

ISSN 1343-4292
CODEN : KISHFC

国立医薬品食品衛生研究所報告

平成12年

Bulletin of National Institute of Health Sciences

No.118

2000



国立医薬品食品衛生研究所

国立医薬品食品衛生研究所報告第118号正誤表

ページ	位置, 行	誤	正
目次 i	下 4	ブリリアンブルーFCF	ブリリアントブルーFCF
目次 i	上 17	Curcuma	<i>Curcuma</i>
目次 i	著者名 18	栗原孝吾、関根 勉、井上 修、 山田和也 削除	米谷民雄、渡辺高志 追加
目次 ii	上 14	エンドトキシシン1000標準品	エンドトキシシン10000標準品
目次 iii	上 19	Curcuma, <i>C. longa</i> , <i>aromatica</i>	<i>Curcuma, C. longa, aromatica</i>
目次 iii	上 22	Papaver, <i>Somniferum</i>	<i>Papaver, Somniferum</i>
71	上 5	Curcuma	<i>Curcuma</i>
71	左下 2	Curcuma	<i>Curcuma</i>
74	Table 1	Table 1	Table 5
75	右下 10	Curcuma	<i>Curcuma</i>
75	Fig 1 タイトル	Curcuma longa	<i>Curcuma longa</i>
80	Fig 3 タイトル	(% dry weight/are)	(% dry weight)
95	下の図	Fig 3 の図	Fig 3 の図を添付の図と差し替え
132	Table 1 タイトル	Table 1	Table 1
134	右下	5) Japan's specitication	5) Japan's specifications
358	右列	同じ会議名で重複あり	一方を削除

国立医薬品食品衛生研究所報告

平成 12 年

Bulletin of National Institute of Health Sciences

No.118 2000

Published by
National Institute of Health Sciences
Tokyo, Japan

国立医薬品食品衛生研究所

目 次

国立医薬品食品衛生研究所報告第118号第一部

特論

遺伝子工学的手法を用いた新しい遺伝毒性試験法……………能美健彦 ……………1

総説

Notric Oxide (NO) ドナー ……………丹野雅幸・末吉祥子・宮田直樹 ……………21

過去の毒劇物事件等に関する調査と分析……………山本 都・神沼二真 ……………37

研究論文

5-フッ化プロパノール (2,2,3,3,3-pentafluoro-1-propanol,5FP) のラットを用いた経口投与による催奇形性試験
……………宇佐美 誠・酒見和枝・紅林秀雄・大野泰雄 ……………45

モルホリン脂肪酸塩のラットを用いた経口投与による催奇形性試験
……………酒見和枝・宇佐美 誠・紅林秀雄・大野泰雄 ……………50

F344 ラットにおけるアカネ色素の90日間反復投与毒性試験 ー慢性毒性・発がん性予備試験ー
……………榊富直哉・渋谷 淳・豊田和弘・仁保直子・畝山智香子・広瀬雅雄 ……………55

塩化マグネシウムのF344 ラットにおける90日間反復経口投与毒性試験
……………瀧澤 保・安原加壽雄・三森国敏・小野寺博志・糀谷高敏・田村 啓・高木久宣・広瀬雅雄 ……………63

Curcuma 属植物の特性に関する研究伊豆薬用植物栽培試験場保存系統について
……………飯田 修・栗原孝吾・関根 勉・井上 修・山田和也・高上馬希重・香月茂樹・坂元史歩 ……………71

伊豆で栽培されたケシの生育とあへん生産
……………飯田 修・関根 勉・井上 修・吉松嘉代・下村講一郎 ……………77

ノート

分野に特化したインターネットの専用検索エンジンの開発……………高井貴子・徳永雅彦・前田 憲・神沼二真 ……………81

多様なデジタル地図を管理するインターネット対応システム
……………神沼二真・蕪山典子・早川光春・二木靖仁 ……………85

漂着レジンペレットの研究 ……………神沼二真・大竹千代子・蕪山典子 ……………90

各種食品中エラグ酸分析の試料調製法の検討……………天倉吉章・岡田 舞・辻 澄子・外海泰秀 ……………100

研究に関する資料
ヒ素簡易分析装置のパリテーション……………内野 正・徳永裕司・安藤正典 ……………103

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現状
……………中田琴子・中野達也・高井貴子・小峰 啓・神沼二真 ……………107

医薬品および化学物質安全性研究を支援する基盤システム……………神沼二真・中田琴子・中野達也・高井貴子 ……………117

CICAD (国際簡潔評価文書) 計画からわが国の化学物質リスク評価が学ぶこと……………関澤 純 ……………123

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 (1999年度)……………大竹千代子 ……………129

食用青色1号 (ブリリアンブルーFCF) アルミニウムレーキの不適事例について
……………辻 澄子・岡田 舞・天倉吉章・外海泰秀 ……………131

平成11年度における食用タール色素 (アルミニウムレーキを含む) 製品検査より算出した生産量
……………辻 澄子・岡田 舞・天倉吉章・外海泰秀 ……………135

標準品に関する資料

国立医薬品食品衛生研究所塩酸チアミン液標準品 (Control 991)	岩田美保・小出達夫・前川京子・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史	139
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 001)	岩田美保・小出達夫・前川京子・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史	141
国立医薬品食品衛生研究所トコフェロール標準品 (Control 991)	岩田美保・小出達夫・前川京子・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史	144
国立医薬品食品衛生研究所リン酸プレドニゾロンナトリウム標準品 (Control 001)	岩田美保・小出達夫・前川京子・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史	147
国立医薬品食品衛生研究所エストラジオール標準品 (Control 001)	岩田美保・小出達夫・前川京子・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史	151
国立医薬品食品衛生研究所ペパリンナトリウム標準品 (Control 991)	斎藤博幸・岩田美保・前川京子・谷本 剛・岡田敏史	154
国立医薬品食品衛生研究所エンドトキシン 1000 標準品 (Control 0001)	中川ゆかり・前田秀子・村井敏美・堀内善信	156

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 (第二次) (平成9年度～平成11年度)	159
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 (第一次) (平成9年度～平成11年度)	178

国立医薬品食品衛生研究所報告第118号第二部

業務報告	197
平成11年度所外研究員等の受け入れ名簿	246
誌上発表 (原著論文)	250
誌上発表 (総説・解説等)	293
単行本	304
行政報告	307
学会発表	313
レギュラトリーサイエンス関連会議報告	345
衛研例会	360
平成11年度に行なった主な研究課題	363
国家検定及び検査等の処理状況	371
国立医薬品食品衛生研究所標準品	376
国立医薬品食品衛生研究所報告第118号人名索引	384

CONTENTS
Bulletin of National Institute of Health Sciences, No.118, Part 1**Special Report**

Development of Novel Genotoxicity Assays by Genetic Engineering MethodsTakehiko Nohmi1

Reviews

Nitric Oxide (NO) DonorMasayuki Tanno, Shoko Sueyoshi, Naoki Miyata21

Studies on Poisonings and Incidents caused by Chemicals in Japan

.....Miyako Yamamoto, Tsuguchika Kaminuma37

Originals

Teratogenicity Study of 2,2,3,3,3-Pentafluoro-1-propanol(5FP)

.....Makoto Usami, Kazue Sakemi, Hideo Kurebayashi, Yasuo Ohno45

Teratogenicity study of morpholine salts of fatty acids (oleic acid, 50% water solution) in rats by oral administration

