3月30日～4月1日

参加者内訳、人数：OECD事務局1名、IPCS1名、各国行政科学者8名(カナダ3名、米国3名、デンマーク1名、日本1名)、企業8名(カナダ1名、米国2名、ドイツ1名、英国1名)、団体(BLAC1名、ECETOC2名)

会議内容：OECD神経毒性試験ガイドライン(No.424)の化学物質および農薬の安全性評価の施行に伴う問題および試験を行なうにあたっての実行面での何らかの指針を作成する必要がこれまで言われており、1995年から1996年にかけて、米国およびカナダを中心にECETOC、American Industrial Health Council(AIHC)の協力を得て、IPCSとの協同の下、OECD神経毒性作業グループが発足し、1996年に神経毒性試験を行なうにあたっての手法と作戦についてのガイダンス文書案が作成された。本会議では神経毒性ガイダンスはOECDの神経毒性試験を実行面で支えるものであり、本文の解説にはある程度国際毒性評価におけるregulatoryな側面があることを再確認した。一方、追補における試験方法の解説はあくまで一種の参考として役立ててもらうという性格のものであることも再確認した。更に今回確認されたことはNo.407あるいはNo.408で神経毒性の兆候がある時にはNo.424の神経毒性試験を行なうことである。急性と反復投与神経毒性試験を1セットとして行なうか、反復だけでよいかについては結論が出ず、本文は事務局、追補部分は3作業グループに分かれて、6月中頃までにE-mailを活用したコメントにより討議、最終案を作成することになった。

会議名：農薬の環境及びヒトのリスクアセスメントに関する国際会議

出席者：病理部 高橋道人

開催場所、時期：ベルギー・ブリュッセル、1998年1月21日～22日

参加者内訳、人数：イギリス、フランス、ドイツ、ベルギー、アメリカ、カナダからの官民の研究者と日本からは高橋道人(11名)と聴衆約250名

会議内容：農薬のリスクアセスメントを国際的に進めるにはどのような問題点があるか、各国の実状報告ならびにハーモナイズすべき点が話し合われた。高橋は「非遺伝毒性発がん物質のリスクアセスメント」と題して日本での農薬の安全性に関する規制の現状について発表し、長期発がん性試験で腫瘍発生が見られたとしても、非遺伝子傷害性物質の場合、その臓器に腫瘍を発生させる原因となるメカニズムが明らかになれば、適切なパラメータを用いることによって通常物質と同じような NOAEL を設定することができるとする内容を発表した。他の発表では、自然環境に対して水生動物、陸生動物、ミツバチから魚、野鳥に至るモニタリングならびに試験の方法が OECD のガイドラインに沿ってどのように実施されているか、あるいは評価されているかが発表されたが、この分野では日本の取り組みが立ち後れている感じを受けた。米国の EPA からは暴露の評価方法についての発表があり、特に、乳幼児や子供に対する暴露の研究が始まったこと、また、そのプロトコルについての紹介があり、今後このような研究成果を踏まえて、規制に取り込まれるであろうということであった。

会議名：発がんリスク評価の諸問題に関する IPCS ワークショップ

出席者：病理部 西川秋佳

開催場所、時期：ドイツ・ハノーファー、1998年1月26日～30日

参加者内訳、人数：機関代表、IPCS 関係者など35名、11カ国(米国、英国、ドイツ、カナダ、オランダ、スウェーデン、イタリア、デンマーク、ノルウェー、オーストラリア、日本)

会議内容：このプロジェクトは、1992年にUNCED Agenda 21で提唱され、IPCS の主導のもとに1993年から開始されている。プロジェクト全体に関する助言・勧告をするための IPCS Workshop が1995年に始まり、1997年の第2回 Workshop において Harmonization Project の一つとして発がん性リスク評価がとり上げられ、リスク評価の過程での重要な諸因子に焦点を当て、データの豊富な化学物質について、各國・各機関での評価手法の差異を理解することとされた。今回の Workshop はそれを受け開催されたものである。本 Workshop では、異なる科学的アプローチが必要となるリスク評価過程での重要な、1)種特異性、2)細胞毒性/細胞増殖、3)複数部位：細胞毒性/細胞増殖及び酵素誘導、4)細胞毒性/細胞増殖及びDNA蛋白クロスリンク、5)ホルモン誘発腫瘍、6)代謝における種特異性の6つの因子がとり挙げられ、それに属する12の化学物質のリスク評価の過程が検討された。

会議名：第50回 FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議(残留動物薬)

出席者：病理部 三森国敏

開催場所、時期：FAO 本部 ローマ(イタリア)、1998年2月17日～26日

参加者内訳、人数：WHO 側から25名、FAO 側から13名
会議内容：azaperon, bovine somatotropins (bST), diclazuril, eprinomectin, benzimidazoles (febantel, fenbendazole, oxfendazole), gentamicin, imidocarb, nicarbazin, procaine, penicillin, sarafloxacin, tetracyclines について ADI および MRL 案が設定された。dexamethasone, moxidectin, spectinomycin に対しては FAO のみで審議がなされ、MRL 案が設定された。bovine somatotropins(bST)については、第22回 CAC 会議の決議に従って、今回

JECFA は、新たな資料および公表されている多くの文献などのデータから、bST を投与された牛においてはヒトへのリスクの可能性はほとんどないと結論に達し、「ADI および MRL 特定せず」の結論を今回も支持するとの決議がなされた。テトラサイクリン系抗生物質については、米国 FDA は、新たな多くの微生物学的抑制濃度(MIC)データ、薬剤耐性発現検出に有効な新たな資料および追加文献を収集した。提出された資料から、腸内細菌の薬剤耐性が本物質の微生物学的影響を評価する上で最も感受性の高い指標であることが指摘され、安全係数10を加える必要はなく、従来の ADI(0.003 mg/kg) を0.03 mg/kg に変更する旨が了承された。

会議名：国立毒性試験計画(NTP)科学顧問委員会および CMR(国際医薬品研究センター)インターナショナルワークショップ(WS)

出席者：病理部 三森国敏

開催場所、時期：リサーチ・トライアングル・パーク(アメリカ合衆国) およびアッシュゲート・パークホテル(イギリス)、1998年2月3日～12日

参加者内訳、人数：NTP 会議は科学顧問26名と発表者15名、CMR-WS は50名

会議内容：米国国立環境衛生科学研究所(NIEHS)で実施されているトランスジェニック(Tg)マウスを用いた短期発がん試験法について、NTP として今後この試験系をどのように推進していくかを決定するため、今までに実施してきた研究結果が発表されると共に、NTP 科学顧問からの意見を集約し、NTP が今までに実施してきた遺伝子改変動物の有害性確認のための検出力を高める研究は非常に有益なものであり、今後も引き続いて、代替動物モデルの開発を目的として Tg やノックアウトマウスを用いた試験法の開発を継続すべきであり、その発がんメカニズムに関する研究の実施が今後必要であるとの勧告がなされた。

CMR-WS では、ICH4 での決議に準じ、Tg マウスを用いた短期発がん試験を今後実施していく際の諸問題についての討議がなされた。p53欠損マウスおよびヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入 Tg マウスが遺伝毒性発がん物質に著しく感受性が高いことが示されているが、既に実施された発がん試験結果と Tg マウスでのそれを比較したところ、Tg マウスによても必ずしも全ての発がん物質が検出される訳ではなく、此の点についてのメカニズム探求のための研究が今後必要であることが強調された。

会議名：第8回 OECD 試験ガイドラインについてのナショナルコーディネーター会議(NCM)

出席者：病理部 三森国敏

開催場所、時期：パリ(フランス)、1997年4月23日～24日
参加者内訳、人数：加盟国24カ国から52人

会議内容：哺乳動物を用いた急性毒性のための上げ下げ法(UDP)試験ガイドライン(TG)の修正原案について討議がなされ、承認された。これにより、UDP、固定用量法、急性毒性等級法の三つの代替法が TG 草案として完成したが、急性毒性のガイダンス・ドキュメントを早急に作成することとなった。経皮吸収試験 TG 原案に関しては、in vivo 法についてはその方法を指示する加盟国が多かったが、in vitro 法については問題があるとの意見が出され、これらについてのワークショップ(WS)を米国 NIEHS で97年10月に開催することとなった。哺乳動物を用いた90日間反復経口毒性 TG408 と409 の改訂原案は事務局により改訂原案が作成され、今回承認された。内分泌搅乱物質

(EDC)についての集計結果が報告され、各国ともこのEDCに関する問題を重要視しているとの結果が得られた。96年12月の英国 Weybridge でのEDCについての WS での討議結果および英国が収集した情報を総括して、97年3月にEDCについての詳細な総括報告書草案を英国が作成し、次回のNCMで、どの既存TGにどのような検索指標を加えることによりEDCを検出可能にすることができるか等について討議することとなった。

会議名：第9回OECD試験ガイドラインについてのナショナルコーディネーター会議(NCM)

出席者：病理部 三森国敏
毒性部 長谷川隆一

開催場所、時期：パリ(フランス), 1997年12月3日～4日
参加者内訳、人数：加盟国24カ国から60人

会議内容：急性毒性TG401の削除についてのガイダンス・ドキュメントを作成するためのワーキング・グループ(WG)を設置することが承認された。ヒト皮膚パッチ試験の新しいTG修正案が作成され、その内容についての討論がなされた。医薬品や化粧品についてはこのTGが必要であるが、他の一般化学品に対しては、このTGの必要性は低いとの意見が出された。長期毒性・発がん性試験の用量設定についてのTG案が97年4月に作成され、そのガイダンス・ドキュメント案が年内中に配布されることであった。生殖発生毒性TG414と416については、内分泌搅乱物質(EDCs)についての問題を絡めたガイダンス・ドキュメント案を作成することとなった。神経毒性試験のガイダンス・ドキュメントについては、諮問会議を98年3月にオタワで開催する旨が説明された。内分泌搅乱物質(EDCs)について加盟各國から送付されたコメントを編集した問答集をOECD文書として発刊することが了承された。総括報告書(DRP)についてよせられたコメントを編集すると共に、RAABとNCMとの合同でEDCs検出のための既存TG修正や新TGの作成に関するWGを設立したい旨が了承された。

会議名：ICH-EWG:遺伝毒性試験に関する専門家会議およびICH-4:Technical Workshop

出席者：変異遺伝部 祖父尼俊雄

開催場所、時期：Europa Inter-Continental Brussels and Brussels International Conference Center, Place Belgique, Brussels, Belgium, 1997年7月14日～18日

参加者内訳、人数：遺伝毒性試験の標準的な組合せ(S2B)の専門家会議にはFDA, EU, MHW, PhRMA, EFPIA, JPMAの6極より代表者が計10名、ICH-4本会議には世界中から医薬行政関連者、製薬関連者などおよそ1,600名

会議内容：遺伝毒性試験の標準的な組合せをどのような内容にするかは、遺伝毒性試験の根幹をなすもので、極めて重要で且つ困難なテーマである。特に、マウスリンフォーマ試験(MLA)の取扱いは論議の多いところであったが、厚生省および製薬協が中心となって行った共同研究の成果はこの問題の解決に多大の貢献をし、今回の専門家会議で漸く標準的な試験の基本的な内容が合意を得るに至った。標準的な組合せのもう一つの争点は、標準的な組合せが不適当な例外事象をどれだけ記載するかであった。特に、ユニークな化学構造を持つ化合物を含めるべきであることがFDAから要請されたが、その定義が不明確であることで論議が紛糾し、この半年間結論が先送りされてきたが、今

回の会議で最小限の記載にすることで合意した。これらの結果を踏まえて、S2B標準的な試験の組合せについてStep-4の署名が行われ、最終合意に達した。また、ICH-4の本会議の Technical Workshop ではMLA国際共同研究の成果を発表した。

会議名：1997 Fall Meeting of the Genetic Toxicology Association

出席者：変異遺伝部 祖父尼俊雄

開催場所、時期：John M. Clayton Hall Conference Center, University of Delaware, Newark, Delaware, USA, 1997年10月30日

参加者内訳、人数：講演者であるアメリカFDAおよびEPAの4名、アメリカOECD代表、カナダ厚生省、ドイツ連邦政府医薬品医療機器研究所および出席者の8名に加えて、およそ130名の東部アメリカの遺伝毒性関連研究者

会議内容：“Finalized ICH and OECD Guidelines: What do we do now?”というタイトルで、午前中はICHガイドラインについて、GTA Chairman の B. Myhr, L. Mueller (Federal Inst. Drugs & Med. Devices, Germany), L. Schechtman (U.S. FDA/CVM)が報告をし、祖父尼はマウスリンフォーマ試験の共同研究の成果とそれがいかに標準的組合せの決定に影響したかの経緯を説明した。次いで、M. Moore (U.S. EPA)がマウスリンフォーマ試験の問題点を述べ、最後に、パネルディスカッションが行われた。午後にはOECDガイドラインについて、M. Cimino (U.S. EPA), L. Kier (U.S. Official OECD Representative), D. Blakey (Health Canada), A. Bigger (U.S. FDA/CDER)がそれぞれ報告を行い、最後に午前と同様にパネルディスカッションが行われた。基本的な問題としては、ICHとOECDガイドラインの間にみられる差異について医薬品と一般化学物質での対応が異なってもよいのかどうかが論議された。また、細部の技術的な問題点については日欧米でそれぞれ解釈に微妙な違いのあることも明らかになり、今後さらなる論議の必要性を認識した。

会議名：US-Japan Panel on Environmental Mutagenesis and Carcinogenesis

出席者：変異遺伝部 祖父尼俊雄

開催時期、場所：Maui Prince Hotel, Maui, Hawaii, USA, 1998年2月14日～15日

参加者内訳、人数：米国および日本の環境変異原及び癌原性研究に関する専門家がそれぞれ7名ずつの合計14名

会議内容：最初にNIEHS所長のK. Oldenが開会の挨拶を行い、発がん性・変異原性物質の新しい検出法のテーマで、伊東信行(名市大), C. Afshari (NIEHS), A. Grollman (State Univ. New York)が発表を行い、続いて祖父尼がλcIIセレクション法を用いたトランスジェニックマウス突然変異検出法について報告した。引き続き、若林敬二(国立がんセンター・研), 押村光雄(鳥取大), 津田洋幸(国立がんセンター・研), R. Tennant (NIEHS)がそれぞれ報告を行なった。2日目には外的・内的発がん要因の評価というテーマで、B. Henderson (USC/Norris Compre. Cancer Center), 寺田雅昭(国立がんセンター・研), J. Roberts (Vanderbilt Univ. School Med.), 葛西宏(九州産業医大), L. Marnett (Vanderbilt Univ. School Med.)がそれぞれ報告を行った。さらに、C. Barrett (NIEHS)からこれまでの報告を基に、transgenic model, environmental genome project (popu-

lation, genes), biomarkers of oxidative stress study, cDNA microarray technology の4テーマについて協力関係を深めることができが提案され、了承された。最後に、閉会の辞とし寺田より次年度の会合を日本で開催する予定であることが述べられた。

会議名：ダイオキシン類似物質のヒトおよび野生生物に対する毒性等価指数(TEF)の誘導に関する会議

出席者：毒性部 長谷川隆一

開催場所、時期：カロリンスカ研究所(ストックホルム, スウェーデン), 1997年6月15日~18日

参加者内訳、人数：ダイオキシンの専門家ならびに WHO ヨーロッパ事務局 25名

会議内容：ダイオキシン類のヒトに対する TEF の再評価、生態系に対する TEF の値を検討し、出来れば統一した TEF を決定することを目的とする会議である。最初はヒトの TEF のグループと生態系 TEF のグループに分かれて、それぞれの TEF の検討が行われた。1988年に設定されたダイオキシンおよびフラン類に対する TEF ならびに 1993年に提案された PCB 類に対する TEF を参考に、特にそれ以後に得られた新しいデータを中心に比較検討し、TEF を決定した。TEF 決定のために採用されたデータの優先順位は、亜慢性以上の in vivo 試験、それが不十分な場合に生化学的変化(肝の CYP あるいは酵素活性の誘導等)、急性毒性試験、in vitro 試験とされた。データがない場合で、TEF を決定する必要があると考えられた場合は構造活性相関の資料を参考とした。今回の主な変更は 1,2,3,7,8-PeCDD の TEF が 0.5 から 1.0 になったことである。全体会議において、統一 TEF を設定することについて、意見調整が行われたが、生態系のグループは全員が反対し、ヒト(哺乳動物)、魚類、鳥類それぞれ個別に TEF を決定された。本会議の結果は、Environmental Health Perspectives に発表される予定である。