.....Kazue Sakemi, Makoto Usami, Hideo Kurebayashi, Yasuo Ohno50

A 90-day Repeated Dose Toxicity Study of Madder Color in F344 Rats: A Preliminary Study for Chronic Toxicity and Carcinogenicity StudiesNaoya Masutomi, Makoto Shibutani, Kazuhiro Toyoda, Naoko Niho, Chikako Uneyama, Masao Hirose55

A 90-day Repeated Dose Oral Toxicity Study of Magnesium Chloride in F344 Rats

.....Tamotsu Takizawa, Kazuo Yasuhara, Kunitoshi Mitsumori, Hiroshi Onodera,
Takatoshi Koujitani, Toru Tamura, Hisayoshi Takagi, Masao Hirose63

Study on the characterizations of genus Curcuma plants On the strains of *C. longa* L. and *C. aromatica* Salisb preserved at Izu station of NIHSOsamu Iida (Mareshige Kohjyouma, Shigeki Katsuki)

Shiho Sakamoto(Sasaki), Tamio Maitani, Takashi Watanabe71

Characteristics of *Papaver somniferum* L. cv. Ikkanshu cultivated in Izu

.....Osamu Iida, Tsutomu Sekine, Osamu Inoue, Kayo Yoshimatsu, Koichiro Shimomura77

Notes

Development of Domain Specific Search Engines

.....Takako Takai, Masahiko Tokunaga, Ken Maeda, Tsuguchika Kaminuma81

Archives of Environmental Health Digital Maps and Their Delivery by the Internet

.....Tsuguchika kaminuma, Noriko Kabuyama, Mitsuharu Hayakawa, Yasuhito Futatsuki85

Distribution and Origin of Plastic Resin Pellets as Environmental Pollutants at the East China sea area

.....Tsuguchika Kaminuma, Chiyoko Ohtake, Noriko Kabuyama90

Studies on Procedure for Sample Preparation of Ellagic Acid in Several Kinds of Foodstuffs

.....Yoshiaki Amakura, Mai Okada, Sumiko Tsuji, Yasuhide Tonogai100

Technical Data

Validation of Simple Analytical Equipment for Arsenic

.....Tadashi Uchino, Hiroshi Tokunaga, Masanori Ando103

The Status of NIHS Information and Computing Infrastructure (NICI)

.....Kotoko Nakata, Tatsuya Nakano, Takako Takai, Kei komine, Tsuguchika Kaminuma107

Development of Research Support Environment for Molecular Pharmacology and Toxicology

.....Tsuguchika Kaminuma, Kotoko Nakata, Tatsuya Nakano, Takako Takai117

What We Can Learn on Risk Assessment of Chemicals from the Concise International Chemical Assessment Document (CICAD) ProjectJun Sekizawa123

First Drafts of the Environmental Health Criteria(EHC)Circulated for Comment by IPCS in 1999.4 ~ 2000.3	Chiyoko Ohtake	129
Studies on Rejected Food Blue No. 1 (Brilliant Blue FCF) Aluminium Lake	Sumiko Tsuji, Mai Okada, Yoshiaki Amakura, Yasuhide Tonogai	131
Estimated Production by the Official Inspection of Coal-Tar Dyes (Including Dye Aluminum Lakes) in Fiscal Year 1999	Sumiko Tsuji, Mai Okada, Yoshiaki Amakura, Yasuhide Tonogai	135
Reference Standard Data		
Thiamine Hydrochloride Solution Reference Standard (Control 991) of National Institute of Health Sciences	Iwata, M., Koide, T., Maekawa, K., Saito, H., Tanimoto, T. and Okada, S	139
Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 001) of National Institute of Health Sciences	Iwata, M., Koide, T., Maekawa, K., Saito, H., Tanimoto, T. and Okada, S	141
Tocopherol Reference Standard (Control 991) of National Institute of Health Sciences	Iwata, M., Koide, T., Maekawa, K., Saito, H., Tanimoto, T. and Okada, S.	144
Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard (Control001)of National Institute of Health Sciences	Iwata, M., Koide, T., Maekawa, K., Saito, H., Tanimoto, T. and Okada, S.	147
Estradiol Reference Standard(Control001)of National Institute of Health Sciences	Iwata, M., Koide, T., Maekawa, K., Saito, H., Tanimoto, T. and Okada, S.	151
Heparin Sodium Reference Standard(Control991)of National Instiute of Health Sciences	Hiroyuki Saito, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Tsuyoshi Tanimoto, Satoshi Okada	154
The Endotoxin 10000 Reference Standard of the National Institute of Heaith Sciences (The Japanese Pharmacopoeia Endotoxin 10000 Reference Standard) (Control 0001)	Yukari Nakagawa, Hideko Maeda, Toshimi Murai, Yosinobu Horiuchi	156
Report of Collaborative Study		
Studies on establishment of rapid and sensitive toxicologic biomarkers in risk assessment		159
The relationship between three dimensional structure and functional activity observed in the chemical compounds on biological system		178
Bulletin of National Instiute of Health Sciences, No.118, Part 2		
Annual Reports of Divisions		197
Researchers' List in Fiscal Year 1999		246
Summaries of Papers Published in Other Journals (Original Papers)		250
Summaries of Papers Published in Other Journals (Review and Articles).....		293
Title of Scientific Books		304
Scientific Reports to Governmental Agencies		307
Titles of Speeches at Scientific Meetings etc		313
Meeting Reports Related to Regulatory Science		345
NIHS Seminars		360
Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 1999		363
Survey of the Results of National Tests		371
Reference Standards Prepared by the National Institute of Health Sciences.....		376
Author Index		384

遺伝子工学的手法を用いた新しい遺伝毒性試験法の開発

国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部
能美健彦

Development of novel genotoxicity assays by genetic engineering methods

Division of Genetics and Mutagenesis
National Institute of Health Sciences
Takehiko Nohmi

Novel genotoxicity assays have been developed to efficiently detect the genotoxicity of various environmental chemicals, and to evaluate the potential hazards to man. *Salmonella typhimurium* strains harboring plasmids carrying the genes encoding drug metabolizing enzymes, such as acetyl Co-A O-acetyltransferase, or the strains lacking DNA repair enzymes, such as O⁶-methylguanine DNA methyltransferase, are highly sensitive to the mutagenicity of particular classes of mutagens. Thus, they are widely used for the efficient detection of genotoxicity of complex mixtures. Transgenic mice, named *gpt* delta, have been established for the detection and molecular analysis of mutations in various organs of rodents induced by chemicals. Future perspective of the genotoxicity assays using genetically engineered organisms is discussed.