会議名：OECD の第7回高生産量化学物質の安全性点検初期評価会議

出席者：総合評価研究室 中館正弘、毒性部 長谷川隆一

開催場所、時期：シドニー大学(シドニー、オーストラリア), 1998年3月25日~27日

参加者内訳、人数：日本10名(厚生省、環境庁、通産省、労働省)、その他 OECD 加盟各国代表 合計48名

会議内容：各国から提出された初期評価レポート(SIDS Assessment Report; SIAR)に基づき、合計14物質の初期評価が行われた。そのうち、6物質については本会議のコメントに基づいて修正し、最終報告書とすることになった。また、残る8物質については情報の追加、修正を行い、次回以降の本会議で再度評価することになった。日本の担当4物質(Dicyclopentadiene, p-tert-Butylphenol, (1-Methylallyl)benzene, Diphenyl cresyl phosphate)については、いずれも本会議のコメントに基づいて追加・修正を行なうことで、最終報告書とすることが了承された。第8回の初期評価会議は、1998年10月末にパリで開催される予定である。なお、その会議での審議物質の報告書案(SIAR)は7月末までに OECD に提出することとなった。

会議名：OECD 第6回高生産量化学物質安全性点検初期評価会議及び同ステアリング会議並びに第26回合同会合

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), 1998年2月9日~13日

ランス), 1997年6月9日~11日
参加者内訳、人数：日本、英国各8名、フランス7名、米国6名、オランダ4名、ドイツ、スペイン、イスラエル3名、オーストリア、フィンランド、ノルウェー各2名、オーストリア、ベルギー、カナダ、デンマーク、イタリア、韓国、チエコ、スウェーデン各1名、IPCS 1名、BIAC 2名、CEC 2名、OECD 事務局4名、合計65名

会議内容：今回新たに各国から提出された24物質の初期評価文書についての検討が行われた。ドイツ担当の1物質(Hexamethylene glycol)については初期評価を終了し、他の23物質については、他の国の情報や暴露情報を追加するなどして評価文書の改訂が必要とされた。また、以前の会議で改訂が必要とされた5物質についても再提出された文書をもとに検討され、いずれも文書を若干修正することとなった。さらに、改訂作業中の主に EU 担当の6物質についてもその進捗状況が説明された。今回、多くの物質が最終結論に至らなかった理由として暴露評価の困難さがあげられる。本初期評価では個々の物質について環境経由の暴露、職業暴露、消費者暴露の3つの観点から評価を行っているが、特に消費者暴露に関する情報の不足により最終評価が困難となっている。本会議においても、EU で開発された EUSES モデルや他のモデルの適用について検討が加えられた。Phase-7における担当物質については、我が国から16物質についてのリストを近々提案する旨を報告した。

今回、新たに検討された24物質は以下の通り：Dibutyl phthalate (84-74-2), 2-Propanol (67-63-0), N-Isopropyl-N-phenyl-p-phenylenediamine (101-72-4), Hexamethylene glycol (629-11-8), p-Dichlorobenzene (106-46-7), Citral (5392-40-5), Zinc, dithiophosphate bis (ethylhexyl) (4259-15-8), Zinc, dithiophosphate bis(iso-octyl) (28629-66-5), Ethyl acetoacetate (141-97-9), N-Nonylphenol, branched (84852-15-3), Nonylphenol, isomers (25154-52-3), Mesityl oxide (141-79-7), 4,4'-methylenebisaniline (101-77-9), 1-Octene (111-66-0), 1-Hexene (592-41-6), 1-Decene (872-05-9), 1-Dodecene (112-41-4), 1-Tetradecene (1120-36-1), 2-Butoxyethanol (111-76-2), Acetonitrile (75-05-8), Pigment Red No.53 (5160-02-1), Acetic anhydride (108-24-7), Methyl ethyl ketone (78-93-3), Propylene oxide (75-56-9), Trichloroacetic acid (76-03-9), 1-Chlorobutane (109-69-3), 4-Nitro-N-phenylaniline (836-30-6), Triethylenetetramine (112-24-3), diphenyl cresyl phosphate (26444-49-5)

なお、本会議終了後の合同会合の初日にステアリング会議が行われ、第6回初期評価会議の結果が承認され、暴露アセメント等今後の対応について協議した。また、第26回合同会合においては、農薬、試験法ガイドライン、化学物質の分類と表示の調和、既存化学物質のリスクアセメントとリスク管理、化学物質事故対策等について活動報告と討議が行われた。

会議名：OECD 第27回合同会合

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), 1998年2月9日~13日

参加者内訳、人数：加盟各国23カ国、IPCS, IRPTC, EC, BIAC 等合計120名

会議内容：パリの OECD 本部で開催された第27回 OECDCD 環境委員会及び化学品グループの合同会合に出

席し、主に以下の項目についての討議に加わった。

1. 農薬フォーラムにおいては、農薬に関する国際機関の再登録、試験法等の調和に関する進捗状況の報告と1998年の活動計画について討議を行った。
2. 化学物質事故対策についての活動経過の報告と今後の計画について討議を行い、今後、IPCS や ILO との連携が強調された。
3. Mutual acceptance of data に関して、事務局より WTO 及び ISO 基準について説明があり、相互に類似点も多いことから協調して作業を進めたい旨の説明があった。これに関しては今後慎重な検討が必要と思われる。
4. 試験法ガイドラインについては、現在までの試験法の開発と改訂に関する説明があり、その他代替試験法のバリデーションの問題、OECD TG401の削除や human volunteer を用いる試験法の開発等についての討議を行った。
5. 既存化学物質の安全対策については、Steering 会議の結果が説明され、高生産量の定義変更に伴う評価優先物質リストの作成の必要性が強調された。また、データの豊富な物質についての IPCS との協調についても討議された。
6. リスクマネジメント諮問委員会の検討結果として、SIDS で評価した物質をリスク管理計画に組むことが提案され、リスクアセスメントの成果を効率よく利用するものとして指示する発言が多く、今後具体策を検討することとなった。
7. バイオテクノロジーについて活動状況等が報告され、基本的には遺伝子改変問題が環境に及ぼす影響を検討することとしており、科学技術政策委員会との調整が重要とされた。
8. リスクコミュニケーションについて、化学物質情報の公表手段として OECD/UNEP 共同のプロジェクト（インターネットの利用）の説明があった。化学物質安全管理の分野では情報提供が重要であり、OECD がこの分野について積極的に行うこととなつた。

会議名：OECD 高生産量化学物質安全性点検ステアリング会議

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), 1998年2月10日

参加者内訳、人数：日本5名、カナダ、米国、フランス、英国、スウェーデン、イス、EU各2名、オーストラリア、オーストリア、チェコ、デンマーク、フィンランド、ドイツ、イタリア、ノルウェー、オランダ各1名、IPCS 2名、BIAC 4名、OECD事務局3名合計37名

会議内容：パリのOECD本部で開催された高生産量化学物質安全性点検ステアリング会議に出席し、主に以下の項目についての討議に加わった。

1. EXICHEM データベースの更新について討議された。
2. 第7回 SIDS 初期評価会議(SIAM-7)に関する対応策が協議された。
3. Phase-7に関する担当物質の選定について討議され、我が国からは16物質の分担物質リスト(案)を提出した。
4. 初期評価文書の早期完成と出版について討議され、SIDS プロファイルのインターネットによる提供が決

定された。また、SIDS 計画の進捗状況を知らせるため、SIDS Table をインターネットで提供することとなった。

5. 評価するためのデータが不足している物質の試験実施と評価については、高生産量の定義変更に伴い、前回の会議で日本は Working List 作成の必要性を提案し、さらに今回、1997年 HPV リストを基に提案されたデータ不足の優先物質リストを日本から提案した。今後、米国と EU が協力して優先物質リストの作成作業を継続し、5月に開催予定の拡大ステアリング会合で再び検討することとなった。
6. クリアリングハウス活動については、日本から4-Chloro-m-cresol 及び2-Mercaptobenzothiazole の最終報告書を提出し、承認された。
7. 本会議の Chairman が、米国の Mr. Charlie Auer から英国の Mr. Roger Tregunno に次回から交代することとなった。

会議名：医療機器国際整合性会議のスタディグループ1 (GHTF/SG1)

出席者：審査第二部 木下勝美

開催場所、時期：①ブリュッセル(ベルギー), 1997年9月21日～9月27日, ②ブリュッセル(ベルギー), 1997年11月30日～12月4日

参加内訳、人数：日、米、欧、加の医療機器規制当局及び医療機器産業界代表者(約20名)

会議内容：GHTF(Global Harmonization Task Force) は、医療機器の規制に関する国際整合性を図ることを目的として、EC の主唱により1992年に設立された国際会議である。構成メンバーは、日、米、欧、加、豪の医療機器規制当局及び医療機器産業界代表者であり、全体会合の下に4つのスタディグループ(SG) が組織されている。各 SG の整合化作業の分担は、SG1が医療機器の承認審査システム、SG2が医療機器の市販後安全対策、SG3が医療機器の GMP 及びその運用、SG4が医療機器の GMP 査察、となっている。

現在、SG1では①医療機器の安全性、有効性評価のための要求事項、②(リスクの程度に応じた) 医療機器のクラス分類、③(要求事項に対する適合性評価のため) テクニカルファイル、に関する調査、検討を進めており、今回の2回の会議では、これらについての各極の状況報告、共通事項の洗い出し、ガイダンス案の作成検討等が行われた。

会議名：ICH CTD 有効性(臨床) 分野専門家会議

出席者：審査第二部 苗村光廣

審査管理課 成川衛

医薬品機構 佐々木弥生

開催場所、時期：タイソンズコーナー(米国), 1998年2月2日～6日

参加者内訳、人数：日米欧三極の臨床分野の薬事規制当局及び製薬団体関係者20名

会議内容：日本、米国及び欧州における医薬品の承認申請資料の構成・内容、審査時のそれらの使われ方等について各極から説明、質疑等がなされ、三極それぞれの事情について理解がなされた。

有効性(臨床) 分野については、個々の臨床試験のレポート(総括報告書)に関するガイドライン(ICH Topic E3)が既に合意され、公表されていることから、本トピックのハーモナイズの対象は、申請資料における個々のレポートの並べ方(Table of content) 及び臨床試験データのまとめ資料(日本では「資料概要」の臨床部分) とすることとし、

後者については、当面、特に複数の臨床試験の横断的な評価・まとめの部分(有効性・安全性のまとめ)に焦点を絞って作業を進めることとなった。

会議の後半には、臨床試験データのまとめ資料に記載すべき内容や使われる各種の表の様式等について各極から案を出し合う作業が開始され、今後、各極で用いられている実例等を基にさらに案を出し、それらを取捨選択・改良して、ガイドライン化していくこととされている。

会議名: ICH-CTD 安全性関連会議

出席者: 審査第一部 高田幸一、仲庭裕司
医薬品機構 門馬純子

開催場所、時期: タイソンズコーナー(米国), 1998年2月2日~6日

参加者内訳、人数: 日米欧三極の安全性分野の薬事規制当局及び製薬団体関係者21名

会議内容: 3極の資料概要の相違点を認識するために、それらを比較した資料で説明し、共通点及び不一致点を再確認し、討議の土台作りを行った。今後の作業の目次となるContentの検討を行ったが、大きな問題点はみられなかった。毒性試験について、Tableのレベル〔総括表(レベルA)、中間表(レベルB)及び詳細な表(レベルC)〕の枠組みを、日本版を例示し検討した結果、細部を除いて一定の合意を得た。薬理に関してはケースバイケースを基本として申請者の責任でプレゼンテーションして良いことを合意した。薬理、薬物動態の検討事項を確認し、レベルD表の細部について検討した。合意内容: 1) 試験項目の記載順序は薬理、薬物動態、毒性試験の順に項目別に細分化。2) 薬理、薬物動態、毒性試験毎に共通したものとして実施試験一覧表及び要約を作成する。3) 毒性試験に関しては試験の内容により記載事項の詳細度の重み付けを行った。4) 薬理、薬物動態試験については記載の重複を避け簡潔に書けるよう柔軟性を持たせた形にする。作業予定: 1) 薬理、薬物動態、毒性試験をEU、日本、USAがそれぞれ分担してドラフトを作成し、5月中旬までにラポーターへ提出。2) ラポーターは各ドラフトを編集して、EWGメンバーに5月末までに送付する。3) ラポーターは6月中に

ドラフトにたいするコメントを徴収する。4) 得られたコメントを参照し、ドラフトを再編集し、各EWGメンバーに配付し9月の成田会議に備える。

会議名: ICH-E5 Ethnic Factors in the Acceptability of Foreign Clinical Data

出席者: 医薬品機構 内藤周幸
審査第一部 井上肇

その他、日・米・EUの医薬品審査・規制当局および製薬企業団体関係者合計15名

開催場所、時期: Washington D.C., 1998年2月2日~6日

会議内容: 新薬承認のための申請資料として外国臨床試験データを受け入れるために考慮すべき人種的要因についての指針を作成することを目的とした会議である。

会議は、臨床試験を各地域(日・米・EU)間で広範囲に重複して実施することは、新薬の導入を不必要に遅らせ、医薬品開発における資源の無駄も大きいので、申請を受け入れる国や地域の規制要件を満たすのであれば、外国臨床試験データは受け入れられることが望ましいとの基本認識に立っている。その上で、外国臨床試験データを受け入れる際に問題となり得る人種的要因(酵素の遺伝多型や体格といった内因性要因と、医療習慣、食餌、臨床試験の計画と実施の方法といった外因性の要因の双方を含む)の影響をどのように評価するかを議論した。

その結果、ブリッジング試験(外国臨床試験データを申請先地域に人種的要因を配慮した上で外挿し得ることを示すために、申請先地域において薬力学、有効性、安全性、用法・用量等に関して実施する補足的な臨床試験)という概念を導入し、ブリッジング試験を必要に応じて実施することで同意した。合わせてどのような場合にどの程度のブリッジング試験が必要と考えられるかについて一般的な指針を示した上で、Step IV(ICHガイドライン最終合意)に達した。

この会議での合意に基づく、Step V(合意内容の国内規制取り入れ、具体的には局長通知改訂と課長通知発出)は平成10年夏頃に予定している。

所員の研究、試験および検査に関する発表を主とする「衛研例会」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9年度に行つた演題は次のとおりである。

第402回（平成9年4月8日）

1. 尿素系農薬および分解・代謝産物のラット肝細胞における影響

薬理部 篠内桃子
宮島敦子

2. OBCAM（オピオイド結合性細胞接着分子）リコンビナント蛋白の調整および抗OBCAM抗体の性質

機能生化学部 中島治
蜂須賀暁子

3. 大腸菌 *dinP* 遺伝子の発現によるフレームシフト型自然突然変異の増加

金秀良

第403回（平成9年5月13日）

1. トランスジェニックマウス(Big Blue[®])を用いた MeIQx の発がん機構の解析

変異遺伝部 鈴木孝昌

2. MucAB, mutagenesis proteins

変異遺伝部 Petr Gruz

3. 遺伝子治療用ハイブリッドベクターFusogenic Liposome の標的細胞特異性について

生物薬品部 渡部明子

4. 初代培養ラット海馬細胞で観察されたカルシウムウェーブの解析

生物薬品部 木内猛仁
川西徹

5. ジフェニルエーテル系農薬のイヌ肝チトクローム P450 代謝酵素系における影響について

薬理部 宮島敦子
篠内桃子

6. Nitrofrazone のラットにおける精巣毒性の検討

病理部 正田俊之
高田幸一

第404回（平成9年6月10日）

1. フモニシンのポストカラム蛍光誘導体化 HPLC 改良分析法および LC-MS による確認分析法について

食品部 稲山浩

2. モロヘイヤ中の強心作用成分の分析について

食品部 近藤一成

3. 蛍光体支援糖質電気泳動(FACE)による糖鎖含有タ

ンパク質の糖鎖解析への応用

生物薬品部 森本和滋

4. ヒト好中球による活性酵素生成時における L-プラスチニンのリン酸化の状態

生物薬品部 押沢正

5. シスプラチン-DNA 付加体のヒトミスマッチ修復による認識

変異遺伝部 山田雅巳

6. 腎発がん剤臭素酸カリウムおよびパラジクロロベンゼン13週間投与によるラット腎病変の比較

毒性部 梅村隆志

第405回（平成9年7月8日）

1. 乳製品中のアルギン酸の定量分析法について

食品添加物部 川崎洋子

2. 非イオン性界面活性剤のポリオキシエチレン鎖のメチルパラベン、サリチル酸の皮膚透過あるいは赤血球の溶血性におよぼす影響

環境衛生化学部 徳永裕司

3. フェナジンN-オキシドによるDNA切断活性機構の解析

有機化学部 福原潔

4. C₆₀ のDNA切断活性

有機化学部 山越葉子

第406回（平成9年9月9日）

1. コウジ酸のラットにおける甲状腺腫瘍発生メカニズム

病理部 小野寺博志

2. トランスジェニックマウスにおけるλC IIセレクションを利用した突然変異検出

変異遺伝部 王雪

3. 遺伝子突然変異検出用トランスジェニックマウス *gpt* Δの開発：エチルニトロソ尿素によって誘発される突然変異スペクトラム

変異遺伝部 増村健一
能美健彦

第407回（平成9年10月14日）

1. d-Borneolの立体構造式について

生薬部 江崎勝司

2. 3次元培養細胞(Skin²TM)に対するUVAの影響

環境衛生化学部 内野正

3. BOP投与ハムスターにおけるフェネチルイソチオシアネートの発癌抑制機序

病理部 笠原健一郎
西川秋佳

第408回 (平成9年11月11日)