Keywords: genotoxicity, complex mixture, *Salmonella typhimurium*, transgenic mouse, risk evaluation

はじめに

疫学的調査によればヒトの癌の発生に大きな影響を与える因子の一つは食品であり、また喫煙であるという。こうした食品やタバコに含まれる化学物質が、ヒトのDNAに作用し発がんにおいて重要な役割を果たしていることは想像に難くない。DNAは「生物の設計図」と呼ばれており、生物の形態や機能、すなわち生命を規定している。化学物質がヒトのDNAに変異を起こすと、遺伝情報の変化は我々の体に不可逆的な変化を与え、変異したDNAは次のDNAを作る鋳型として働く。このことは体細胞や生殖細胞に変異が起これば、遺伝的に異なった性質を持つ新しい細胞集団や個体群が生ずることを意味する。癌や遺伝的疾患の発生には、こうした遺伝情報の変化が重要な役割を果たしている¹⁾。本稿で詳述する遺伝毒性試験（変異原性試験とも呼ぶ）とは、「生物の設計図」であるDNAに対する化学物質の作用を調べる試験であると言えるだろう。

遺伝毒性試験に限らず、毒性試験一般ではさまざまな生物が化学物質の作用を調べるために使われる。しかし、こうした生物の多くは「あるがままの生物」であり、必ずしも試験を実施するために最適化されたものではない。このため、化学物質に対する感受性や、試験法としての迅速性、さらに試験結果をヒトへ外挿する際の根拠などに関し問題が存在する。こうした点を乗り越えることを目的に、遺伝子工学、発生工学の手法を用いて、新しい遺伝毒性試験法が開発されてきた。本稿では、微生物からトランスジェニ

ックマウスまで、さまざまな遺伝的改変を施されたテスターを用いる新しい遺伝毒性検出系・評価系について、研究開発の現状を紹介する。

1. 環境変異原の検出と評価

遺伝毒性試験の中心的なテーマは①環境中に存在する変異原を如何に効率よく検出・同定し②ヒトに対する遺伝的影響あるいは遺伝子に対する作用を科学的に推測・評価することにある。

変異原物質は、文字どおり我々の環境中すべてに存在し、我々は不断に変異原に暴露されながら生活している²⁾。したがって大気や水、食品、生体成分に存在する変異原を迅速・高感度に検出し、その動態を明らかにすることは、遺伝毒性試験の重要な役割の一つである。実際、*Salmonella typhimurium*を用いるエームステストを「生物検出器 (Bio-detector)」として用い、これまでに多数の変異原が検出され、その構造が明らかにされている。迅速・高感度な遺伝毒性試験を用いることにより①大気、河川、食品、ヒトの尿や血液に含まれる変異原の高感度モニタリングが可能となり②変異原・発がん物質の代謝活性化機構の研究や③化学構造と変異原活性との相関に関する研究が進歩した。また、検出された新しい変異原物質を合成して実験動物に長期投与することで、その発がん性との相関が追究された例も少なくない。

一方、新たに市場に出される医薬品、化学工業原料、農

薬、食品添加物などは、見方を変えれば新しい環境変異原、環境発がん物質の供給源でもある。したがって、新しく市場に出される物質の多くは、事前に遺伝毒性試験を実施することが求められている。こうした新規化学物質のヒトDNAに対する作用を予知、予測する、すなわち評価することは遺伝毒性試験のもう一つの重要な役目である。評価を行う場合には、上記の *S. typhimurium* 以外に、哺乳類培養細胞やマウスを用いる試験を組み合わせを行い、その結果から実験動物に対する発がん性やヒトに対する影響を推測する。

2. 微生物を用いる変異原検出系の開発

カリフォルニア大学のエームス博士によって開発された微生物を用いる遺伝毒性試験、いわゆるエームステストは、現在でも最も汎用されている遺伝毒性試験法の一つである³⁾。このテストは、テスターとなる *S. typhimurium* を試験化合物と混ぜて最少培地上でインキュベーションし、*his*⁻ (ヒスチジン要求性) から *His*⁺ (ヒスチジン非要求性) へ復帰変異したコロニー数を計測し、試験化合物の変異原性を調べるというものである。また代謝活性化が必要な場合には、薬物で誘導処理したラットの肝臓から調製したホモジェネート (S9) をいっしょにインキュベーションする。エームステストでは遺伝学的にいろいろと工夫された菌株が使われている。除去修復系の欠損 ($\Delta uvrB$)、膜の変異 (*rfa*)、誤りがちDNA修復蛋白質をコードしたプラスミド (pKM101) の導入などがそれである。「エームステストなどの遺伝毒性試験で実験動物に発がん性を示す物質 (rodent carcinogen) を同定できるか」という問いは古くからあり、現在でも議論の続いている点である^{4,6)}。だがエームステストを用いて環境変異原の単離、同定、モニタリングを行うことに異論は少ない。事実、エームステストを用いて数多くの新しい変異原物質、発がん物質が見いだされてきた。エームステストや *umu* テスト⁷⁾ などの微生物を用いる遺伝毒性試験は、環境変異原の検出の面で重要な役割を果たしている。

我々は「検出系としての微生物遺伝毒性試験の価値」を高めることを目的に、遺伝子工学的手法を用いて新しい *S. typhimurium* テスター株を開発してきた (Table 1)。このうちのいくつかのものについて開発の経緯と応用例を紹介する。

3. ニトロアレーン、芳香族アミンに高感受性を示す *S. typhimurium* テスター株の開発

ニトロアレーン、芳香族アミンは、いずれも代表的な環境変異原のクラスであり、この中には微生物や哺乳類細胞に対し強い変異原性を示す化合物が少なくない。変異原性を示すニトロアレーンとしては2-nitrofluorene (2-NF), 1,8-

dinitropyrene (1,8-diNP) をあげることができる。変異原性を示す芳香族アミンとしては2-acetylaminofluorene (2-AAF), 2-aminonaphthalene, 2-amino-6-methyldipyrido [1, 2- α : 3', 2'-d]imidazole (Glu-P-1) をあげることができる。こうしたニトロアレーンおよび芳香族アミン系の変異原は、大気、水、食品、ヒトの尿などの complex mixture 中に存在している。Complex mixture 中に含まれるニトロアレーンおよび芳香族アミンの変異原性検出には、従来、*S. typhimurium* TA100, TA98 が汎用されてきた。TA100, TA98 は比較的感受性の高い菌株であるが、環境中に実際に存在する微量のニトロアレーン、芳香族アミンの変異原性を検出するためには、通常、大量のサンプルの採取、抽出が不可欠であり、より高い感受性を示すテスター株の開発が望まれていた。

ニトロアレーンはバクテリアの持つニトロ還元酵素により *N*-水酸化体に還元され、その後 *O*-アセチル転移酵素により活性化され、最終的に生じたニトロニウム・イオンがDNAを攻撃するものと考えられている (Fig. 1)。一方、芳

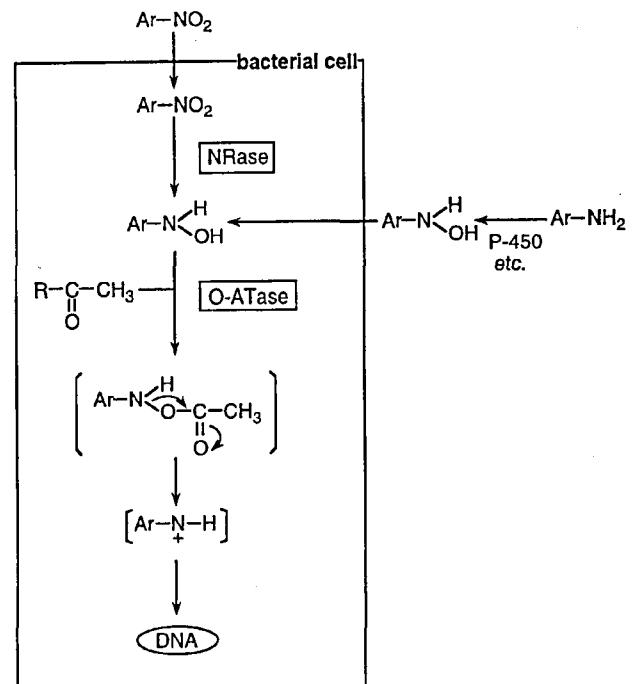


Fig. 1. Metabolic activation pathways of nitroaromatics and aromatic amines in *Salmonella typhimurium*. NRase and O-ATase stand for nitroreductase and O-acetyltransferase, respectively.