1. パルス磁場勾配NMRによるハイドロゲル中のインスリンの分子拡散の測定と放出速度との関係

薬 品 部 阿 曽 幸 男

2. 生あん中のシアン化合物の分析

食 品 部 山 口 晃 子
村 山 三 徳

3. NOドナーを目的としたN-ニトロソ化合物の合成

有 機 化 学 部 丹 野 雅 幸
末 吉 祥 子

4. DENと喫煙曝露で誘発されるハムスターの上気道腫瘍に対する β -カロテンの抑制作用

病 理 部 古 川 文 夫

第409回 (平成10年1月13日)

1. ラットにおけるトリプチルスズの着床阻害作用(脱落膜反応に与える影響)

大阪支所生物薬品部 原 園 景

2. 天然添加物ウコン色素の成分分析と光安定性

食 品 添 加 物 部 佐々木 史 歩

3. 【特別演題】

エンドトキシン試験法について

大 阪 支 所 長 小 川 義 之

第1回 特別例会 (平成10年2月17日)

1. 内分泌障害性化学物質を取り巻く諸問題

1. 関連ビデオ放映 NHK, BBC

2. 講演

生体系への影響:巻き貝に関する研究を中心に

国立環境研究所 堀 口 敏 広

3. 討論

第2回 特別例会 (平成10年3月3日)

講演

内分泌障害性化学物質を取り巻く諸問題

1. 内分泌障害性化学物質の科学的基盤

国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター
毒性部長

井 上 達

2. 化学物質の内分泌搅乱問題—その動向

(1) 化学工業会の一般動向

住友化学 庄 野 文 章

(2) 生物検定法を中心に

住友化学 松 尾 昌 季

3. 生物試験法について

日本獣医畜産大学 鈴 木 勝 士

4. 行政から

厚生省生活化学安全対策室 内 田 康 策

5. 討論

支 所 例 会

第154回（平成9年6月24日）

1. 脂質エマルションの表面膜構造と血漿アポリポ蛋白質の結合性
薬品試験部 齋藤博幸

2. ラットにおけるトリブチルスズの投与日による発生毒性の変化
生物試験部 江馬眞

3. トリブチルスズの妊娠初期投与によるラット母体及び胚に対する影響
生物試験部 原園景

4. 化学物質の精子毒性
生物試験部 川島邦夫

第155回（平成9年9月30日）

1. ヒアルロン酸架橋ゲルの医薬品による特異的収縮挙動とその徐放効果
薬品試験部 四方田千佳子

2. リボフラビン5'-リン酸エステルナトリウムの光照射によるヒドロキシルラジカルの生成
食品試験部 石光進

3. 食用タール色素の実態と諸外国との比較
食品試験部 三島郁子

4. 大阪支所ネットワークの概要
生物試験部 天野博夫

第156回（平成9年10月28日）

1. 培養ラットシュワン細胞アルドース還元酵素mRNAの発現量に及ぼす細胞環境の影響
薬品試験部 前川京子

2. 超臨界流体抽出(SFE)-HPLCによる穀類中残留農薬の一斉分析法
食品試験部 吉井公彦

3. マクロファージを用いた発熱性物質 *in vitro* バイオアッセイシステムの開発
生物試験部 中川ゆかり

第157回（平成9年12月24日）

1. 光分解性医薬品によるヒアルロン酸の分子量低下
薬品試験部 宮崎玉樹

2. ベロ毒素中毒症治療薬の開発動向
薬品試験部 谷本剛

3. 静脈内投与時におけるラットの7種希土類元素の塩化物の毒性発現の差について
食品試験部 中村優美子

4. ヒトメラノーマ細胞に対するインターロイキン1の増殖抑制作用の解析（第2報）
生物試験部 村井敏美

第158回（平成10年1月27日）

1. エンドトキシン試験法について
支所長 小川義之

2. 日局「果糖」の赤外吸収スペクトルについて
薬品試験部 岡田敏史

3. 遺伝子組み替え食品について
食品試験部 柴田正

4. フィリピン農薬モニタリング体制改善計画に参加して
食品試験部 外海泰秀

5. 多価不飽和脂肪酸(PUFA)中の脂肪族アルデヒドの分析
食品試験部 辻澄子

特別講演会

平成9年5月29日

Apc 遺伝子ノックアウトマウスの作成と腸管ポリープ
形成機構の研究：癌治療薬開発への応用

東京大学薬学部教授 武藤 誠

平成9年6月2日

Mechanisms and screening strategies for environmental
endocrine disruptors

EPA, USA Dr. William R. Kelce

平成9年6月6日

昆虫の生体防御機構から創薬を考える

東京大学薬学部教授 名取 俊二

平成9年6月25日

ストレス・免疫・老化そしてがん

東京医科歯科大学教授 広川 勝皇

平成9年8月7日

毒性試験の統計的データ解析における注意点

東京理科大学教授 吉村 功

平成9年9月16日

Inter-individual variation in drugmetabolizing enzymes:
cytochrome P450 and the glutathione-S-transferases

TNO, the Netherlands Dr. Peter J. van Bladeren

平成9年9月22日

シトクローム P450 における特異なヘム配位子構造の意
義：モデルからのアプローチ

東京大学薬学部助教授 樋口 恒彦

平成9年10月7日

Cell-cell communication as a biomarker for the under-
standing of genetic and environmental causes of human
diseases

Michigan, USA Dr. E. Trosko

平成9年10月20日

DNA サンプリングについて配慮すべきこと

京都大学教授 武部 啓

平成9年11月25日

生体の酸化ストレス応答における食細胞の役割

東京薬科大学助教授 別府 正敏

平成9年12月5日

タンパク質への各種標識体の導入とその分析

九州大学教授 財津 潔

平成9年12月18日

微小管機能制御物質に関する研究

元東京大学教授 岩崎 成夫

平成10年1月20日

タンパク質固定化充填剤による光学分割とその光学分割
機構

武庫川大学教授 萩中 淳

支所特別講演会

平成9年12月5日

タンパク質への各種標識体の導入とその分析

九州大学薬学部教授 財津 潔

平成10年1月20日

タンパク質固定化充填剤による光学分割とその光学分割

機構

武庫川女子大学薬学部教授 萩中 淳

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、支生）
Studies on establishment of early and sensitive toxicologic biomarkers in risk assessment
2. 生物システムに作用する化学物質の機能と三次元構造相関の解明（生薬、有機、食品、支食、衛微、環境）
The relationship between three dimensional structure and functional activity observed in the chemical compounds on biological system

国立機関原子力試験研究費（科学技術庁）

1. 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
2. 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
3. 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
4. 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
5. 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
6. 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 asialo-glycoprotein
7. 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
8. 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 drug release from biodegradable drug delivery systems
9. 放射線照射を受けた医用材料の表面解析と細胞機能影響評価に関する研究（療品）
Studies on the material surface analysis and cellular function on the gamma-ray sterilized biomaterials
10. 放射線及び化学物質による細胞障害機構のリスクアセスメント系の開発「遺伝子改変動物におけるテロメア及びテロメアーゼの変化を指標にした研究」（毒性）
Development of a model system to evaluate bio-pharmaceuticals using a parameter of hemopoietic stem cell kinetics in transgenic mouse carrying various cytokine receptors

科学技術振興調整費（科学技術庁）

1. 生体制御物質の分子設計と精密合成のための基盤技術開発に関する研究（有機、情報）
Research and development of basic technology for molecular design and efficient synthesis of bio regulators
2. 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

3. 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
4. 清浄で安心な生活環境の創造：環境低負荷型浄化技術の開発と応用（環境）
地下水中のヒ素、ホウ素等に関する物理化学的特性に関する研究
Physical and chemical characteristic of arsenic and boron in ground water
5. 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）
Studies on molecular biology of chemically modified biopolymer and biological defects, and their causing mechanisms
6. アレルギー疾患に係わる環境要因の解明とその治療薬の基礎的研究（環境、薬品、生薬、情報、筑植）
Allergy associated with environmental factor
7. 食品中化学物質の効率的分離手法の開発とその応用に関する研究（支食、食品、食添）
8. 有害ヒ素の健康影響評価と地下水低減化技術開発に関する共同研究（環境）
Effects assessment and management of arsenic in groundwater
9. 漢方薬の起源植物の解明とその品質に関する研究（生薬）
Taxonomic study and quality control on medicinal plants used Kampo medicines
10. 國際的先進材料の実用化を促進するための基盤構築に関する研究（療品）
摩耗粉の生体適合性評価に関する研究
Studies on the method evaluating for the friction-resistian and biocompatible materials.
11. 化学物質安全性特性予測基盤の確立に関する研究（毒性）
Study on Safety Prediction of Chemical Substances
12. 生体内化学物質の挙動解明
Study on the in vivo behabior of Chemical Substances
13. 研究資材データベースの共有化・効率化に関する研究（変異）
生物系研究資材データベース構築に関する研究
Study on establishing biological database for sharing and efficient operations.
14. 研究資源の効率化に関する研究（変異）
Construction of databases for biological research resources.
15. ダイオキシン類汚染に関する緊急研究（食品）
食品中に含まれるダイオキシン類に関する研究
16. QOLを指向した生体融和材料の新創出に関する研究（療品）
New development of biointegration materials for high quality of life.

国立機関公害防止等試験研究費（環境庁）

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（有機、代謝）
Chemical and biochemical studies on toxicity of nitrogen oxides as environmental pollutants using nitric oxide releasing compounds.

2. 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 assessment of chlorinated dibenzop-dioxins and their presubstances in life environment.
 3. 水質汚染モニタリングのための遺伝毒性を指標としたバイオセンサー系の開発（変異）
Development of a genotoxic-biosensor model for monitoring of water pollution.
 4. 有害金属の形態分析技術の開発と地下水汚染機構解明に関する研究（環境）
Chemical form and contamination mechanism of toxic metals in groundwater.
 5. 遺伝子工学技術を用いた環境汚染物質の健康影響評価方法の開発・確立に関する研究（環境）
The establishment of the methods to evaluate the influence for human health by gene engineering.
- 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
- 未来環境創造型基礎研究推進制度（環境庁）**
1. 化学物質による生物・環境負荷の総合評価手法の開発（環境）
Total evaluation of chemicals on load against the creature and the environment
- 厚生科学研究費補助金（厚生省）**
1. 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
 2. 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 on evaluation of effects of chemicals using molecular biological techniques in expression cell systems
 3. 薬用植物寄生菌及び薬用菌類の資源化に関する研究（生薬）
Studies on the effective application of medicinal fungi and parasitic fungi on medicinal plants
 4. 残留農薬分析の GLP 対応に関わるクロマトグラフィー手法の研究（支食）
Development of standard protocol for GLP in chromatographic analysis of residual pesticides
 5. ラット肝細胞による消毒副生成物ハロアセトン類の毒性評価とその構造活性相関に関する研究（環境）
Structure-activity relationship for the cytotoxicity of haloacetones in cultured rat hepatocytes.
 6. 高分子ポリマー型フラーレン誘導体の合成および殺菌活性に関する研究（有機）
Synthesis of antibacterial fullerene polymer
 7. 薬用植物の遺伝的・形質的多様性の極長期保存技術構築に関する研究（筑植）
Development of the long-term storage technique for the conservation of medicinal plant germplasm and biodiversity
 8. 薬物中毒、薬害、農薬中毒等の予防と原因解明のための毛髪診断研究（薬品）
Studies on hair diagnosis for prevention of medicinal poisoning, drug misuse and agricultural chemicals hazards, and elucidation of the causes
 9. ケシ及び関連植物のモレキュラーレベルでの解析（筑植）

- Molecular analysis of opium poppy and other Papaver species
10. フリーラジカル生成の多価不飽和脂肪酸及び食用着色料並びにラジカル捕捉の酸化防止剤の安全性に関する研究（支食、衛微、機能）
Studies on the safety of polyunsaturated fatty acids and food colors which generate free radicals and antioxidants as radical scavenger
11. 高度先端医療（人工血液）研究事業の企画と評価に関する研究（所長）
12. 厚生科学の基礎技術開発に係る政策に関する研究（所長）
13. 天然由来医用材料の生物学的安全性評価に関する研究（療品、支生）
Evaluation on the biological safety of medical materials originating from natural products
14. 新開発食品素材の安全性評価に関する研究（支食）
Study on the valuation of safety about newly developed foodstuffs
15. 輸入食品の分析・試験法等に関する調査研究（支食、食添、食安協）
Investigation and research for analysis or monitoring method of imported foods
16. 一般用医薬品の品質試験方法に関する研究（薬品、支薬）
Studies on the methods of quality test for generic drugs
17. 農産物の食中毒菌による汚染機序等に関する研究（衛微）
Studies on contamination mechanism of pathogenic bacteria for farm products
18. 調理施設と食品製造業における衛生管理に関する研究（衛微）
Studies on hygiene management for food preparation facilities and food manufacturers
19. 天然添加物摂取量調査のための成分分析（食添）
Pigment analysis of natural food colors for the evaluation of daily intake
20. 食品添加物等の規格基準の国際的整合性に関する調査（食添）
International harmonization of standards and specifications on food additives
21. 器具・容器包装の健康影響に関する研究（食添）
Studies on safety evaluation of apparatus and container-package in contact with food
22. 感染性廃棄物中間処理における新技術の有効性および安全性に関する評価研究（療品）
Evaluation of alternative technologies of medical waste treatment
23. シリコーンオイルを含有する家庭用エアゾル製品に関する研究（療品）
Study on household aerosol products containing silicon oils
24. 遺伝子治療薬の安全性確保基盤技術に関する研究（生物）
Studies on the development of new fundamental technologies to ensure the safety of gene therapy products
25. トランスジェニック動物を応用して製造した医薬品の安全性評価に関する研究（生物）
Studies on safety evaluation of pharmaceuticals de-

- rived from transgenic animals
- 科学研究費補助金（文部省）**
- 突然変異検出系を導入した胚幹細胞による薬剤性初期発生傷害の短期検知システム（毒性）
Short-term detection system adverse effect of pharmaceutical drugs by means of point-mutation assay on the embryonic stem cell after in vitro exposure
 - P53欠失マウスにおける造血因子およびTGF β を介したシグナル伝達（毒性）
Signal transduction through hemopoietic factors and TGF β in the p53-deficient mouse
 - 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（薬理）
Neuropharmacological study for the role of ATP receptors in nociception and primary afferent transmission
 - リピドAのアンタゴニスト構造を決定する構造因子の証明と、その抑制機構の解明（衛微）
Elucidation of the chemical factor controlling the antagonistic structure of the lipid A, and mechanism of its suppressive activity
 - 薬剤評価系モデルとしてのヒト型造血因子受容体導入マウスとその造血幹細胞動態制御（毒性）
Experimental trial to regulate hemopoiesis in transgenic mice carrying human cytokine receptor gene as a model for drug safety and evaluation
 - トランジジェニックマウスの化学発癌における増強作用機序解明に関する研究（病理）
Mechanistic studies on the enhancement of chemical carcinogenesis in transgenic mice.
 - 細胞内チロシンリン酸化のリアルタイム画像化法の開発（生物）
Development of realtime-imaging method of tyrosine phosphorylation in cells.
 - 分子生物学的手法を用いたATP受容体のチャネルの構造-機能相関の研究（薬理）
 - 好塩基球細胞の情報伝達におけるエクトキナーゼの役割の解明（機能）
The study for the role of ecto-kinases on signal transduction in basophils
 - 化学計算による環境化学物質の毒性評価の新手法の開発（有機）
Application of a computer-based molecular calculation to the evaluation of the toxicity of environmental pollutants
 - BrdU標識細胞の近紫外線照射法による新しい個体内造血幹細胞動態の解析法（毒性）
Newly developed in vivo assay system for kinetics on homopoietic stem cells using BrdU labeled cells followed by an elimination using UVA irradiation
 - DNA二重鎖構造巻き戻し機能を持つDNA切断化合物の合成（有機）
Synthesis of antitumor agents that induce unwinding and cleavage of duplex DNA.
 - 骨分化促進機能を有するC₆₀誘導体の合成（有機）
Synthesis of C₆₀ derivative with chondrogenesis promoting activity
 - CGH法および染色体ペインティング法による培養細胞株の染色体再配列の解析（変異）
Studies on chromosomal rearrangements in cell lines by comparative genomic hybridization and whole chromosome painting.
- がん研究助成金（厚生省）**
- 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
 - 動物による発がん性評価のための新手法の確立とその意義に関する研究（センター長）
Studies on establishment of new methods for evaluation of carcinogenicity studies using animals and its implication
 - 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
 - 動物の遺伝的背景の特徴をいかした発がん機構の解析に関する研究（病理）
Analysis of the mechanisms carcinogenesis using the characteristics of genetic backgrounds of animals
 - 実験動物を用いた多段階発がんに関する研究（病理）
Studies on multi-stage carcinogenesis using experimental animals
 - 遺伝子改変マウスを用いた短期in vivo assay系の開発（毒性）
Use of biotechnology-derived experimental mouse to assay an in vivo carcinogenesis-their mechanism of action and the time-intervals after exposures
- そ の 他**
- 喫煙による発がんの抑制機構に関する研究（病理）
Mechanistic studies on preventive effects of cigarette smoke against experimental carcinogenesis
 - 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**
- 農薬衛生対策推進費・食品残留農薬告示分析法検討（食品、支食）
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の分析（食品）
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
 - 残留農薬簡易判定法開発検討費・残留農薬簡易判定法開発（食品、支食）
Study on rapid analytical method of pesticide residue
 - 食品添加物規格基準設定費・食品添加物規格基準及び試験法の設定、改良（食添、支食）
Establishment and improvement of standards, specifications and test methods of food additives
 - 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
7. 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等の規格基準の設定(食添, 支食)
Establishment of standards and specifications of food additives other than chemical synthetics
 8. 食品添加物安全性再評価費・慢性毒性試験(キシロース・硫酸アンモニウム・ペクチン分解物)(病理)
Chronic toxicity test of pectin-degradation products
 9. 食品添加物安全性再評価費・変異原性試験(Chromosome試験)(変異)
Mutagenicity of food additives
 10. 食品添加物安全性再評価費・90日間投与試験(クーロー色素・没食子酸)(毒性, 病理)
Ninety-day toxicity studies of natural color products (Chlorophyll, Phaffia color and Carob germ color)
 11. 食品添加物安全性再評価費・プロモーター試験(コウジ酸)(病理)
Mechanistic study on tumor promoting effects of kojic acids in rats
 12. 食品添加物有用性調査費(食添)
Efficiency of food additives
 13. 食品添加物マーケットバスケット調査費(食添)
Estimation of daily intake of food additives by market basket method.
 14. 容器包装等試験検査費(食添)
Studies on food package and container
 15. 畜水産食品中の残留有害物質に係るモニタリング検査(抗菌性物質・内寄生虫用剤)(食品)
Monitoring study on pesticide residue in livestock product and sea foods
 16. 畜水産食品中の残留有害物質に係る資料の収集・解釈及び毒性試験(チアンフェニコール)(病理)
Mechanistic studies on some veterinary drug residues in food of animal origin (nitrofrazone and thianphenicol)
 17. 食品中のダイオキシン類等汚染実態調査の実施(ダイオキシン類・コプラナー-PCB)(食品)
 18. 食品添加物安全性再評価費・外国使用農薬安全性調査試験費(毒性)(二次)
Mechanistic study on tumor promoting effects of piperonyl butoxide in rats Metabolic studies of Biphenyl in rats and mice
- 家庭用品等試験検査費(厚生省生活衛生局)**
1. 既存化学物質の安全性試験(生殖毒性試験)(支生)
Teratogenicity study of pectin digests in rats
 2. 家庭用品に使用される化学物質の試験検査・連続投与毒性試験(IPBC, OBPA, CPIP)(毒性)
Repeated-dose toxicity studies for a 28day-subacute administration of IPBC, OBPA, CPIP in rat
 3. 家庭用品に使用される化学物質の試験検査・細胞毒性試験(IPBC, GPIP, OBPA, BECDIP)(療品)
Cytotoxicity test of chemicals used in household products:IPBC, GPIP, OBPA, BECDIP
 4. 家庭用品に使用される化学物質の試験検査・吸入毒性試験(EGBE)(毒性)
Chronic inhalation toxicity study of bis(EGBE)ether
 5. 家庭用品に使用される化学物質の試験検査(TCC, IBTA/分析法設定)(療品)
Development of analytical methods for chemicals in household products: 3,4,4'-trichlorocarbanilide, iso-bornylthiocyanacetate
6. 第二種特定化学物質曝露量調査・人体暴露調査(トリフェニルスズ化合物, トリブチルスズ化合物, 四塩化炭素)(食品)
 7. 環境化学物質の暴露量測定の検討(情報)
Studies on exposure of environmental pollutants
 8. OECD試験法ガイドラインの導入に係わる試験検査精度(薬理)
Revision of Japanese testing methods associated with revised OECD test guideline
 9. 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
 10. 構造活性相関導入国際協力事業への協力(評価)
Studies on toxicity prediction systems using structure-activity relationship technique
 11. 化審法の電子化事業に基づく基礎的研究(評価)
The basic research for electronic registration system of Japanese chemical control law
 12. 室内空気環境汚染化学物質対策事業(環境)
Contamination chemicals in indoor air
 13. 室内空気の化学物質暴露等の調査計画(環境)
Exposure assessment of chemicals in indoor air
- 厚生省府費(厚生省薬務局)**
1. 鑑識用向精神薬の標準品製造(薬品)
Preparation of the reference standards of psychotropic drugs for the criminal identification
 2. 向精神薬分析法作成(薬品)
Analytical manuals for the detection of psychotropic drugs
 3. 医薬品迅速分析法作成のための研究(薬品, 支葉)
Studies on rapid examination method of drugs
- 厚生省医薬品等審査業務費(厚生省薬務局)**
1. 化粧品成分の分析法に関する研究(環境)
Study on the standards of cosmetics ingredients
 2. タール色素毒性試験法のための研究(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
- 厚生省あへん等取扱業務費**
1. けし直接抽出法に関する研究(筑植)
Study on direct extract method for opium alkaloid from papaver somniferum
- 診断用生物学的製剤等基準作成費(生物)(厚生省健康政策局委託事業)**
1. 細胞治療安全性有効性評価法研究
Studies on the evaluation of safety and efficacy of cells derived from transgenic animals for human cell therapy
- 環境庁環境保全調査費**
1. 国設自動車交通環境測定所における大気汚染測定調査(環境)
Survey of air pollutants at National Auto-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相転移と製剤機能（薬品）
Phase transition and functions pharmaceutical 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. 食細胞の活性酵素产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 to 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 photonics
26. 細胞接着制御関連因子に関する基礎的研究並びにその医薬品としての有用性確保のための研究（生物）
Studies on factors regulating cell adhesion and acquisition of their usefulness as protein drugs
27. 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
28. ニューロサーチ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 multipoint quantitative monitoring of intracellular free calciumion
29. 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
30. 薬用植物の人为的交雑種における遺伝子の発現機構に関する研究（筑植）
Studies on gene expression of medicinal plants raised by artificial crossing

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)
Introduction of mutator genes into transgenic mice
2. 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团エイズ医薬品開発推進事業

1. エイズ医薬品候補物質のスクリーニング研究(衛微)
Preliminary screening for antiviral AIDS drugs

ヒューマンサイエンス振興財團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-purinoceptors 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、支薬)
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. 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
8. 情報理論に基づいた分析値信頼性評価手法の研究(薬品、食品、支薬)
A method for evaluating the reliability of measurements on the basis of information theory

9. 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)
The development of imaging analysis method for tracing functional components in living cells.
10. ヒト正常細胞の不死化及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

医薬品副作用被害救済研究振興調査機構保健医療分野における基礎研究推進事業研究プロジェクト

1. コンピュータ分子設計法の高度化とその有効性の実験的(核内レセプタリガンドの設計による)検証(有機)

Evolution in computer drug design and experimental evaluation of the methods (in design of nuclear receptor ligands)

2. 自己化を獲得する機能組織の再生技術(療品)
Technology for regeneration of functional self tissues
3. 医薬品の安全性・有効性を評価するためのヒト型試験系の開発に資する基礎的研究(薬理)
ヒト型薬物代謝酵素遺伝子導入細胞系を用いた医薬品、農薬、一般化学物質の安全性、有効性の評価系の構築
Development of testing system for biological actions induced by therapeutic drugs and chemicals utilizing in vitro and in vivo expression of human xenobiotic metabolizing enzymes
ニコチン様アセチルコリン受容体を用いたヒト型機能タンパク質発現系に関する研究
Studies on human functional protein expression system using nicotinic acetylcholine receptors
ヒト型パソブレッシン受容体発現細胞の樹立および発現させた受容体の性質解明に関する研究
Studies on establishment of cells expressing human vasopressin receptors and clarification of properties of expressed receptors

同一性評価調査研究経費(医薬品機構)

1. 生物学的同等性の評価方法の研究:溶出試験及びヒト試験(薬品)
Evaluation of in vitro and in vivo bioequivalence of oral drug products.

部	名 略 称	
薬 品 部	薬品
生 物 薬 品 部	生物
生 草 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
藥 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

国家検定及び検査等の処理状況

Survey of the Results of National Tests

平成9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9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	件 (0) 0	件 (134) 0	件 (134) 0	△ 134	-
国家検査	件 (0) 0	件 (69) 227	件 (69) 227	158	328.99
製品検査	件 (0) 0	件 (581) 571	件 (581) 571	△ 10	98.28
特別審査試験	件 (93) 175	件 (0) 0	件 (93) 175	82	188.17
特別行政試験	件 (111) 151	件 (37) 6	件 (148) 157	9	106.08
一斉取締試験	件 (28) 5	件 (25) 38	件 (53) 43	△ 10	81.13
輸入食品検査	件 (22) 0	件 (0) 0	件 (22) 0	△ 22	-
合計	件 (254) 331	件 (846) 842	件 (1,100) 1,173	73	

()内数字は平成8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9年度国家検査品目別月別判定別件数
実績表 378頁
- 平成9年度製品検査月別判定別件数実績表 380頁
- 平成9年度特別審査試験月別件数実績表 380頁

- 平成9年度特別行政試験実績表 380頁
- 平成9年度一斉取締試験判定別件数
実績表 381頁

平成9年度国家検査品目別

			4月			5月			6月			7月			8月			9月		
区分			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	2	-	2	2	-	2	3	-	3	1	-	1	0	-	0	5	-	5	
内 訳	内容量 100mℓ未満	大阪	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	3	-	3
	内容量 100mℓ以上	大阪	2	-	2	2	-	2	3	-	3	1	-	1	0	-	0	2	-	2
無晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	
ヒトイソフェンインスリン 水性懸濁注射液	大阪	3	-	3	2	-	2	0	-	0	3	-	3	0	-	0	0	-	0	
ヒトインスリン注射液	大阪	5	-	5	1	-	1	0	-	0	2	-	2	1	-	1	1	-	1	
リングル液	大阪	0	-	0	1	-	1	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	
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	0	-	0	0	-	0	2	-	2	2	-	2	2	-	2	0	-	0	
生合成ヒトイソスリン亜鉛 水性懸濁注射液	大阪	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	1	-	1	1	-	1	
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	1	-	1	0	-	0	0	-	0	
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	1	-	1	1	-	1	1	-	1	1	-	1	
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	0	-	0	0	-	0	3	-	3	9	-	9	9	-	9	0	-	0	
生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	2	-	2	5	-	5	3	-	3	0	-	0	
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	3	-	3	1	-	1	2	-	2	
計		10	-	10	6	-	6	11	-	11	27	-	27	18	-	18	10	-	10	

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	18	-	18	10	-	10	0	-	0	2	-	2	4	-	4	47	-	47
0	-	0	18	-	18	9	-	9	0	-	0	1	-	1	2	-	2	33	-	33
0	-	0	0	-	0	1	-	1	0	-	0	1	-	1	2	-	2	14	-	14
0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0
3	-	3	1	-	1	1	-	1	2	-	2	0	-	0	0	-	0	15	-	15
2	-	2	1	-	1	1	-	1	1	-	1	1	-	1	0	-	0	16	-	16
0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	1	-	1	0	-	0	2	-	2
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
3	-	3	1	-	1	4	-	4	1	-	1	2	-	2	2	-	2	19	-	19
1	-	1	1	-	1	0	-	0	1	-	1	0	-	0	0	-	0	5	-	5
0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	1	-	1
0	-	0	0	-	0	1	-	1	1	-	1	0	-	0	0	-	0	6	-	6
11	-	11	4	-	4	14	1	15	5	-	5	12	-	12	5	-	5	72	1	73
6	-	6	3	-	3	5	-	5	3	-	3	3	-	3	2	-	2	32	-	32
2	-	2	1	-	1	1	-	1	0	-	0	1	-	1	0	-	0	11	-	11
28	-	28	30	-	30	37	1	38	14	-	14	22	-	22	13	-	13	226	1	227

平成9年度製品検査品目別

区分	4月			5月			6月			7月			8月			9月		
	合格	不合格	計															
大阪	47	-	47	65	-	65	53	-	53	53	-	53	53	-	53	21	-	21
計	47	-	47	65	-	65	53	-	53	53	-	53	53	-	53	21	-	21

平成9年度特別審査試験月別件数実績表

	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
薬品部	4	16	35	8	-	2	-	58	-	14	-	2	139
生物薬品部	2	-	-	8	-	4	-	-	1	8	-	-	23
衛生微生物部	2	1	9	-	-	-	-	1	-	-	-	-	13
	8	17	44	16	0	6	0	59	1	22	0	2	175

平成9年度特別行政試験実績表

局(部)	課(室)	品(項)目	件数	担当部
医薬安全局	監視指導課	輸液製剤の試験について	6	支所薬品試験部
	麻薬課	国産生あへんのモルヒネ含有率試験について	24	薬品部
		輸入生あへんのモルヒネ含有率試験について	97	薬品部
生活衛生局	食品化学課	魚類中の一酸化炭素含有量測定について	30	食品部
合 計			157	東京 151件 大阪 6件

月別判定別件数実績表

10月			11月			12月			1月			2月			3月			合計		
合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計
62	-	62	48	-	48	32	-	32	51	-	51	39	-	39	47	-	47	571	-	571
62	-	62	48	-	48	32	-	32	51	-	51	39	-	39	47	-	47	571	-	571

平成9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 大	京 阪	2 38	0 0	3 0	5 38
合	計	40	0	3	43

国立医薬品食品衛生研究所において製造し、交付している標準品は別表のとおりである。

日本薬局方標準品

(平成10年4月1日現在)

別表

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	10mg入り	1本 60,500 円	・アルプロスタジル、アルプロスタジル・アルファデクストロペプチドとそれらの製剤の定量法
2	インスリシン	20mg入り	1本 27,000	・インスリシン、インスリシン注射液、インスリシン亜鉛水性懸濁注射液、結晶性インスリシン亜鉛水性懸濁注射液、無晶性インスリシン亜鉛水性懸濁注射液、プロタミンインスリシン亜鉛水性懸濁注射液、インスリニン注射液の定量法、イソフエンインスリニン注射液の純度試験
3	ウロキナーゼ	1,000単位入り	1本 18,200	・ウロキナーゼおよびその製剤の定量法
4	エストリオール	100mg入り	1本 14,600	・エストリオールの確認試験および定量法
5	エテンザミド	300mg入り	1本 16,700	・エテンザミド、その製剤の確認試験および定量法
6	エピチオスタン	100mg入り	1本 13,100	・メピチオスタンの定量法
7	エルゴカルシフェロール	100mg入り	1本 18,500	・エルゴカルシフェロールの確認試験および定量法
8	塩化ペルベリン	30mg入り	1本 30,000	・オウレン、オウレン末、オウバク、オウバク末中の塩化ペルベリンの成分含量
9	エンドトキシン	2μg入り	1本 20,500	・注射用水のエンドトキシン試験
10	カリジノゲナーゼ	100単位入り	1本 15,300	・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
11	含糖ペプシン	5g入り	1本 22,200	・含糖ペプシンの定量法
12	ギトキシン	20mg入り	1本 16,900	・ギトキシン、同錠、同注射液の純度試験
13	グリチルリチン酸	30mg入り	1本 33,000	・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
14	血清性性腺刺激ホルモン	800単位入り	2本 37,700	・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
15	高分子量ウロキナーゼ	800単位入り	1本 22,800	・ウロキナーゼおよびその製剤の確認試験および定量法
16	コハク酸トコフェロール	150mg入り	1本 19,000	・コハク酸トコフェロールカルシウムの定量法
17	コレカルシフェロール	100mg入り	1本 18,200	・コレカルシフェロールの確認試験および定量法
18	酢酸クロルマジノン	100mg入り	1本 15,900	・酢酸クロルマジノンの確認試験および定量法
19	酢酸トコフェロール	150mg入り	1本 19,000	・酢酸トコフェロールの確認試験および定量法
20	酢酸ヒドロコルチゾン	100mg入り	1本 17,200	・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
21	ジキタリス	1g入り	3本 16,800	・ジキタリス、同末の定量法
22	ジギトキシン	50mg入り	1本 16,700	・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
23	シクランデラート	300mg入り	1本 16,300	・シクランデラートの定量法
24	ジクロルフェナミド	100mg入り	1本 14,700	・ジクロルフェナミド、同錠の定量法
25	ジゴキシン	50mg入り	1本 16,600	・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、同注射液の定量法射液の純度試験および定量法
26	ショ糖オクタ硫酸エステルカリウム	1g入り	1本 16,000	・スクラルファートの定量法
27	G-ストロファンチン	100mg入り	1本 17,300	・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
28	胎盤性性腺刺激ホルモン	1,000単位入り	1本 36,000	・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
29	デスラノシド	100mg入り	1本 17,400	・デスラノシドの純度試験および定量法、同注射液の確認試験および定量法
30	トコフェロール	150mg入り	1本 19,000	・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
31	トリアムシノロン	100mg入り	1本 17,000	・トリアムシノロンの確認試験および定量法
32	トリアムシノロンアセトニド	100mg入り	1本 17,000	・トリアムシノロンアセトニドの確認試験および定量法