香族アミンは微生物細胞の外でS9の中に含まれるCYP酵素 (cytochrome P-450) などの酸化酵素により *N*-水酸化され、その後 *N*-水酸化体が微生物細胞に入ってから、ニトロアレーンと同一の経路を経てDNAに作用する。したがってニトロ還元酵素とアセチル転移酵素はこれら化合物の変異原性発現の律速因子と考えられる。我々は環境中に存在する微量のニトロアレーン、芳香族アミン系変異原の高感受性検出を目的に、*S. typhimurium* のニトロ還元酵素、アセ

Table 1. Bacterial strains and mammalian cell lines

Strain	Description	Reference
<i>Salmonella typhimurium</i>		
YG1021	As TA98 but has pYG216; nitroreductase overproducer	8
YG1026	As TA100 but has pYG216; nitroreductase overproducer	8
YG1024	As TA98 but has pYG219; acetyltransferase overproducer	10
YG1029	As TA100 but has pYG219; acetyltransferase overproducer	10
YG1012	As TA1538/1,8-DNP but has pYG213; acetyltransferase overproducer	146
YG1041	As TA98 but has pYG233; nitroreductase and acetyltransferase overproducer	12
YG1042	As TA100 but has pYG233; nitroreductase and acetyltransferase overproducer	12
YG2975	As TA1975 but has pKM101	147
YG3001	As TA1535 but is deficient in <i>mutM_{ST}</i>	94
YG3002	As TA1975 but is deficient in <i>mutM_{ST}</i>	94
YG3003	As TA102 but is deficient in <i>mutM_{ST}</i>	94
YG7100	As TA1535 but is deficient in <i>ada_{ST}</i>	83
YG7104	As TA1535 but is deficient in <i>ogt_{ST}</i>	83
YG7108	As TA1535 but is deficient in <i>ogt_{ST} ada_{ST}</i>	83
YG7126	As TA100 but is deficient in acetyltransferase gene	148
YG7127	As TA1535 but is deficient in nitroreductase gene	149
YG7130	As TA98 but is deficient in acetyltransferase gene	148
YG7131	As TA1538 but is deficient in nitroreductase gene	149
YG7128	As TA100 but is deficient in nitroreductase gene	149
YG7132	As TA98 but is deficient in nitroreductase gene	149
YG5144	As TA2659 but is deficient in <i>umuDC_{ST}</i> and <i>samAB</i>	150
<i>Escherichia coli</i>		
YG6020	As DH10B but is $\Delta(gpt-proA)62 cre^+$	112
YG5132	As CC104 but is deficient in <i>mutM</i> and <i>mutY</i>	99
YG5152	As SCS-8 but is deficient in <i>ada</i> and <i>ogt</i>	151
Chinese hamster lung (CHL) cell line		
YG10003	As CHL but is expressing acetyltransferase of <i>S. typhimurium</i>	152
YG10007	As CHL but is expressing human NAT1	152
YG10008	As CHL but is expressing human NAT2	152

チル転移酵素遺伝子のクローニングを行い、それぞれの遺伝子を持つプラスミドを従来からエームテストに用いられてきたTA100, TA98へ導入した。

このようにして作製した菌株が YG1021, YG1024,

YG1026, YG1029である (Table 1)。YG1021, YG1026は TA98, TA100に *S. typhimurium* のニトロ還元酵素遺伝子を持つプラスミド pYG216を導入した菌株であり、このプラスミドのためニトロ還元酵素活性が親株に比べ約50倍増大

している^{8,9)}。YG1024, YG1029はTA98,TA100に*S. typhimurium*のアセチル転移酵素遺伝子を持つプラスミドpYG219を導入した菌株であり、このプラスミドのためアセチル転移酵素活性が親株に比べ約100倍増大している¹⁰⁾。30種類以上の様々な構造の化合物につき、これらの株を用いて試験を行いYG1021,YG1026はニトロアレーンを含む芳香族ニトロ化合物に、YG1024, YG1029は芳香族ニトロ、アミノ化合物から生ずる芳香族ヒドロキシルアミノ化合物に対し、特異的に高い感受性を示す菌株であることが明らかにされている¹¹⁾。さらに*S. typhimurium*のニトロ還元酵素とアセチル転移酵素遺伝子の両方を持つプラスミドpYG233をTA98,TA100に導入しYG1041,YG1042を作製した¹²⁾。YG1041,YG1042はTA98,TA100よりも約50倍高いニトロ還元酵素活性を示し、アセチル転移酵素活性も約300倍高い値を示した (Table 1)。これまでに29種類のさまざまな構造を持つ化合物について試験を行い、YG1041,YG1042は変異原性発現のためにニトロ還元酵素とアセチル転移酵素の両方を必要とする芳香族ニトロ化合物に対し、特異的に高い感受性を示すことが明らかにされた。したがってYG1041,YG1042株は complex mixture 中に含まれるニトロアレーンの高感度検出に有効である。

以下に YG1021, YG1024, YG1026, YG1029, YG1041, YG1042を用いて行われた実験例を紹介する (Table 2)。

4. Complex mixture中に含まれるニトロアレーン、芳香族アミンの高感度検出

4.1 大気

Sera ら¹³⁾はチリのサンチャゴ由来の大気粉塵中から新しい変異原3,6-dinitrobenzo[a]pyreneを同定し、その変異原性をアセチル転移酵素活性の異なる*S. typhimurium*株 (TA98, YG1024, TA98/1,8-DNP₆)を用いて試験し、アセチル転移酵素活性の高いYG1024が最も高い感受性を示すことを報告した。また、Sera ら¹⁴⁾は、ニトロ還元酵素、アセチル転移酵素活性の高くなったYG1021, YG1024, YG1026, YG1029を用い、nitrophenanthrene誘導体の変異原性について構造活性相関を検討している。Houk ら¹⁵⁾は東京の大気由来の抽出物について、S9mixによる代謝活性化なしに変異原性を検索し、アセチル転移酵素活性の高いYG1024,YG1029においてより高く変異原性が現れることから、東京の大気の変異原性には芳香族ニトロ化合物の寄与が大きいかを示唆した。Suzuki ら¹⁶⁾は東京の樹木の葉についた変異原を有機溶媒で抽出し、S9mixによる代謝活性化なしにYG1021, YG1024を用いて変異原性を検索した。その結果、従来からの株に比べこれらの株でより高い変異原性が検出されることから、大気中のニトロアレーンの存在を示唆した。東京以外に金沢¹⁷⁾、Mexico City (メキシコ)¹⁸⁾、Bohemia (チェコ)¹⁹⁾、Raleigh (米国)²⁰⁾の大

Table 2. Chemicals whose mutagenicities are detected by genetically-engineered bacterial strains or mammalian cells

1. Urban air, tobacco smoke and indoor air

Mutagen	Source or purpose	Country	Tester strain	Reference
Diesel particle extracts	Diesel exhaust	Japan	YG3003	96
PM-10	Airborne particle	Czech	YG1041	155
4-ABP, 4-AABP	Tobacco smoke	U.S.A.	YG1029	156
Tobacco smoke extracts	Cigarette smoke	U.S.A.	YG1024	171
Extracts of diesel exhaust particles	Diesel exhaust	Japan	YG1024	172
Extracts of airborne particles	Indoor air	Japan	YG1021 YG1024 YG1041 YG1042	21
Volatile organic samples	Outdoor air in Raleigh, North Carolina	U.S.A.	YG1021 YG1026	20
Dichloromethane extract of combustion particulate matter	Diesel exhaust	U.S.A.	YG1021 YG1026	175
Incense smoke condensates	Indoor pollution	Taiwan	YG1024	184
Nitrophenanthrenes	Air pollution	Japan	YG1021 YG1026	14
1-NP, 1,8-diNP, 1,3-diNP, 1,6-diNP	Airborne particles	Japan	YG1024	17
1-NP	Diesel exhaust	The Netherlands	YG1021 YG1024	194
Extracts of urban air	Air samples in Mexico City	Mexico	YG1021 YG1024	18
Extracts of urban air	Air samples in Tokyo	Japan	YG1024 YG1029	15
Extracts of woody plants	Leaves of plants in urban area of Tokyo	Japan	YG1021 YG1024	16
3,6-dinitrobenzo[a]pyrene	Air borne particle	Japan	YG1024	13

2. Drinking water, river water and soil

Mutagen	Source or purpose	Country	Tester strain	Reference
PBTA-1, PBTA-2	River water	Japan	YG1024	30
Soil extracts	Soil contaminated with PAHs	U.S.A.	YG1041 YG1042	161
Soil extracts	Creosote-contaminated soil before and after bioremediation	U.S.A.	YG1041 YG1042	162
1,6-diNP, 1,8-diNP	Soil in Osaka	Japan	YG1021 YG1024	163
Water extracts	Drinking water	Czech	YG1041 YA1042	166
PBTA-2	River water	Japan	YG1024	29
PBTA-1	River water	Japan	YG1024	28
Extracts from industrial effluents and river water	Water pollutants	Czech	YG1021 YG1024 YG1041	25
River water extracts	Water from the Chao Phraya river in Bangkok	Thailand	YG1024	24
Extracts of river water	Samples from Katsura River	Japan	YG1024	23
Extracts of river water	Samples from Katsura River	Japan	YG1021 YG1024	22

3. Food

Mutagen	Source or purpose	Country	Tester strain	Reference
IQ, MeIQ, MeIQx, PhIP, Trp-P-1	Food mutagens	Austria	YG1024	154
Milk extracts	Human milk	U.K.	YG1019	158
8-MeIQx, 4,8-diMeIQx, IQ, AαC, Me AαC, PhIP	Food mutagens	Germany	YG1019	160
PhIP	A food mutagen	U.S.A.	YG1024	183
MTCCA	A component of soy source	Japan	YG1029	187
Extracts of several grain-based coffee-substitute blends and instant coffees	Food	U.S.A.	YG1024 YG1029	192
Imidazonaphthyridines Imidazoquinolines	Food mutagens	U.S.A.	YG1024	193
Heterocyclic amines	Food mutagens	Germany	YG1024	31
7,9-DiMeIgQx	Food mutagens	Japan	YG1024	34
4-CH ₂ OH-8-MeIQx				
7,9-diMeIgQx	A food mutagen	Japan	YG1024	33
4,8-diMeIQx	A food mutagen	Japan	YG1024	32

4. Urine

Mutagen	Source or purpose	Country	Tester strain	Reference
Human urine extracts	Patients treated with ointment containing 2% coal tar	Italy	YG1024	39
Human urine extracts	Humans exposed to the combustion product of liquid petroleum gas	China	YG1021 YG1024	40
Hamburger extracts	24 hour post-meal urine	Italy	YG1024	41
Human urine extracts	Effects of fried-meat consumption	U.S.A.	YG1024	42
Human urine extracts	Antimutagenesis study of Tochu tea	Japan	YG1024	179
Human urine extracts	Women working outdoors in Bohemia	Czech	YG1041	19
Human urine extracts	Humans exposed to benzidine	U.S.A.	YG1024	44
Human urine extracts	Urine of tobacco smokers	U.S.A.	YG1024	38
Human urine extracts	Humans exposed to environmental tobacco smoke	Germany	YG1024	37
Human urine extracts	Antimutagenesis study of <i>N</i> -acetylcysteine	Italy	YG1024	185
Human urine extracts	Workers in a glass factory	Italy	YG1024 YG1029	190
Urine extracts of rats treated with 1-NP and 2-NF	Combustion products	The Netherlands	YG1012 YG1024	207
Urine extracts of rats treated with 2,4,6-trinitrotoluene	Occupational exposure	Finland	YG1021 YG1024	43
Human urine extracts	Smokers' urine	Japan	YG1024 YG1021	35
Cigarette smoke condensates Smokers' urines	Main stream cigarette smoke	Italy	YG1024 YG1029	36
Urine extracts of smokers	Polymorphism of glutathione <i>S</i> -transferase	Finland	YG1024	198

5. Metabolites or metabolic activation

Mutagen	Source or purpose	Country	Tester strain	Reference
PDT-1	An oxidized product of <i>m</i> -phenylenediamine	Japan	YG1024	153
1-NP-3-ol, 1-NP-4-ol, 1-NP-6-ol, 1-NP-8-ol	Urine metabolites of 1-NP	U.S.A.	YG1024	181
B[a]P	Metabolic activation by plant leaves	Thailand	YG1029	57
<i>N</i> -Nitroso compounds	Metabolic activation by human CYP2A6 and 2E1	Japan	YG7108	85
Aminophenylnorharman	A metabolite formed from norharman and aniline	Japan	YG1024	61
2,4-dinitrotoluene, 2,6-dinitrotoluene	Metabolic activation of nitro compounds	Japan	YG1041 YA1042	165
AF	Metabolic activation by green alga	Slovak	YG1024	58
Benzidine, 4-AB	Metabolic activation by plants	U.S.A.	YG1021 YG1024 YG1026 YG1029	56
2,3-diaminophenazine, benzidine phenylenediamines, AF	Metabolic activation by plants	U.S.A.	YG1024	55
<i>m</i> -Phenylenediamine	Metabolic activation by plants	Czech	YG1024	54
Benzidine, 4-ABP	Metabolic activation by plants	U.S.A.	YG1024 YG1029	53
NDP	Metabolite of propranolol	Japan	YG1029 YG1042 YG3003	178
2,3-Diaminophenazine	Metabolic activation by plants	U.S.A.	YG1024	52
2-Amino-3-hydroxyphenazine				
<i>m</i> -phenylenediamine	Metabolic activation by plants	Czech	YG1024	186
2-Acetoxyacetylaminofluorene				
<i>m</i> -Phenylenediamine, AF	Metabolic activation by plants	U.S.A.	YG1024	51
2-AF, 2-AAF	Metabolic activation by hepatoma cell (Hep G2)	Belgium	YG1024	49
IQ	Metabolic activation by cytochrome P-450 1A2 supported by hydrogen peroxide	Canada	YG1012	176
<i>N</i> -Nitrosodialkylamines	Metabolic activation by a model system	Japan	YG7108	86
IQ, Azo-IQ, Nitro-IQ	Metabolic activation by prostaglandin-H synthase	Germany	YG1024	47
AF, Benzidine, <i>m</i> -Phenylenediamine, 4-ABP, 2,4-Diaminotoluene, 2-Naphthylamine	Metabolic activation by plants	U.S.A.	YG1024	50
ABP	Metabolic activation by human uroepithelial cells	U.S.A.	YG1024	201
MeIQx	Metabolic activation by human liver	U.K.	YG1024	48
Anisidine isomers	Metabolic activation of aromatic amines	U.S.A.	YG1024	205
Benzidine	Metabolic activation by prostaglandin H synthase	U.S.A.	YG1012	46
2,4-diaminotoluene	Metabolic activation of aromatic amines	U.S.A.	YG1024	208
2,4-Diaminoanisole	Metabolic activation by prostaglandin H synthase	U.S.A.	YG1006 YG1024	45