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	トルナフタート	200mg入り 1本	16,600 円	・トルナフタートの確認試験および定量法。同液の定量法
34	トロンビン	500単位入り 2本	39,000	・トロンビンの定量法
35	脳下垂体後葉	20mg入り 2本	16,700	・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
36	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	8,200	・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
37	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	6,200	・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
38	ヒドロクロロチアジド	100mg入り 1本	16,200	・ヒドロクロロチアジドの確認試験および定量法。ブレドニゾロンの純度試験
39	プリミドン	300mg入り 1本	16,800	・プリミドン、その製剤の確認試験および定量法
40	フルオシノニド	100mg入り 1本	18,500	・フルオシノニドの確認試験および定量法
41	フルオシノロンアセトニド	50mg入り 1本	16,800	・フルオシノロンアセトニドの定量法
42	フルオロメトロン	100mg入り 1本	17,700	・フルオロメトロンおよびその製剤の定量法
43	プロピオン酸ベクロメタゾン	100mg入り 1本	17,800	・プロピオン酸ベクロメタゾンの確認試験および定量法
44	ヘパリンナトリウム	1,200単位 1本	30,400	・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
45	メシル酸ジヒドロエルゴトキシン	100mg入り 1本	33,000	・メシル酸ジヒドロエルゴトキシンの定量法
46	メストラノール	100mg入り 1本	15,400	・メストラノールの確認試験および定量法
47	メチルジゴキシン	50mg入り 1本	14,100	・メチルジゴキシンの確認試験および定量法
48	メトキサレン	200mg入り 1本	15,700	・メトキサレンの定量法
49	ラナトシドC	100mg入り 1本	16,900	・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
50	硫酸プロタミン	100mg入り 1本	30,000	・イソフェンインスリン水性懸濁注射液の純度試験
51	リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム	100mg入り 1本	15,500	・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
52	リン酸ベタメタゾンナトリウム	100mg入り 1本	16,100	・リン酸ベタメタゾンナトリウムの確認試験および定量法

国立医薬品食品衛生研究所標準品（医薬品等試験用標準品）局方外医薬品

(平成10年4月1日現在)

番号	標準品名	包装単位	価格	使用目的
1	インドシアニングリーン	300mg入り	1本 16,200 円	・インドシアニングリーンおよびその製剤の定量法
2	ウリナスタチン	3600単位入り	1本 33,000	・ウリナスタチンおよびその製剤の定量法
3	エストラジオール	50mg入り	1本 16,800	・エストラジオールおよびその製剤の純度試験
4	エストロン	50mg入り	1本 16,800	・エストロンおよびその製剤の確認試験及び定量法
5	エルカトニン	10単位入り	2本 40,500	・エルカトニンおよびその製剤の定量法
6	塩酸チアミン液	1mg入り	10本 10,000	・チアミンおよびその製剤の定量法
7	下垂体性性腺刺激ホルモン	20mg入り	1本 42,500	・下垂体性性腺刺激ホルモンのバイオアッセイ
8	吉草酸ジフルコルトロン	100mg入り	1本 16,000	・吉草酸ジフルコルトロンおよびその製剤の定量法
9	酢酸デキサメタゾン	100mg入り	1本 17,600	・酢酸デキサメタゾンおよびその製剤の定量法
10	酢酸レチノール	10,000単位入り 5カプセル	17,000	・酢酸レチノールおよびその製剤の定量法
11	セクレチン	100単位入り	1本 36,000	・セクレチンの定量法
12	センノシド	150mg入り	1本 24,000	・センノシドの定量
13	組織培養ウロキナーゼ	8,000単位入り	1本 22,600	・組織培養ウロキナーゼの定量法
14	低分子量ヘパリン	100mg入り	1本 30,500	・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
15	テオブロミン	100mg入り	1本 12,300	・ペントキシフィリンの純度試験
16	パルミチン酸レチノール	10,000単位入り 5カプセル	16,000	・パルミチン酸レチノールおよびその製剤の定量法
17	ヒアルロニダーゼ	500mg入り	1本 20,000	・注射用ヒアルロニダーゼの定量法
18	ヒトインスリン	50mg入り	1本 29,600	・ヒトインスリンおよびその製剤の定量法
19	ヒト成長ホルモン	4mg入り	1本 40,000	・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
20	フルドロキシコルチド	100mg入り	1本 20,800	・フルドロキシコルチドおよびその製剤の定量法
21	プロピオン酸テストステロン	50mg入り	1本 16,500	・プロピオン酸テストステロンおよびその製剤の定量法
22	ペオニフロリン	20mg入り	1本 31,500	・ペオニフロリンの定量法
23	マレイン酸メチルエルゴメトリシン	50mg入り	1本 16,600	・マレイン酸メチルエルゴメトリシンの定量法
24	融点測定用 〔アセトアニリド、アセトフェネチジン、カフェイン、〕 〔スルファニルアミド、スルファビリジン、ワニリン〕	各1g入り	6本 53,000	・融点測定用温度計、同装置の補正
25	酢酸ヒドロコルチゾン	100mg入り	1本 17,700	・酢酸ヒドロコルチゾンおよびその製剤の定量法
26	リゾチーム	500mg入り	1本 29,000	・リゾチーム製品の定量法
27	リン酸デキサメタゾンナトリウム	100mg入り	1本 15,600	・リン酸デキサメタゾンナトリウムおよびその製剤の定量法
28	リン酸ヒスタミン	50mg入り	1本 14,000	・ヒスタミン試験
29	リン酸プレドニゾロンナトリウム	100mg入り	1本 15,500	・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

国立医薬品食品衛生研究所標準品（色素試験用標準品）

(平成10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 3,500 円	・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 3,600	・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 3,200	・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 3,300	・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 5,300	・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 3,300	・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 3,200	・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 3,200	・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 3,300	・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 3,050	・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 3,050	・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 3,050	・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 3,050	・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 3,100	・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 3,100	・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 3,400	・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 3,100	・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 3,100	・食品、医薬品、化粧品および製剤中のタートラジンの確認試験
19	テトラクロルテトラブロムフルオレセイン	1g入り	1本 3,200	・外用医薬品、化粧品および製剤中のテトラクロルテトラブロムフルオレセインの確認試験
20	テラブロムフルオレセイン	1g入り	1本 3,300	・外用医薬品、化粧品および製剤中のテラブロムフルオレセインの確認試験
21	トルイジンレッド	1g入り	1本 3,000	・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 3,150	・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 3,100	・食品、医薬品、化粧品および製剤中のニューコクシンの確認試験
24	パーマネントオレンジ	1g入り	1本 3,000	・外用医薬品、化粧品および製剤中のパーマネントオレンジの確認試験
25	ハンサエロー	1g入り	1本 3,050	・外用医薬品、化粧品および製剤中のハンサエローの確認試験

国立医薬品食品衛生研究所標準品(色素試験用標準品)

番号	標準品名	包装単位	価格	使用目的
26	ファストグリーンFCF	1g入り	1本 円 4,200	・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 3,600	・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 3,400	・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 3,150	・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	フロキシン	1g入り	1本 3,200	・食品、医薬品、化粧品および製剤中のフロキシンの確認試験
31	ポンソーラ	1g入り	1本 3,300	・粘膜以外医薬品、化粧品および製剤中のポンソーラの確認試験
32	ポンソーラSX	1g入り	1本 3,200	・粘膜以外医薬品、化粧品および製剤中のポンソーラSXの確認試験
33	ポンソーラ3R	1g入り	1本 3,300	・粘膜以外医薬品、化粧品および製剤中のポンソーラ3Rの確認試験
34	リソールルビンBCA	1g入り	1本 3,300	・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 3,300	・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 3,300	・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 3,300	・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 3,200	・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9年度国立医薬品食品衛生研究所標準品出納状況

(医薬品試験用標準品)

標準品名	前年度末数量	製造数量	売扱数量	自家消費等量	年度末在庫数量	備考
	個	個	個	個	個	
アセトアミノフェン	0	300	256	44	0	
アルプロスタジル	30	0	24	0	6	
インスリン	22	50	28	4	40	
インドシアニングリーン	14	0	8	0	6	
ウリナスタチン	31	50	32	4	45	
ウロキナーゼ	124	0	63	0	61	
エストラジオール	23	100	80	0	43	
エストリオール	29	0	9	0	20	
エストロン	26	0	6	1	19	
エテンザミド	10	100	36	0	74	
エピチオスタノール	17	50	2	0	65	
エルカトニン	35	0	7	0	28	
エルゴカルシフェロール	28	200	124	1	103	
塩化ペルベリン	51	100	122	1	28	
塩酸チアミン液	5	27	24	0	8	
エンドトキシン	295	2,552	2,282	0	565	
下垂体性性腺刺激ホルモン	50	0	14	0	36	
カリジノゲナーゼ	44	100	48	0	96	
含糖ペプシン	34	0	18	0	16	
d-カンフル	69	0	56	13	0	
dl-カンフル	100	100	145	55	0	
吉草酸ジフルコルトロン	33	0	1	0	32	
吉草酸ベタメタゾン	58	0	16	42	0	
ギトキシン	27	0	7	0	20	
グリチルリチン酸	38	300	289	0	49	
血清性性腺刺激ホルモン	10	98	39	1	68	
高分子量ウロキナーゼ	46	50	46	0	50	
コハク酸トコフェロール	93	0	89	0	4	
コハク酸ヒドロコルチゾン	28	0	20	8	0	
コレカルシフェロール	88	228	239	0	77	
酢酸クロルマジノン	35	50	32	0	53	
酢酸デキサメタゾン	28	0	2	0	26	
酢酸トコフェロール	0	1,065	1,065	0	0	
酢酸ヒドロコルチゾン	42	100	119	1	22	
酢酸プレドニゾロン	53	0	43	10	0	
ジギタリス	15	0	0	0	15	
ジギトキシン	49	50	28	0	71	
シクランデラート	26	0	4	0	22	
ジクロルフェナミド	9	0	0	0	9	
ジゴキシン	32	53	21	0	64	
ショ糖オクタ硫酸エステルカリウム	27	50	33	0	44	
G-ストロファンチン	25	0	0	0	25	
センノシド	47	0	10	0	37	
胎盤性性腺刺激ホルモン	72	100	74	0	98	
低分子量ヘパリン	63	0	19	0	44	
テオブロミン	20	0	0	0	20	
デキサメタゾン	21	0	18	3	0	
デスラノシド	12	20	8	0	24	

標準品名	前年度末在庫数	製造数量	売扱数量	自家消費等量	年年度末在庫数	備考
	個	個	個	個	個	
トコフェロール	147	200	310	0	37	
トリアムシノロン	20	0	1	0	19	
トリアムシノロンアセトニド	20	38	31	0	27	
トルナフタート	58	0	31	0	27	
トロンビン	48	100	98	0	50	
脳下垂体後葉	29	0	12	0	17	
薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	26	0	11	0	15	
薄層クロマトグラフ用パルミチン酸 レチノール	40	60	59	0	41	
ヒアルロニダーゼ	47	0	10	0	37	
ヒトイヌスリン	9	50	20	0	39	
ヒト成長ホルモン	20	100	25	0	95	
ヒドロクロロチアジド	28	0	2	0	26	
ヒドロコルチゾン	20	50	41	29	0	
ブリミドン	29	0	1	0	28	
フルオシノニド	55	0	10	0	45	
フルオシノロンアセトニド	44	50	44	0	50	
フルオロメトロン	21	50	34	0	37	
フルドロキシコルチド	49	0	0	0	49	
プレドニゾロン	36	50	86	0	0	
プロピオン酸テストステロン	50	0	6	0	44	
プロピオン酸ベクロメタゾン	38	50	42	0	46	
ベタメタゾン	23	50	30	43	0	
ヘパリンナトリウム	80	0	77	0	3	
マレイン酸メチルエルゴメトリン	21	0	0	0	21	
メシリ酸ジヒドロエルゴトキシン	0	50	2	0	48	
メストラノール	37	0	3	0	34	
メチルジゴキシン	34	0	4	0	30	
メトキサレン	15	0	0	0	15	
融点測定用 〔アセトアニリド、アセトフェネチジン、カフェイン、スルファニルアミド、スルファピリジン、ワニリン〕	14	50	59	1	4	
酪酸ヒドロコルチゾン	11	0	1	0	10	
ラナトシドC	17	36	10	0	43	
リゾチーム	29	200	215	0	14	
硫酸プロタミン	22	0	3	0	19	
リン酸デキサメタゾンナトリウム	21	0	10	0	11	
リン酸ヒスタミン	14	50	22	0	42	
リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム	38	0	21	0	17	
リン酸ブレドニゾロンナトリウム	48	0	0	0	48	
リン酸ベタメタゾンナトリウム	47	0	30	0	17	
計	3,339	7,127	6,967	261	3,238	

(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	自家消費等量	年度末在庫数量	備考
	個	個	個	個	個	
アシッドバイオレット6B	65	0	1	0	64	
アシッドレッド	473	0	8	1	464	
アゾルビンエキストラ	69	0	1	0	68	
アマランス	416	0	10	1	405	
アルラレッドAC	311	0	7	1	303	
インジゴ	125	0	3	0	122	
インジゴカルミン	516	0	10	1	505	
エオシン	108	0	2	0	106	
エリスロシン	456	0	9	1	446	
オイルエローAB	210	0	1	0	209	
オイルエローOB	219	0	1	0	218	
オイルオレンジSS	221	0	2	0	219	
オイルレッドXO	195	0	2	0	193	
オレンジI	267	0	2	0	265	
オレンジII	147	0	3	0	144	
ギネアグリーンB	59	0	4	0	55	
サンセットエローFCF	468	0	10	2	456	
タートラジン	438	0	10	2	426	
テトラクロルテトラブロムフルオレセイン	146	0	4	0	142	
テトラブロムフルオレセイン	106	0	3	0	103	
トルイジンレッド	73	0	4	0	69	
ナフトールエローS	133	0	4	0	129	
ニューコクシン	467	0	9	1	457	
バーマネントオレンジ	25	0	5	0	20	
ハンサエロー	71	0	4	0	67	
ファストグリーンFCF	0	450	12	1	437	
ファストレッドS	192	0	3	0	189	
ブリリアントブルーFCF	428	0	15	2	411	
フルオレセイン	182	0	3	0	179	
フロキシン	293	0	8	1	284	
ポンソーラ	241	0	2	0	239	
ポンソーエクスエクス	142	0	3	0	139	
ポンソーブルーライブ	151	0	2	0	149	
リソールルビンBCA	356	0	5	1	350	
レーキレッドC	380	0	4	0	376	
レーキレッドCBA	117	0	4	0	113	
レーキレッドDBA	155	0	1	0	154	
ローズベンガル	427	0	8	1	418	
計	8,848	450	189	16	9,093	