6. Antimutagenesis

Mutagen	Source or purpose	Country	Tester strain	Reference
1-NP, B[a]P	Antimutagenesis study of natural phenolic compounds	Mexico	YG1024	159
B[a]P, AF, 2-AA, 4-NQO, MNNG	Antimutagenesis study of flavones	France	YG1041	167
1,6-diNP, 1,8-diNP, 1-NP	Antimutagenesis study of green peppers	Mexico	YG1024	168
Aflatoxin B ₁	Antimutagenesis study of natural xanthophylls	Mexico	YG1024	173
1-NP	Antimutagenesis study of xanthophylls	Mexico	YG1024	177
AF	Antimutagenesis study of aminobenzoic acids	Czech	YG1024	196

7. Pharmaceuticals and herbicides

Mutagen	Source or purpose	Country	Tester strain	Reference
4-nitro-imidazoles and pyrazoles	Antimycotics	Italy	YG1026 YA1029	170
Tinidazole	An antiprotozoal drug	India	YG1029	180
Chlornitrofen, Nitrofen, Chlormethoxynil	Herbicides	Japan	YG1026 YG1029	182
Nitroscanate	An antischistosomal drug	India	YG1024	188
5-Nitro-3-thiophenecarboxanilide	Pharmaceutical	Italy	YG1021 YG1024	189
1-Hydrazinophthalazine	An antihypertensive agent	U.S.A.	YG1029	191
CNP (chlornitrofen), Chlormethoxynil, Bifenox	Herbicides	Japan	YG1021 YG1026	195
Glyceryl trinitrate	Clinical nitrovasodilator	U.S.A.	YG1026	204
Chlorambucil	A chemotherapeutic agent	Japan	YG2975	147
Niclosamide	An anti-helminthic drug	Mexico	YG1021 YG1024	206

8. Strain construction

Mutagen	Source or purpose	Country	Tester strain	Reference
ENU	Transgenic mouse study	Japan	YG5152	151
1-NP, 1,8-diNP, Glu-P-1, PhIP, AF	Construction of strains deficient in <i>O</i> -acetyltransferase	Japan	YG7126 YG7130	148
ENNG, EMS, DMN	Construction of strains deficient in <i>O</i> ⁶ -methylguanine methyltransferase	Japan	YG7104 YG7108	83
Methylene blue plus visible light Neutral red plus visible light Hydrogen peroxide, AF, 4-NQO	Construction of strains deficient in 8-hydroxyguanine DNA glycosylase	Japan	YG3001 YG3002 YG3003	94
Furylfuramide 2-Nitronaphthalene	Construction of strains deficient in classical nitroreductase	Japan	YG7127 YG7131 YG7128 YG7132	149
Ultraviolet light	Construction of strains carrying <i>mucA B</i>	Japan	YG5144	150
ENU, gamma-ray	Development of transgenic mice	Japan	YG6020	112
1-NP, 2-Nitrofluorene	Construction of strains overexpressing nitroreductase and <i>O</i> -acetyltransferase	Japan	YG1041 YG1042	12
1-NP, 1,8-diNP, 2-nitronaphthalene, 2-AA, Glu-P-1	Construction of strains overexpressing <i>O</i> -acetyltransferase	Japan	YG1012 YG1024	146
Aromatic amines Nitroarenes	Validation of strains overexpressing either nitroreductase or <i>O</i> -acetyltransferase	Japan	YG1021 YG1024 YG1026 YG1029	11
Glu-P-1, AF, 2-Nitrofluorene, 1-NP, 1,8-diNP, 2-AA	Construction of strains overexpressing either nitroreductase or <i>O</i> -acetyltransferase	Japan	YG1021 YG1024 YG1026 YG1029	10

9. Miscellaneous

Mutagen	Source or purpose	Country	Tester strain	Reference
Naphtho[2,1- α]pyrene, Naphtho[2,3- α]pyrene	Coal tar	Canada	YG1025	157
AF, 2-Acetoxyacetylaminofluorene	Enhancement by pentachlorophenol	Czech	YG1024	164
1-NP	DNA adducts formation	Japan	YG1021	169
2,4,6-trinitrotoluene	Occupational exposure to 2,4,6-trinitrotoluene	Finland	YG1021 YG1024	174
Fullerene C60	Photoactivation	Japan	YG3003	95
Coal dust and smokeless tobacco extracts	Gastric neoplasia in coal miners	U.S.A.	YG1021 YG1024	197
Nitrites	Model compound	Belgium	YG1024	199
Compounds produced during mild gasification of coal	Safety evaluation of a coal conversion technology	U.S.A.	YG1024	200

2-AA, AF, Glu-P-1, MeIQ	Stability of YG1024 during mutagenicity assays	U.S.A.	YG1021 YG1024 YG1026 YG1029	202
Aristolochic acid I and II	Naturally occurring nitroaromatics	Germany	YG1021 YG1024 YG1026 YG1029	203

2-AA, 2-aminoanthracene; AαC, 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole; 4-AABP, 4-acetylamino-biphenyl; 4-ABP, 4-aminobiphenyl; AF, 2-aminofluorene; Azo-IQ, 2,2'-azo-bis-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline; B[a]P, Benzo[a]pyrene; 4-CH₂OH-8-MeIQx, 2-amino-4-hydroxymethyl-3,8-dimethylimidazo[4,5-g]quinoxaline; Biphenox, 2,4-dichlorophenyl 3-methoxycarbonyl-4-nitrophenyl ether; Chlomethoxynil, 2,4-dichlorophenyl 3-methoxy-4-nitrophenyl ether; CNP (Chlornitrophen), 4-nitrophenyl 2,4,6-trichlorophenyl ether; 4,8-diMeIQx, 2-amino-3,4,8-trimethyl-3H-imidazo[4,5-f]quinoxaline; 7,9-diMeIQx, 2-amino-1,7,9-trimethylimidazo[4,5-g]quinoxaline; 1,3-diNP, 1,3-dinitropyrene; 1,6-diNP, 1,6-dinitropyrene; 1,8-diNP, 1,8-dinitropyrene; DMN, dimethylnitrosamine; EMS, ethyl methanesulfonate; ENNG, N-ethyl-N-nitro-N'-nitrosoguanidine; ENU, ethylnitrosourea; Glu-P-1, 2-amino-6-methyldipyrdo[1,2-α:3', 2'-d]imidazole; IQ, 2-amino-3-methyl-3H-imidazo[4,5-f]quinoline; MeAαC, 2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole; MeIQ, 2-amino-3, 4-dimethyl-3H-imidazo[4,5-f]quinoxaline; MeIQx, 2-amino-3, 8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline; MNNG, N-nitro-N'-nitro-N-nitrosoguanidine; MTCCA, 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydro-beta-carboline-3-carboxylic acid; NDP, 1-amino-3-(1-naphthyl-2-yl)-2-propanol; Nitro-IQ, 3-methyl-2-nitroimidazo[4,5-f]quinoline; 1-NP, 1-nitropyrene; 4-NQO, 4-nitroquinoline N-oxide; PAHs, polycyclic aromatic hydrocarbons; PDT-1, 2-amino-5-[(3-aminophenyl)amino]-4-[(3-aminophenyl)imino]-2,5-cyclohexadien-1-one; PBTA-1, 2-[2-(acetylamino)-4-[bis(2-methoxyethyl)amino]-5-methoxyphenyl]-5-amino-7-bromo-4-chloro-2H-benzotriazole; PBTA-2, 2-[2-(acetylamino)-4-[N-(2-cyanoethyl)ethylamino]-5-methoxyphenyl]-5-amino-7-bromo-4-chloro-2H-benzotriazole; PhIP, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine; Trp-P-1, 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole

気の変異原性が YG1021, YG1024, YG1026, YG1029 を用いて調べられている。YG1041, YG1042 はニトロ還元酵素とアセチル転移酵素活性の両方が上昇しており、ニトロアレーンに対し極めて高い感受性を示す¹²⁾。小型のエアー・サンプラーを用いて室内の空気から試料を採取し、得られた微量の試料について YG1041, YG1042 を用いその変異原性がモニターされている²¹⁾。

4. 2 水

河川水に含まれる変異原の活性を YG1021 や YG1024 を用いて検出する試みが桂川^{22, 23)}, 隅田川²⁴⁾, タイ²⁴⁾, チェコ²⁵⁾で行われている。特に多環芳香族系の変異原を、ブルーレーヨンなどの吸着剤^{26, 27)}を用いて収集し、その変異原性を S9 mix の存在下 YG1024 を用いて調べる方法が汎用されている。Nukaya ら²⁸⁾ および Oguri ら²⁹⁾ は、この手法を用い京都の西高瀬川から新しい変異原 2-[2-(acetylamino)-4-[bis(2-methoxyethyl)amino]-5-methoxyphenyl]-5-amino-7-bromo-4-chloro-2H-benzotriazole (PBTA-1), 2-[2-(acetylamino)-4-[N-(2-cyanoethyl)ethylamino]-5-methoxyphenyl]-5-amino-7-bromo-4-chloro-2H-benzotriazole (PBTA-2) を同定した。PBTA-2 はエームテストを行うと、 μg あたり TA98, YG1024 に S9mix 存在下において 98,000His⁺ 復帰株, 3,200,000His⁺ 復帰株を誘発する。これらの変異原は、川の上流域にある染色工場が使われたアゾ色素が、途中の污水处理場で処理される過程で生ずるものと考えられている^{29, 30)}。

4. 3 食品

焦げた食品中から単離された変異原性ヘテロサイクリックアミンの多くは、S9 mix の存在下で YG1024 に強い変異原性を示す。このため YG1024 は、食品中に含まれる変異原の同定やモニタリングに汎用されている³¹⁾。Beef extract

からブルーレーヨンを用いて変異原を吸着し、その変異原を S9 mix の存在下 YG1024 を用いてモニタリングすることで、新しい変異原 2-amino-4-hydroxymethyl-3,8-dimethylimidazo[4,5-g]quinoxaline (4-CH₂OH-8-MeIQx) と 2-amino-1,7,9-trimethylimidazo[4,5-g] quinoxaline (7,9-DiMeIQx) が同定された^{32, 33)}。4-CH₂OH-8-MeIQx および 7,9-DiMeIQx は、beef extract 1g 中にそれぞれ 6.0 ng, 53 ng 存在している³⁴⁾。エームテストを行うと、4-CH₂OH-8-MeIQx は μg あたり 326,000 His⁺ 復帰株 (YG1024), 99,000 His⁺ 復帰株 (YG98) を誘発し、7,9-DiMeIQx は μg あたり 138,000 His⁺ 復帰株 (YG1024), 670 His⁺ 復帰株 (TA98) を誘発する³⁴⁾。

4. 4 尿

ヒトの尿に含まれる変異原の検索は、ヒトがどのような変異原にどの程度暴露されているかをモニターする簡便かつ迅速な手法である。主に YG1024 (+S9 mix) を用いて、喫煙者³⁵⁻³⁸⁾, コールタールを含む塗布薬で治療を受けた患者³⁹⁾, 液化石油ガスの燃焼物に暴露された労働者⁴⁰⁾, ハンバーガーや揚げた肉を食べたヒト^{41, 42)}, 2,4,6-trinitrotoluene に暴露された労働者⁴³⁾, 高濃度および低濃度の benzidine に暴露された労働者⁴⁴⁾ の尿について変異原性が検索されている。

4. 5 代謝物

芳香族アミン系の変異原をさまざまな方法を用いて *in vitro* で代謝活性化させ、代謝物の変異原性を YG1024 を用いて検出する試みが多数報告されている。Prostaglandin H synthase⁴⁵⁻⁴⁷⁾, ヒト肝臓ホモジェネート⁴⁸⁾, ヒト hepatoma 細胞ホモジェネート⁴⁹⁾, 植物ホモジェネート⁵⁰⁻⁵⁷⁾, 緑藻⁵⁸⁾ が代謝酵素源として用いられている。また YG1024 にヒト

のCYP1A2, NADPH-P450還元酵素の発現プラスミドを導入したテスター株がKamatakiら⁵⁹⁾により作製され、2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (MeIQ), 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ), 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx), 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)の変異原性が親株のTA1538と比較されている。膀胱癌を誘発するanilineはTA98には変異原性を示さないが、S9 mixの存在下でnorharmanと共にインキュベートすると強い変異原性を示すようになる⁶⁰⁾。最近、aniline, norharmanからS9 mix存在下で生ずる変異原性代謝物として9-(4'-aminophenyl)-9H-pyrido[3,4-b]indole (aminophenylnorharman)が同定された⁶¹⁾。AminophenylnorharmanはS9 mix存在下でエームテストを行うと μg あたり1,783,000 His⁺復帰株 (YG1024), 187,000 His⁺復帰株 (TA98)を誘発する。

5. ヒトおよび*S. typhimurium*のアセチル転移酵素を発現する哺乳類細胞

芳香族アミンや芳香族ニトロ化合物に高い感受性を示す*S. typhimurium*の中で発現しているアセチル転移酵素は、バクテリアにのみ存在するわけではなく、ヒトを含む高等生物にも存在する。*S. typhimurium*のアセチル転移酵素はヒトのアセチル転移酵素とアミノ酸配列上の相同性を示し、特にアセチル転移酵素の活性中心部位と考えられる69番目のシステイン残基を含むArg-Gly-Gly-X-Cys配列は高度に保存されている⁶²⁾。ヒトに存在する2種類のアセチル転移酵素NAT1とNAT2はいずれも8番染色体に存在し、アミノ酸配列上の相同性を示すが、その基質特異性は異なっている⁶³⁻⁶⁶⁾。またNAT2については遺伝的多型のあることが古くから知られており、NAT1についても多型のあることが近年明らかにされている⁶⁵⁾。NAT1, NAT2の遺伝的多型については、膀胱癌、直腸・結腸癌、頭頸部の癌、乳癌、肺癌、前立腺癌との関連が論議されている。結核治療薬であるisoniazidに対する個体差は、NAT2の遺伝的多型に依存している⁶⁶⁾。

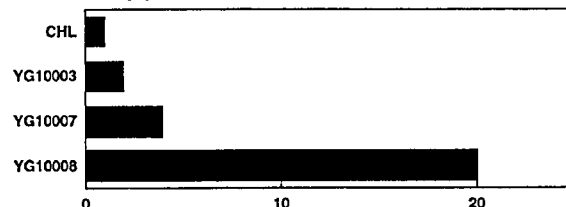
我々はヒトNAT1, NAT2をChinese hamster lung cells (CHL)にトランスフェクトし、ヒトのアセチル転移酵素を安定に発現する形質転換細胞株を樹立した⁹⁾(Table 1)。また*S. typhimurium*のアセチル転移酵素遺伝子を哺乳類細胞用の発現ベクターに連結しCHLへトランスフェクトした。樹立した細胞につき、芳香族ニトロ化合物である1,8-diNP, 2-nitrofluoreneそして芳香族アミンであるIQに対する感受性を*in vitro*小核出現を指標に比較した⁶⁷⁾。