国立医薬品食品衛生研究所報告第116号キーワード索引（アルファベット順）

A

A. membranaceus 306
 ACA 286
 acceptable daily intake 126
 acceptance of difference 287
O-acetyltransferase 300
 activation kinetics 292
 ADI 315, 316
 adoption of SI units 309
 ageing 288
 aggregation 275
 AgNORs 295
Agrobacterium 306
 Ah-receptor 1
 dissolution apparatus 189
 α 2 adrenoceptor 291
 α -helical protein 278
n-alkane 282
 alkylating agents 300
 allosteric modulation 292
 allylic ether 285
 alternative methods 314
 Ames test 300
 amphetamine 272
 analysis 291
 analytical procedure 310
 aneuploidy 298
Angelica acutiloba 308
Angelicae Radix 305
 animal feeds 312
 ANOVA 273
 antagonist 286
 anti-allergic compounds 311
 antiallergic effect 283
 antibody production 306
 anticarcinogenicity 295
 anticoagulant activity 311
 anti-Fas antigen 289
 antifungal agent 284
 antiinflammatory effect 276
 antimicrobial and deodorant agents 278
 antioxidant(s) 278, 284, 285
 antipsychotic drugs 314
 AOAC International 312
 apolipoproteins 303
 apoptosis 289
 aristolochic acids 195
Aristolochiaceae 195
 artificial protein 278
 aryl sulfotransferase 293
Asiasarum Root 195
Astragalus mongholicus 306
 atomic absorption spectrometry 281
 atopic dermatitis 287
 ATP 291, 314
 ATP receptor/channel 292, 315
 ATP receptors 314
Atropa belladonna 306
 authorization 163, 174, 177, 180, 183, 185

azidothymidine 288

B

basophils 285
 BCG 286
 bedclothes 287
 beet red 283
 benchmark dose 302
benzo[a]pyrene 298
 berberine 316
 β -1,3-glucanase 277
 β -carotene 315
 β -cyclodextrin 294
 betanin 283
 bioactivation and detoxification 69
 bioassay 275
 bioavailability 310
 bioburden 279
 bioequivalence 310
 biological activity 285
 biological indicator 279, 311
 biologically active natural compounds 311
 biomaterials 279
 biotechnology products 274, 310
 bisphenol A 313
Bletilla striata 306
 blood collection 293
 blue mussels 282
 Bond Elut® SAX+PSA 304
 BOP 295
 Boraginaceae 307
 brain 297, 314
 brilliant blue FCF 283
 bromodeoxyuridine 290
 bulletin method 304
 butyl benzyl phthalate 305
 butyltin compounds 282
 BUUV-method 314

C

C. olitorius 282
 Ca^{2+} -dependent plasminogen release 291
 caffeic acid derivative 307
 calcium 304, 311
 calcium antagonist 310
 calcium oscillation 291
 calcium spark 275
 calibrator 189
 callus 307
 capacitative calcium entry 291
 capillary electrophoresis 273, 280, 302
 capillary zone electrophoresis 284
 captafol 295
 carbohydrate 274
 carbon monoxide 311
 cardiac myocyte 275
 carcinogenic heterocyclic amines 293
 carcinogenic N-hydroxy aryl compounds 292
 carcinogenicity 294, 315
 carcinogenicity study 294

cardiac glycoside 282
 cardiac myocyte 275
 cardiomyopathy 276
 carminic acid 284
Carthamus tinctorius 283
 cationic liposome 273
 causative chemical investigation 279
 CB6F1-Tg Hras2 mouse 296, 297
 cell cycle 290
 cell kinetics 314
 cell line 288
 cell proliferation 290, 295
Centaurea scilloides 307
 central nervous system 273, 314
Cephaelis ipecacuanha 316
 chalangiocarcinoma 293
 characterization 310
 chemical accident 132
 chemical components 316
 chemical ligation 278
 chemical modification 279
 chemical safety evaluation 298
 chemically induced hepatotoxicity 82
 chemokine 280
 chemoprevention 82, 296
 chewing gum 285
 chiral separation 273
 chloroform 284
 chlorophyll 107
 cholecalciferol 174
 cholesterol 303
 cholinergic nerve 290
 chondrogenesis 279
 chromium 284
 chromosomal instability 298
 cigarette smoke 295
 cigarette smoking 315
 cilnidipine 291
 cinnamon bark 286
 class I major histocompatibility complex 274
 classical nitroreductase 300
 clinical trial 314
 coal-tar dye 153, 316
Coccus cacti L. 284
 Cochrane Centre 137
 codeine phosphate 271
Coleus forskohlii 308
 collaborative study 312
 collagen immobilization 278
 colony forming assay 299
 colorie restriction 289
 colorimetry 303
 column chromatography 316
 COMET assay 299
 communication process 287
 concentration 285
 the Concise International Chemical Assessment Document 126
 confidence limit 271
 confocal microscopy 275
 conjugal transfer 300
 connexin 279, 297
 conserved protein 46

contamination with foreign matters 309
 content(s) 284, 315
 content uniformity 310
Coptis Japonica 316
Cornus capitata 307
 credibility 288
 cross-reactivity 46, 277
 crude drugs 13
 cryopreservation 306
 crystal toxins 312
 G-CSF 275
 CT-SMAC 286
 cultivation 311
 cultured microglia 291
 cultured rat hippocampal neurons 291
 cyanoguanidine 294
 cyclic nonapeptide 277
 cyclic octapeptide 277
 cyclin D1 298
 cyclotheonuripeptide 277
 CYP1A2 300
 L-cysteine 295
 cytochrome P450 280, 281
 cytoplasmic gene expression 273, 274
 cytotoxic T lymphocyte 274

D

daily intake 284, 285
 data base system 278
 database 92, 132
 defense response 46
 defense-related protein 277, 278
 degradation 302
 degradation product 283
 degranulation 285
 delayed type allergy 279
 δ -sarcoglycan 276
 deproteinizing agent 303
 detection limit 271
 developmental toxicity 293, 304, 305
 dextran 302
 dextran for injection 302
 DFMO 296
 dibutyl phthalate 305
 p-dichlorobenzene 290
 1,1-dichloroethylene 280
 1,2-dichloroethylenes 280
 differentiation 275
 dihydroergotoxine mesylate 303
 1,3-dihydroxy-8-methylanthraquinone 284
 1,8-dihydroxyanthraquinone 295
 dilute ethanol soluble extract 305
 7,12-dimethylbenz[a]anthracene 298
 N,N'-dimonomethylphenyl-p-phenylenediamine 289
 dioxin(s) 1, 311, 313, 314, 315
 dioxirane 63, 285
 discrimination limit 280
 dissolution test 271, 310
 distribution 289, 313
 DNA repair 301
 dosage form 310
 drug 310
 drug absorption study 271

drug abuse 310
 drug dependence 310
 drug development 314
 drug efficacy 69
 drug incorporation 30
 drug interaction 314
 drug metabolizing enzyme 69
 drug products 309
 drug substances 309
 drugs of abuse 30
 DTPA anhydride 274

E

early embryonic loss 305
 ectokinase 285
 ecto-nucleotidase 314
 EHC 144
 EIA 312
 ELISA 316
 embryo 306
 embryo culture 293
 emission rate 311
 emulsions 303
 endocrine disrupter 313, 315
 endocrine disrupter chemicals 313, 314
 endogenous nitrosation 293
 endotoxin 286, 312
 endotoxin inhibitor 286
 enteric-coated granules of cefalexin 189
 enterohaemorrhagic Escherichia coli 312
 environmental mutagens and carcinogens 315
 environmental risk 313
 enzyme inhibitor 285
 ephedrine 273
 equivalence 273
 ergocalciferol 180
 erythropoietin 117, 276
Escherichia coli O157:H7 286, 287
 esterase 295
 esterified capsanthin 283
 estrogen 313
 ethylparaben 280
 Europium 274
 exposure 311
 extent of lifespan 289
 extraction 316
 eye irritation test 314

F

F1 hybrid 306
 F344 rat 107, 294, 302
 fair analysis 272
 Fas 289
 feed safety regulation 312
 2 year feeding 289
 fenethylline 272
 fetal effects 293
 fish 282
 fish meat 311
 flavonoides 306
 fluorescent probe 311
 c-fms 275
 food additive(s) 113, 312, 313, 315

Food Blue No.1 283
 food color 122, 153, 316
 Food Red No.102 282
 Food Red No.2 282
 food sanitary 313
 Food Yellow No.5 283
 food-poisoning bacteria 312
 formaldehyde 302
 formaldehyde toxicity 302
 forskolin 308
Forsythia suspensa Vahl 276
 frameshift 300
 frameshift mutations 301
 freeze-concentration 272, 310
 fresh fruit 157
 fullerene 285
 FUMI theory 281
 function 314
 functional food 311
 fungal allergens 313
 fungal ecology 313
 fungal examination test 313
 fungal infection 313
 fungi 287
 fungicidal activity 287
 fusogenic liposome 274
 D-galactosamine 294

G

galanin 290
 gap-junctional intercellular communication 278
 gavage administration 290
 GC 157
 GC/MS 157, 272, 285, 316
 GC-ECD 304
 genetic polymorphism 293, 315
 genomic instability 298
 genotoxicity 299
Gentianella nitida 277
Geranium 306
 GI motility 271
 ginsenoside 307
 glomerular epithelial cell 280
 GLP 316
 glucocorticoid receptor 276
 glutathione S-transferase 285
 glycopeptide 274
 glycoprotein 276
 glycyrrhizin 306
 G-protein coupled ATP receptors 314
 grading and packing center 312
 green tea infusion 82
 GSH 291
 GST-P 294
 guideline 301, 314, 315
gymnema sylvestre 303
gymnemagenin 303

H

hair 273
 hair analysis 30, 272
 Hair follicle 288
 hair roots 272

hairy root 306, 307, 308
 hamster 276, 295
 harmful reagent 312
 harmonization 309
 harmonization of microbial tests in pharmacopoeia 312
 hazard identification 298
 HCHO 311
 health foods 303
 heme biosynthesis 281
 hemolysis 285
 hemopoiesis 289
 hemopoietic stem cell 288, 289, 290, 314
 hepatocarcinogenesis 295
 hepatotoxicity 282, 304
 Hercampuri 277
 heterocyclic amine 300
 hexane fraction 276
 hGM-CSF-receptor transgenic mice 289
 high-proliferative potential progenitor cells 289
 HL-60 cell 275
 homologous recombination 298
 HPAEC-PAD 117
 HPLC 122, 157, 282, 283, 302, 304, 310
 HPLC operating conditions 197
 HPLC-EC 274
 human aryl sulfotransferase 293
 human bronchi 290
 human colon 290
 human insulin 302
 human prototype c-HRAS gene 296
 human sulfotransferase 292
 humoral immunity 274
 hyaluronic acid 302
 hydroponic cultivation 286
 8-hydroxydeoxyguanosine 290
 8-hydroxyguanine 301
 8-hydroxyguanine DNA glycosylase 300
 hydroxyl radical 304
 hydroxysafflor yellow A 283

I

ICH 137, 301, 309, 310, 314
 ICH guidelines 310
 ICH impurities guidelines 309
 ICH-3 309
 identification test for vitamin D 284
 imaging 311
 imipramine 292
 immunofluorescence microscopy 287
 IMS 312
 in egg 312
in vitro micronucleus assay 299
in vivo analysis 289
 indoor environment standards 311
 indoor pollutants 311
 information specialist 288
 infrastructure 92
 inhalation toxicity study 302
 inhibition effect 294
 inter-laboratory variation 271
 intermittent treatment 296
 international collaboration 298
 Internet 132

intra-laboratory variation 271
 ion exchange chromatography 280
 ionizing radiation 299
 ionotropic ATP receptors 314
 IPCS 144
 iron 274, 284
 ISO 280

J

Japanese Pharmacopoeia → JP
 Japanese Pharmacopoeia (13th ed.) → JP13
 Japanese Standards for Food Additives 284, 312
 JP 197, 271, 302, 310
 JP Reference standard 303
 JP13 309
 JP13 suppl.1 312

K

K562 cell 274
 kallidinogenase 168
 kampo decoction 316
 kampo medicines 13
 kampo preparation 316
 K-ras 298

L

lacI 296
lacZ mutation 299
 Lamiaceae 307
 latex allergy 46, 277, 278
Lawsonia inermis 306
 lead 279
Leonurus heterophyllus 277
 light source 310
 limit of detection 281
 lipid peroxidation 281
 lipid peroxide 302
 lipopolysaccharide(LPS) 101, 286
 lipoprotein lipase 303
 liquid paraffin 294
 liver fluke infection 293
 living environments 313
Lobelia siphilitica 307
 lubricants 284

M

macrophage 312
 MAP kinase 276
 marketing research 278
 maximum residue limit 316
 M-CSF 275
 measures for prevention 309
 mEC broth 286
 mechanism 296
 medicinal plant 13
 medium-term bioassay 294, 295
 Medline 137
 megakaryocyte 293
 meningeal tumor 297
 meningioma 297
 2-mercaptopirimidazole 278, 290
 metabolic activation 295, 300
 metabolite 304, 316

metal 314
 methamphetamine 272
 methylenedioxymethamphetamine 272
 methylephedrine 273
 microbial tests 312
 micronucleus assay 299
 micropropagation 316
 mineral nutrients 306
 modifier 282
 molecular cloning 315
 molecular mobility 271
 molecular weight 302
 monoclonal antibody 285
 monocrotaline 294
 monocyte 280
 morphology 313
 mouse lymphoma assay 298
 murine Ki-ras 297
 mutagenesis protein 300
 mutagenicity 296, 300
 mutation 276
mutM ST 300
 N-myc amplification 298
Mycobacterium leprae 286
 mycoses 313
 mycotoxicoses 312
 mycotoxins 312
 myelodysplasia 288
 myeloid leukemia 289

N

NADPH oxidase 273
 naturally occurring 315
 network and accessibility 288
 neuroblastoma 298
 neurotoxicity 315
 neurotramin 285
 neutrophil 273
 new gene subfamily 293
 nickel 284
 nicotinic acetylcholine receptor/channel 292
 NIH Reference Standard 163, 166, 168, 170, 174, 177, 180, 183, 185
 nitenpyram 304
 nitidasin 277
 nitric oxide formation 101
 nitrite 303
 nitrite/nitrate 101
 NMR relaxation 271
 NNAL 295
 NOAEL 315
 NOEL 315
 1/f noise 280
 non-clinical test 314
 non-competitive inhibition 292
 nonpermitted food color 122
 nontoxic lipid A 286
 northwestern China 316
 N-type Ca^{2+} current 291

O

OBCAM 285
 ochratoxin A 283

OECD 314, 315
 official inspection 153
 ogt_{ST} 300
 on egg 312
 organ tissues 101
 organotin 282
 organotin compound 126
 orthovanadate 287
 ovi 310
 oxfendazole 297
 oxidative DNA damage 300, 301
 oxidative stress 288
 oxidizing potential liquid 287
 Oxone 63
 oxygen radicals 276

P

P2 purinoceptor 291
 P2X receptor/channel 292
 p53 298
 p53 knockout mouse 315
 p53-deficient mice 289
 p53-knockout mice 288
 paint 279
Panax interspecific hybrid 307
 pancreatic adenocarcinoma 295
 pancreatic carcinogenesis 295
Papaver species 306
 paper chromatography 302
 paprika color 283
 partnership 287
 patch-clamp 293
 pathogenesis-related protein 46
 pathogenic fungi 313
 PC12 cells 291, 292
 PCA 286
 PCB 314
 PCNA immunostaining 294
 PCP 272, 308, 312
 PEITC 296
 peroxisome proliferator 295
 personal computer 92
 pervanadate 273
 pesticide 13, 157, 282, 304, 313, 316
 pesticide residue 311
 phage-type 286
 pharmacogenetics 69
 pharmacokinetics 314
 pharmacology 272
 phase separation 272, 310
 pH-dependence 292
 phenacyclidine 273
 phenacyclidine metabolites 273
 phenethylamines 273
 phenylpropanoid glycosides 277
 philanthotoxin 292
 phosphorylation 276
 photochemicalreaction 304
 photoexcitation 285
 photo-stability 283
 photostability testing 310
 phthalic acid 305
 phytochelatin 284

plasmin 275
 platelet 275
 PMA 275
 point mutation 297
 poly(ethylene glycol) 279
 polyacetylene 307
 polycarbamate 313
 polycyclic aromatic hydrocarbon 282
Polygala tenuifolia 311
 Polygara root 311
 polystyrene 284
 pore-blocking action 292
 post-implantation loss 305
 potassium bromate 290
 potassium sucrose octa sulfate 163
 potency 166, 168
 precision 280
 precision of measurement 281
 prednisolone 185
 pregnancy failure 305
 preservative 285
 prick test 278
 primary cultured rat hepatocytes 276
 procedure 313
 production 153, 316
 promotion 287, 297
 prostaglandin 295, 312
 protection 313
 protein formulation 310
 protein stability 271
 protocol 298
 PTP1C 275
 pullulan 302
 pulmonary surfactant 302
 purity test 302

Q

qualitative test 122
 quality control 117, 274, 310
 quality evaluation 163, 170, 174, 177, 180, 183, 185, 316
 quality guidelines 309
 quantitation limit 271
 quantitative morphometry 294
Quercus glauca 307

R

R64 thin pilus 300
 rabbit serum 293
 radiation leukemogenesis 289
 radiation sensitivity 288
 radish sprout 286, 287
 rainbow agar 286
 range 192
 RAPD 308
 rapid analysis 310, 315
 rapid carcinogenicity testing system 296
 rare earth elements 304
 rat 290, 296
 rat basophilic leukemiacell 283
 rat hair 273
 rat hepatocytes 281
 rat locus coeruleus neurons 291
 rat sulfotransferase 292

reactive nitrogen oxides 101
 reagent 310
 recombinant DNA technology 312
 recovery test 311
 regeneration 307
 regulatory science 298
 reproductive toxicity 313
 residual solvents 301
 resistance interference 279
 restriction endonuclease 286
 retinol acetate 170
 retinol palmitate 170
 revision of general methods 309
Rhei Rhizoma 316
Rheum spp 316
 riboflavin sodium phosphate 304
 ribosomal fraction 286
 risk assessment 126, 288, 313
 risk assessment and transparency 287
 risk communication 287
 risk information 288
 risk perception 287
 root culture 307
 RP-HPLC 113
 rubber 278, 279
Rubia tinctorum 284

S

safety 13
 safety evaluation 316
 safflower yellow 283
Salmonella 312
Salmonella Enteritidis 286
 sampling 316
 SBS 311
 school 279
scid mouse 299
 secretion 291, 292
 seed germination 311
 segetalin E 277
 separation of β -and γ -tocopherol 113
 serum half-life period 279
 server 92
 shelf-life 192, 273, 310
 shellfish 299
 shoot formation 307
 short-term carcinogenicity test 315
 signal transducers and activators of transcription 276
 site-directed mutagenesis 292
 size-exclusion chromatography 302
 skin 280
 smoking 272
 solid-phase extraction 280, 283
 solvent 310
 solvent in pharmaceutical products 310
 SOS response 301
Sparganiaceae 277
Sparganium stoloniferum 277
 spasmogen 290
 specifications 274
 spectrophotometric analysis 286
 sphingomyelin 303
 spin-lattice relaxation time 271

stability 271, 310
 stability equivalence 192
 stability variation 192
 stainless steel 279
 standard addition method 281
 standards for use 312
 standards of medical devices 280
 stereoselective epoxidation 63, 285
 sterility assurance 311
 sterilization validation 311
 stevioside 294, 315
 stomach carcinogenesis 296
 structure-function relationship 315
 styrene dimers 284
 styrene trimers 284
 subchronic toxicity 107
 subsidiary color 282, 283
 substitution of reagent 312
 sucrose 305
 sugar chain 277
 Sunset Yellow FCF 283
 supercritical fluid extraction(SFE) 282
 superoxide 285
 surfactants 280
 sympathetic neurones 291
 synaptic transmission 314
 system repeatability 197
 system suitability 197

T

T7 promoter 274
 T7 RNA polymerase 274
 tannin 306, 307
 TBT 282
 TDI 1
 tecloftalam 304
 tecloftalam-imide 304
 teratogenicity 304, 305
 testicular toxicity 294
 tetrakis-M-3,5-diisopropylsalicylatodiaquo-dicopper(II) 291
 TGF- β 289
 Thebaine 306
 thermal analysis 272
 thiamine hydrochloride solution 183
 thin-layer chromatography 302
 thiourea 297
 L-threonine 302
 threshold 290
 thrombin 166
 thrombin receptor 293
 thrombomodulin 311
 thyroid 297
 thyroid hormone 293
 timing 314
 timing of non-clinical test 314
 titanium 279
 titanium alloy 279
 tocopherol 113
 tocopherol acetate 177
 toxic microorganisms 312
 toxicity 69, 288, 310, 315
 toxicokinetics 293

TPTZ 274
 T-R ratio 306
 tranilast 315
 transformation 287
 transgenic mouse 299, 315
 transgenic plants 306
 transparency 287
 transplantation assay 288
 tributyltin 126, 304
 tributyltin chloride 305
 triphenyltin 126
 trivalent cations 292
 TSH 296
 tumor promotion 278
 tumorigenicity 296
 tumor-promoting activities 279
 type IV pilus 300
 tyrosine kinase 276

U

UDP-GT 297
 UJNR 312
 ultraviolet 299
 ultraviolet stabilizers 284
 uncertainty 288
 untargeted mutagenesis 301
 urea 280
 urethane 294
 uterine decidualization 305

V

Vaccaria segetalis 277
 vaccine 274
 validation 189, 271, 310, 312
 vegetable extract 283
 veterinary drug residue 311
 veterinary medicine 313
 vibration level 189
 vitamin A 297
 vitamin A assay 302
 VOC 311
 voltage-dependent gating 292
 vomiting reagent 316

W

Wahlenbergia marginata 307
 water 271
 water pollution 299
 weight variation 310
 wild-life 313
 World Wide Web 92, 132

X

xenobiotic metabolizing enzymes 315
 X-ray 299

Z

zirconium 279
 zoonoses 313

国立医薬品食品衛生研究所報告への投稿について

投 稿 規 定

1. **投 稿 資 格**：国立医薬品食品衛生研究所所員とする（共著者はこの限りでない）。
2. **内 容**：原稿は、特論、総説、原著論文、ノート、資料、ステートメントとする。そのほか業務報告、誌上発表、単行本、行政報告、学会発表、レギュラトリー・サイエンス関連会議報告などを収載する。
- 特 論**：国立医薬品食品衛生研究所の研究業務に関する主題について、ある特定の視点から系統的に整理・論述したもので、編集委員会が執筆を依頼する。
- 総 説**：数年以上にわたって行われた著者自身の研究や調査を中心にして、特定の主題について包括的・系統的に総括したもので、投稿により受理する。
- 原著論文**：独創性な内容や新知見を含んだ研究成果をまとめたもので、投稿により受理する。
- ノート**：断片的ではあるが独創的な内容や新知見を含んだ研究成果を報告するもので、投稿により受理する。
- 研究に関する資料**：試験、製造又は調査などで、記録しておく必要のあるもので、投稿により受理する。
- 標準品に関する資料**：標準品に関する試験、製造又は調査などで、記録しておく必要のあるもので、投稿により受理する。
- ステートメント**：レギュラトリー関連学会などで発表した内容の報告で、投稿により受理する。
- 業 務 報 告**：所長、各部長（支所も含む）及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**：国立医薬品食品衛生研究所報告以外の専門誌に発表したものの報告。
- 単 行 本**：単独又は共同で執筆し、刊行されたものの報告。
- 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の報告。
- 学 会 発 表**：学会で講演したりポスター発表したものの報告。
- レギュラトリー・サイエンス関連会議報告**：レギュラトリー関連会議内容の報告。
3. **用紙及び枚数の制限**：原則としてA4用紙（26字×24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（日本語の場合、刷り上がり1ページはA4用紙（26字×24行）で約4枚に相当する）。
 - 特 論**：原稿を依頼するとき別に定める。
 - 総 説**：刷り上がり15ページ以内。
 - 報 文**：刷り上がり8ページ以内。
 - ノート及び資料**：刷り上がり5ページ以内。
 - ステートメント**：刷り上がり2ページ以内。
 - 業 務 報 告**：各部及び各薬用植物栽培試験場について刷り上がり2ページ以内。
 - 誌 上 発 表**：一題目について要約部分が26字×20行以内。
4. **原稿の提出**：原稿はワードプロセッサで作成する。特論、総説、原著論文、ノート、資料、ステートメントでは、表紙（第1頁とする）、英文要旨及びキーワード、本文、文献、図の表題と説明、表の表題と説明、図、表、英文要旨の和訳（参考）の順に通し頁番号を付け、左上をひもなどで綴じて提出する。表紙には、論文タイトル、所属、著者名に加えて、右上部に該当する分類（特論、総説、原著論文、ノート、研究に関する資料、標準品に関する資料、ステートメントなど）を、また右上部に総頁数及び図表のそれぞれの枚数を記入する。
- 提出部数は、特論、総説、原著論文については3部（オリジナル原稿1部及びコピー2部）、また、ノート、資料、ステートメントについては2部（オリジナル原稿1部及びコピー1部）とする。業務報告などの報告類については、オリジナル原稿1部とする。
- 原稿とは別に、原稿の内容（表紙、英文要旨、本文、文献、図の表題と説明、表の表題と説明など）の入ったフロッピーを添付する。フロッピーのフォーマットなどについては、その年度の「原稿募集について」に従う。
- 原稿とフロッピーには所長宛の報告書を添えて、定められた原稿締め切り期日までに編集委員（図書

係) 宛に提出する。

- 5. 原稿の審査:** 原稿の採否及び分類は、編集委員会が選んだ審査員(特論、総説、原著論文については2名、ノート、研究に関する資料、標準品に関する資料、ステートメントについては1名)の意見に基づき編集委員会が決定する。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、用語:** 常用漢字を用い、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。全文を英語で書いてもよい。
原稿の語句の統一を計るため、おくりがな、かなで書くもの、文字の書き換え並びに述語などについては、原則として文部省用字用語例及び文部省公用文送りがな用例集に従う。(参考: 国立医薬品食品衛生研究所報告記載の手引き(用語例))
なお、学術用語については文部省学術用語集(化学編、植物学編、動物学編、数学編及び物理学編など)に従うことを原則とし、用語集にないものについては学会の慣例に従う。
- 2. 物質名、化学名:** 文中では物質はその名称を漢字、カタカナあるいは英語(アルファベット)で記し、化学式は用いない。例えば塩酸と書き、HClとしない。英語で書く場合、文中では原則として小文字で始める。
- 3. 単位、記号、略記:** 単位は原則として国際単位系(SI)を用いる。(参考: 国立医薬品食品衛生研究所報告記載の手引き(単位、記号、略号))
数字と単位記号の間は、必ず1文字あける。
また、物質名あるいは分析法などを略記するときは、和文、英文とも最初は正式な名称とともに示す。例えば、イソニコチン酸(INA)、示差熱分析法—ガスクロマトグラフィー(DTA-GC)と書き、(以下INAと略す)などとしない。
- 4. 句読点:** 、。を用い、、。としない。
- 5. 数字:** 算用数字(アラビア数字)を用いる。千の単位にコンマを付ける。また、必要に応じてローマ数字を用いることができ、慣用語などについては和数字を用いる。(例:一般、二酸化イオウ)
- 6. 繰り返し符号:** 「々」、「ゝ」、「ゞ」は、原則として用いない。ただし、慣用語は用いても差し支えない。(例: 徐々、各々)
- 7. 字体の指定:** 文字の下に赤で次のように記す。

ゴシック体~~~~~	例: 見出しなど 試薬
イタリック体~~~~~	例: 学名など <u>Papaver somniferum</u> L.
スマールキャピタル~~~~~	例: 著者名など <u>L</u> -ascorbic acid

8. 特論、総説、原著論文、ノート、資料、ステートメントの記載要領:

8.1 記載順序: 8.2~8.8の順に書く。

8.2 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

また、著者の中の一人を、連絡者(contact person)に指定し、著者名の右肩に#印を記して脚注とする。

脚注例: [#]To whom correspondence should be addressed:

Mamoru Yoga ; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158,
Japan ; Tel : 03-3700-1141 ext. 200 ; Fax : 03-3707-6950;
E-mail : mamoru@nihs.go.jp

8.3 英文要旨: 論文の内容を400words程度で簡潔にまとめる。なお、参考のため和訳を原稿の最後に別紙として付け

る。

8.4 キーワード：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。

英文要旨のあと2行あけて“Keywords:”の項目を付ける。固有名詞、略語を除き、小文字で記す。各キーワードはカンマで区切り、続けて記載する。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、单数形とする。また、冠詞はつけない。

8.5 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。図又は表がある場合、それらの挿入位置を本文の左側の空欄に明記する。

8.6 文献：本文の引用箇所の右肩に^{1), 2), 3), 2~5)}のように記し、終わりに文献として引用順に書く。雑誌名はChemical Abstracts及び日本化学総覧の略記法による。外国雑誌名はイタリック体、巻数はゴシック体で表し、単行本は書名を省略せず、編者名や出版地も記載する。

例：

- 1) Ito, A., Suzuki, B., Tanaka, C. and Kato, D.: *J. Health Sci. Review*, 7, 1234-1245 (1997).
- 2) a) Yamada, E. and Takahashi, F.: *Health Sci. Lett.*, 8, 2345-56 (1996); b) Saito, G., Kimura, H. and Inoue, I.: *Health Science Bull.*, 123, 3456-67 (1995); c) Ogawa, J.: *ibid.*, 124, 12-25 (1996).
- 3) House, J.K.: "Recent Health Science," 2nd ed., eds. by Morrison, L. and Benjamin, M, Eiken Press Inc., Tokyo, pp. 123-234 (1997).
- 4) 衛研一郎、厚生花子：衛研雑誌, 234, 456-467 (1990).
- 5) 東京子、用賀太郎：衛研報告の書き方、衛研出版社、東京, pp. 234-456 (1997).

8.7 図：図（Fig.）は原則として提出された原稿を70%縮小してそのまま掲載するので、本文とは別に各々一つずつをA4用紙世上に黒で鮮明に作成する。図の作成に際しては刷り上がり一段（幅84mm）か二段（幅175mm）かを考慮し、刷り上がり一段の場合には原図幅120mm、二段の場合には原図幅250mmに収まるようにする。図には通し番号を付ける（Fig. 1., Fig. 2., . . .）。図の表題、説明は原則として英語で書く。図番号、表題、説明は、別のA4用紙にまとめて書く。なお、表題は大文字ではじめ最後に「.」を付けない。

例：Fig. 1. Influence of enzyme concentration on reductive sugar production

Fig. 2. Reaction of ephedrine and pseudoephedrine with acetone as a function of time

図中の文章は、原則として英語で書き明朝タイプの書体（70%縮小されたときにも読みやすい大きさの文字）を使用する。図に写真を用いる場合には、鮮明に印刷されたものを使用する。用紙の裏には、論文のタイトル、著者名、図番号及び刷り上がり段数（一段又は二段）を黒鉛筆で記入する。また、本文の左側の空欄に図の挿入位置を記入する。

8.8 表：表（Table）は、本文とは別に各々一つずつをA4用紙の上に作成する。表の作成に際しては刷り上がり一段（幅84mm）か二段（幅175mm）かを考慮する。

表には通し番号を付ける（Table 1., Table 2., . . .）。表の表題、説明は原則として英語で書く。なお、表題は大文字ではじめ最後に「.」を付けない。

例：Table 1. Classical transgenic mice and carcinogenicity

表中の文章は、原則として英語で書く。表中の項目に関する注は項目の右肩に^{a), b), . . .}の様に記して示す。

例：a) Gonadotropin releasing hormone

表は、図と同じように活字の版組をしないで提出原稿をそのまま掲載することも可能である。その場合には、できるかぎり明朝タイプの書体を用いて作成し、鮮明に書き出したものを提出する。表の中に構造式や数式が含まれていたり表の構成が複雑な場合には、そのまま掲載できるような原稿が提出されるのが好ましい。用紙の裏には、論文のタイトル、著者名及び刷り上がり段数（一段又は二段）を黒鉛筆で記入する（活字の版組をしないでそのまま掲載されることを希望する場合には、その旨も書き加える。）。また、本文の左側の空欄に表の挿入位置を記入する。

9. ステートメントの執筆上の注意：投稿内容が、レギュラトリーサイエンス関連学会などで既に発表したものである場合には、脚注に例として「本ステートメントは、日本薬学会第117回レギュラトリーサイエンス討論会（1997.4, 東京）にて発表した内容をまとめたものである」との説明を加える。

10. 誌上発表などの記載要領：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及び例示に従う。

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。

平成10年10月

国立医薬品食品衛生研究所図書委員会

国立医薬品食品衛生研究所報告記載の手引き（用語例）

注：送りがなについてアンダーラインは注意して送るもの、□印は送らないもの。

*印は特定のものを指すときは漢字でよいもの。

分類	用語	使う字	使わない字	備考	分類	用語	使う字	使わない字	備考
ア	あかるい あきらかに あげる あたためる あたる あたらしい あてる あつかる あつめる あらかじめ あらたに あらためる あらわす あらゆる ある あるいは あわ あわす	明るい 明らかに 上げる →加温する 当たる 新しい 当てる 扱う 集める あらかじめ 新たに 改める 表(現)す あらゆる ある あるいは あわ 合わす	明い 明かに 上る 当る 新らしい 当る 扱う 集る 予め 新たに 表(現)わす 表→表面に出し示す。著わす 現→かくさずに示す 全る 在る、有る 或は 泡 合す		オ	おおきい おおむね おこなう おこる おそらく おそれ おだやかに おとし おののの おのづから おびる おもな およそ および おわる	大きい おおむね 行う 起ころ 恐らく おそれ おだやかに おとし おののの おのづから おびる おもな およそ および おわる	大い 概ね 行なう 起る 恐れ、畏れ おだやかに 落し おののの 自ら おもな 凡そ 終る	
イ	いう いくぶん いずれ いちじるしい いっかねん いつそう いったん いって いる いる いれる いわゆる	いう いくぶん いずれ 著しい 一ヵ年 一層 一端 いって いる いる 入れる いわゆる	言う 幾分 何れ 著るしい 1箇年、一ヶ年 いつそう いたん 行って 居る 入る 所謂		カ	かえす かえって かかわらず かける かさねる かつ かつしょく かならず かねる ～から	返す かえって かかわらず 欠ける 重ねる かつ 褐色 必ず 兼ねる ○○から作る。 △△から再結晶 よりは使わない	返す 却て 拘らず 欠る 且つ かつ色 必らば 兼る	
ウ	うしなう うすい(物) うすい(色) うすめる うちに うながす うる うるおす	失う 薄い うすい →希釈する うちに 促す うる 潤す	薄すい 薄める 内に、中に 促す 得る(can or may) →える 潤す		キ	きしゃく きめる きりあげ きわめて	希釈 決める 切上げ 極めて		
エ	えがく えらぶ える	描く 選ぶ 得る	画く	(get) → うる	ク	くふう くらい(助詞) くらべる くりかえす くみあわせ	工夫 くらい 比べる 繰り返す 組合せ(名詞) 組み合せ(動詞)	くふう 位 比る 繰返す	
オ	おいて おおう	おいて 覆う	於いて 被う		ケ	けんだく	懸濁	けんだく	
					コ	こえる こげる ここ こころみる	超える 焦げる ここ 試みる	越える 焦る 此処 試る	

分類	用語	使う字	使わない字	備考
コ	こたえ こたえる こと ごと ことなる ことに この こまかい (洗い) こむ これ これら	答え こたえる こと ごと 異なる 殊に この 細かい (洗い) 込む これ これら	答 (表中) 応える 事* 毎 異なる 殊に 此の 細い 之 此等, これ等	
サ	さきに さける さげる さしこむ さしつかえない さまざま さら さらに	先に 避ける 下げる さし込む 差し支えない 様々 皿 更に	さきに 避る 下る 挿し込む(挿入) 差支えない さら	
シ	しかし しがたい しげき したがう したがって したのち (に) しばしば しぶい しまう しめす しめる しゃこう しやすい しゅうまつてん じゅうぶん しょうじる じょうりゅう じょじょに しらべる	しかし し難い 刺激 従う したがって (接続詞) 従って (動詞) した後 (に) しばしば 渋い しまう 示す 湿る 遮光 しやすい →終点 充分, 十分 生じる 蒸留 徐々に 調べる	然し, 併し, 而し 刺戟 したがう したがって (接続詞) 従って (動詞) した後 (に) しばしば 渋い しまう 示す 湿る 遮光 しやすい →終点 充分, 十分 生じる 蒸留 徐々に 調べる	
ス	すくない ずつ する すでに すなわち すべて すみやかに	少ない ずつ 捨てる 既に すなわち すべて 速やかに	少い 宛 捨る すでに 即ち 総て, 凡て, 全て すみやかに	
セ	せん せんじょう	栓 洗浄	せん, セン 洗滌	
ソ	そう そうにゅう そこ その そのほか	沿う 挿入 そこ その そのほか	そう入 其処 其の 其他	

分類	用語	使う字	使わない字	備考
ソ	それぞれ	それぞれ	夫々	
タ	だいたい たいてい たえず たがいに たしかめる だす ただ ただし ただちに たとえば ために	大体 大抵 絶えず 互いに 確かめる だす ただ ただし 直ちに 例えば ために	だいたい たいてい 絶ず たがいに 確かめる 出す 唯、只 但し 直に たとえば 為に	
チ	ちいさい ちかづく ちょうど ちょっと さら	小さい 近づく ちょうど ちょっと ついで	小さい 近づく ちょうど ちょっと ついで	小さい 近付く, 近づく 丁度 一寸
ツ	ついで づつ つぎに つくる つける つめる つねに	ついで づつ つぎに つくる つける つめる つねに	ついで づつ つぎに つくる つける つめる つねに	就いて, 付いて 宛 つぎに
テ	ていする できる	呈する できる	出来る	
ト	とおり とき ときどき とくに どこ ところ ともせん ともなう ともに とりあつかい	とおり とき ときどき とくに どこ ところ ともせん ともなう ともに とりあつかい	通り 時* ときどき 特に どこ ところ 共栓 伴う 共に 取扱い (名詞) 取り扱い(動詞)	通り 時* ときどき 何処 所* 共せん 伴団う
ナ	ないし なお なかば ながら なづける など ならびに なるべく	ないし なお なかば ながら なづける など ならびに なるべく	ないし なお 半ば ながら 名付ける など 並びに なるべく	乃至 尚 中ば 乍ら 名づける 等
ニ	にかわじょう にごる にそう にゅうばち	にかわ状 濁る 二層 乳鉢	にかわ状 濁る 二層 乳鉢	膠状
ヌ	ぬぐう ぬらす	ぬぐう ぬらす	ぬぐう ぬらす	拭う 濡らす

分類	用語	使う字	使わない字	備考	分類	用語	使う字	使わない字	備考
ネ	ねんちゅう	粘稠			モ	もっとも もっぱら もどす もとに もとづく もの もる	最も 専ら 戻す (もどす) 下に 基づく もの 漏る	もっぱら 許に 基く 物*, 者*	
ノ	のぞく のちに のべる のり	除く 後に 述べる のり	のちに 述る 糊		ヤ	やすい やはり やむをえず 止むを得ず やや やわらかい	やすい やはり やむを得ず やや 柔らかい	易い 矢張り	
ハ	はかり かる はじめて はじめの はじめる はやい	はかり 量る 初めて 初めの 始める 速い	秤 測る, 計る →当用漢字 初て		ユ	ゆえ ゆく	ゆえ 行く	故	
ヒ	ひとしい ひとつ ひとつづつ	等しい 一つ 一つづつ			ヨ	よい よういに ようす ようだ (に) ようやく ようゆう よほど よる より	よい 容易に 様子 ようだ (に) ようやく →融解 よほど よる より	好い, 良い ようす 様だ (に) 漸く 熔融 余程 依る, 因る 比較するときに用いる。 例: ○○より△△が大きい	
フ	ふきん ふくざつ ふたたび ふりませる ふれる	付近 複雑 再び 津り混ぜる 触れる	附近 振混ぜる 触る		ラ	ら	ら	等	
ホ	ほか ほど ほとんど ほぼ	ほか ほど ほとんど ほぼ	他, 外 程 殆んど 略々, 略ば		リ	りゅうぶん りんぱ	留分 リンパ	溜分 淋巴, りんぱ	
マ	ますます まぜあわせ ませる また または まだ まったく まで まま	ますます 混合せ (名詞) 混ぜ合せ(動詞) 混ぜる また 又は まだ 全く まで まま	益々 混る 又, 亦, 復 未だ		ロ	ろう ろうと ろかする	ろう 漏斗 ろ過する	蟻(正名はロウ)	
ミ	みたす みとめる みなす	満たす 認める みなす	満す, 充たす 認る 見なす, 見做す		ワ	わかる わける わずかに わたって	わかる 分ける わずかに わたって	分る, 判る, 解る 分る 僅かに 瓦って	
ム	むしろ むずかしい むすぶ	むしろ 難しい 結ぶ	寧ろ 六ヶ敷しい 結ぶ						
メ	めずらしい	珍しい	珍い						
モ	もうしこみ もえる もし もしくは もちいる もちろん もって	申し込み (申込み, 申込) 燃える もし 若しくは 用いる もちろん もって	燃る 若し 用る 勿論 以て						

国立医薬品食品衛生研究所報告記載の手引き（単位、記号、略号）

1. SI 基本単位の名称と記号

量	単位の名称	単位の記号	量	単位の名称	単位記号
長さ	メートル	m	熱力学温度	ケルビン	K
質量	キログラム	kg	物質量	モル	mol
時間	秒	s	光度	カンデラ	cd
電流	アンペア	A			

従来用いられてきた重量はほぼ質量に置き換えられるが、当面は用語を併用できる。

2. SI 接頭語

SI 単位の10の整数乗倍を表すために、SI 接頭語が使われる。それらかの名称と記号は次のとおりである。

倍数	接頭語	記号	倍数	接頭語	記号
10	デカ (daca)	da	10^{-1}	デシ (deci)	d
10^2	ヘクト (hecto)	h	10^{-2}	センチ (centi)	c
10^3	キロ (kilo)	k	10^{-3}	ミリ (milli)	m
10^6	メガ (mega)	M	10^{-6}	マイクロ (micro)	μ
10^9	ギガ (giga)	G	10^{-9}	ナノ (nano)	n
10^{12}	テラ (tera)	T	10^{-12}	ピコ (pico)	p
10^{15}	ペタ (peta)	P	10^{-15}	フェムト (femto)	f
10^{18}	エクサ (exa)	E	10^{-18}	アト (atto)	a

例えば、長さの単位 m の 10^3 倍はkm, 10^{-2} 倍はcm, 10^{-3} 倍はmm, 10^{-6} 倍は μm , 10^{-9} 倍はnmとなる。ただし、質量の単位の整数乗倍は、グラムに接頭語をつけて表示する。例えば、mgは μkg と記さない。

3. 特別の名称と記号を持つ SI 組立単位の例

量	単位の名称	単位の記号	量	単位の名称	単位の記号
周波数	ヘルツ	Hz	電気抵抗	オーム	Ω
力	ニュートン	N	コンダクタンス	ジーメンス	S
圧力	パスカル	Pa	磁束	ウェーバ	W
エネルギー、仕事、熱量	ジュール	J	磁束密度	テスラ	T
仕事率、電力	ワット	W	インダクタンス	ヘンリー	H
電荷	クーロン	C	セルシウス温度	セルシウス度	$^{\circ}\text{C}$
電位	ボルト	V	平面角	ラジアン	rad
静電容量	ファラド	F	立体角	ステラジアン	sr
照度	ルックス	lx	光束	ルーメン	lm
吸収線量	グレイ	Gy	放射能	ベクレル	Bq
			線量当量	シーベルト	Sv

4. SI と併用される SI 以外の単位の例

量	単位の名称	単位の記号	量	単位の名称	単位の記号
時間	分	min	質量	トン	t
	時	h	圧力	バール	bar
	日	d	エネルギー	電子ボルト	eV
体積	リットル	l, L	平面角	度	°

また、圧力は SI 単位ではパスカルであるが、血圧等の体内圧力に関しては混乱を避けるため、mmHg を使用できる。

5. その他よく用いられる量と単位記号の例

面積	m^2, cm^2	体積	$\text{m}^3, \text{cm}^3, \text{l}, \text{ml}$	速さ	m/s
加速度	m/s^2	波数	cm^{-1}	密度	$\text{kg}/\text{m}^3, \text{g}/\text{cm}^3, \text{g}/\text{ml}$
電流密度	A/m^2	磁場の強さ	A/m	モル濃度	mol/l
輝度	cd/m^2	粘度	$\text{Pa} \cdot \text{s}$	動粘度	m^2/s
質量百分率	%	質量百万分率	ppm	質量十億分率	ppb
体積百分率	vol %	湿度百分率	%	回転速度	r/s
エンドトキシン単位	EU				

6. よく用いられる記号、略号

融 点	mp	ミハエリス定数	<i>Km</i>	標準偏差値	S.D.
分解点	mp (dec.)	Rf 値	<i>Rf</i>	標準誤差	S.E.
沸 点	bp	保持時間	<i>tr</i>	紫外吸収	UV
凝固点	fp	50%致死量	<i>LD₅₀</i>	赤外吸収	IR
比 重	<i>d</i>	50%有効量	<i>ED₅₀</i>	核磁気共鳴	NMR
屈折率	<i>n</i>	経口投与	p.o.	電子スピン共鳴	ESR
施光度	α	静脈投与	i.v.	施光分散	ORD
吸光度	<i>A</i>	腹腔投与	i.p.	円偏光二色性	CD
水素イオン指数	pH	皮下投与	s.c.	マススペクトル	MS
pK 値	<i>pK</i>	筋肉投与	i.m.		

編集後記

○初めて今期、衛研報告の編集委員をやらせていただきましたが、不慣れなことから関係者の方々には、ご迷惑をおかけしました。無事に衛研報告の編集作業が終わりまして、ほっとしております。研究所内では、さまざまな分野での研究が行われており、審査員の方々には、大変ご多忙のところ、気持ちよく引き受けていただきましてありがとうございました。

(Y.K)

○編集後記ってあったんですね……ところで、ファルマシアの10月号の「学会誌のあり方について」と言う文章の中で、質の高い論文しか掲載しない一流誌根性は商業誌に任せ、学会誌はもっと間口を広くして研究の裾野を広げるのに寄与することを考えるべきだという意味のことが書かれてありました。衛研報告のあり方についてはいろいろご意見もあるようですが、レベルを高めるだけが能じゃないなーと言う気持ちを強くしました。

(K.N)

○昨年の編集後記に、学生時代、当所の研究内容を知るために衛試報告（当時）に目を通したという記述があった。自分の過去も振り返りながら、そのような読者もいることを思い出した。これまで、外部読者の目を意識することはほとんどなかったが、少数ではあれ、衛研報告に真摯な思いで目を通す読者もいるはずである。衛研報告を手に取る読者の目的は様々であろうが、「報告」としての基本は、所の研究活動を過不足なく誠実にまとめるところにあるのではないか、などと改めて考えさせられた次第である。

(T.M)

○昨年に引き続いて2年目の編集委員ということもあり、衛研報告に愛着を感じるようになってきました。ところで、衛研報告の発行にあたって、執筆者や我々編集委員のように表に名前はでないけれども、論文審査をお引き受け下さった方々の貢献は大きいと思います。審査員の先生方には、お忙しいところご協力頂きましてありがとうございました。

(N.K)

○衛研報告の編集作業が終わりほっとしています。今年は、一部総説を担当させていただきましたが、昨年までに比べ、総説が増えたことは、仕事の流れを系統だって知ることができること、また、衛研報告の啓蒙的部分の充実を図るという意味でよい方向と思われました。一部、投稿規定にあわない部分もみられましたので、この点が改善されれば、よりスムーズに審査がいくものと思われました。

(R.T)

○昨年と比べれば発行日が幾分早くなりましたが、印刷業者との打合せが良くなかったこともあります。昨年同様、校正段階で不備が生じてしまい著者の方々及び図書委員の方々には大変ご迷惑をおかけしました。なかなか意志の統一を図るというのはむずかしいもので、自分はこう思って話したことが、相手には誤解され受取られしづしばあります。今後気を付けていきたいと思います。

(S.K)

○今回初めて編集委員になり、誌上発表に掲載される原稿のチェックを担当しました。衛研報告には、様々な分野の研究内容が盛り込まれており、普段は読まない部分まで目を通す、よい機会になりました。ところで、衛研報告の最後に編集後記があることを、今まで知りませんでした。この場を借りて過去の編集委員の皆さんにお詫びします。でも、この文書読んでくださる方、どの程度いるのでしょうか？読んでないのは、私だけ？

(H.K)

○著者も審査員も、長期出張や不在がちな人でなかなか連絡が取れず、気をもみました。それにしても本誌は、論文から、行政報告、標準品に関することまで「ごった煮」の感が強く、雑誌としての主旨、性格がアイマイ過ぎると思います。せめて、「分冊化」しないとと思っていた矢先、編集にたずさわって、執筆者もこのままでは書きにくいのだということが分かりました。

(K.S)

○衛研報告編集委員の担当を命ぜられて、これまで不案内だった衛研内部の仕事が定年間近になって、ようやく分かってきました。もうすこし早く分かっておけば良かったのにーーという後悔の念もあります。分かっていなかったから良かったのだという口の悪い人もいます。ともあれ、当所の研究のアウトラインを知りたい方は、ぜひ図書委員になられることをお勧めします。116号に関しては黒川センター長や佐竹部長をはじめ、多くの方が立派な原稿をおよせ戴き、恥ずかしくないものが出来たと関係各位に感謝しております。

(M.M)

平成10年度図書委員

齋藤行生 神沼二眞 *三瀬勝利 *香取典子

*川崎ナナ *小野景義 林 譲 内野正

松田りえ子 *久保田浩樹 末吉祥子 *手島玲子

*鈴木和博 宮原美知子 *川崎靖 *簾内桃子

渋谷淳 田辺秀之 *広瀬明彦 岩崎仁

*村井敏美 下村講一郎 *川島伸一

(*は編集委員)

国立医薬品食品衛生研究所報告 第116号

平成10年10月20日 印刷

平成10年10月30日 発行

発行所 国立医薬品食品衛生研究所化学物質情報部
東京都世田谷区上用賀1丁目18番1号

印刷所 株式会社ソーラン社
東京都中央区日本橋小伝馬町16-8