6. アセチル転移酵素の遺伝的多型と発がんリスク

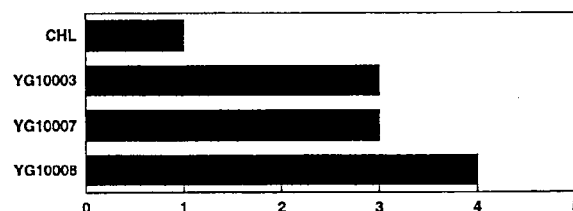
樹立した各細胞は1,8-diNPに対し異なった感受性を示し

た (Fig. 2)。ヒトのNAT2を発現する細胞 (YG10008)は1,8-diNPに対し最も高い感受性を示し、ついでヒトのNAT1 (YG10007), *S. typhimurium*のアセチル転移酵素 (YG10003), 親株のCHLの順であった。2-Nitrofluoreneを

1,8-dinitropyrene



2-nitrofluorene



IQ(+microsome)

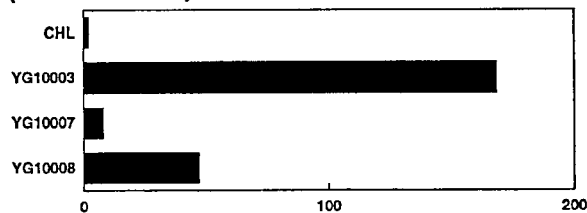


Fig. 2. Relative sensitivities of the sublines of Chinese hamster lung (CHL) cells expressing bacterial and human acetyltransferase against 1,8-dinitropyrene, 2-nitrofluorene and IQ. The clastogenicities were determined by scoring the number of cells with micronuclei among 1000 intact interphase cells. When IQ was tested, the microsomes prepared from the liver of rats pretreated with phenobarbital and 5,6-benzoflavone plus NADPH-generating system were added to the culture. The sensitivity of control CHL is set at 1.0 and the relative sensitivities are presented as bar length. CHL, the parent CHL cells; YG10003, as CHL but expressing *O*-acetyltransferase gene of *S. typhimurium*; YG10007, as CHL but expressing human NAT1 gene; YG10008, as CHL but expressing human NAT2.

用いた場合にも、ヒトのNAT2を発現する株 (YG10008)は、*S. typhimurium*のアセチル転移酵素 (YG10003)や親株のCHLよりも高い感受性を示した。この結果は、ヒトのNAT2が1,8-diNPや2-nitrofluoreneの代謝活性化に関与していることを示唆している。ヒトのNAT2は遺伝的多型を示し個体差が存在することから、今回得られた結果は1,8-diNPや2-nitrofluoreneに対する発癌リスクには個体差が存在する可能性を示唆している。芳香族アミンについては、NAT2の遺伝的多型と膀胱癌、直腸・結腸癌との間に関連のあることが疫学的に示唆されている⁶⁵⁾。ニトロアレーン

に対する発癌リスクの個体差と NAT2 アセチル転移酵素の遺伝的多型との関連については、今後さらに検討する必要がある。

芳香族アミンである IQ に対する感受性を、誘導処理したラットのミクロソーム存在下で調べると、*S. typhimurium* のアセチル転移酵素を発現する YG10003 が最も高い感受性を示した (Fig. 2)。ついでヒトの NAT2 (YG10008) およびヒトの NAT1 (YG10007) そして親株の CHL の順であった。この結果はバクテリアのアセチル転移酵素が、ヒトのアセチル転移酵素よりも IQ に対し高い代謝活性化能を持っていることを示唆している。*S. typhimurium* のアセチル転移酵素を発現する YG10003 は 1,8-diNP, 2-nitrofluorene に対しては感受性が低かったことから、YG10003 が IQ に対し高い感受性を示すのは、単にアセチル転移酵素の発現量が高いためではなく、3種類のアセチル転移酵素の基質特異性を反映しているものと考えられる。IQ は長期投与するとラットの大腸に癌を誘発するほか、トランスジェニックマウスに投与すると colon に変異を誘発する^{68, 69}。*S. typhimurium* は大腸菌の近縁のバクテリアであり、そのゲノム配列は大腸菌と約 80% 相同であることが知られている。したがって大腸菌や他の腸内細菌もアセチル転移酵素を持つ可能性がある。大腸菌のアセチル転移酵素については、最近、精製標品の性質が明らかにされた⁷⁰。今回得られた結果は、腸内細菌の持つアセチル転移酵素が、IQ の代謝活性化に関与している可能性を示唆している。

ヒトの NAT1, NAT2 を発現する CHL を用いて PhIP の変異原性が試験されている⁷¹。また、ヒトの CYP1A2 あるいは CYP3A7 をヒトのアセチル転移酵素とともに発現させる CHL が構築されている^{72, 73}。Chinese hamster ovary cell (CHO) を基にして、除去修復能を欠いた UV5P3 細胞にヒトの CYP1A2 と NAT2 あるいは *S. typhimurium* のアセチル転移酵素を発現させる細胞株が樹立されている⁷⁴。こうしたヒトの代謝酵素を発現する細胞株は、遺伝毒性試験の結果をヒトへ外挿する際に、重要な役割を果たすものと期待されている。

7. アルキル化剤に高感受性を示す *S. typhimurium* テスター株の開発

メチル化剤、エチル化剤などのアルキル化剤は、重要な環境変異原のグループであり、この中には実験動物に対し発がん性を示すものが少なくない。メチル化剤による DNA 損傷のうちで、変異の誘発に最も重要な役割を果たしているのが *O*⁶-methylguanine である。*O*⁶-methylguanine は、多くの場合 *O*⁶-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT) によって修復され、この DNA 修復酵素はバクテリアからヒトまで広く存在している⁷⁵。

大腸菌は 2 種類の MGMT, Ada と Ogt を持っている。

Ada 蛋白は分子量 39kDa で、*O*⁶-methylguanine のほか *O*⁴-methylthymine, methylphosphotriester の修復を行い、その発現は低濃度のメチル化剤処理により誘導される⁷⁶。これに対し Ogt は分子量 19kDa の蛋白質で *O*⁶-methylguanine, *O*⁴-methylthymine の修復は行うが methylphosphotriester の修復は行えず、その発現は誘導されない点で Ada とは異なっている。また Ogt はエチル化剤による DNA 損傷を Ada よりも効率よく修復する⁷⁷。

我々は *S. typhimurium* の *ada* 遺伝子 (*ada*_{ST})、*ogt* 遺伝子 (*ogt*_{ST}) の一方あるいは両方を特異的に破壊すれば、アルキル化剤に高感受性を示す *S. typhimurium* テスター株ができるものと考え、*ada*_{ST}, *ogt*_{ST} のクローニングと遺伝子破壊を行った。*ada*_{ST} 遺伝子は、大腸菌の *ada* 遺伝子と塩基配列レベルで約 70% の相同性を示し、分子量約 39kDa の蛋白質をコードしていた⁷⁸。この *S. typhimurium* の Ada 蛋白質が実際に *O*⁶-methylguanine や methylphosphotriester の修復を行うことは英国の B. Sedgwick らにより明らかにされた⁷⁹。クローニングした遺伝子をもとに、相同的組換えを利用して *S. typhimurium* ゲノム上の *ada*_{ST} 遺伝子の破壊を行った。

S. typhimurium の *ada*_{ST} 遺伝子欠損株 (YG7100) は、大腸菌の *ada* 遺伝子欠損株と同様、*N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) の致死作用に対して高い感受性を示した⁸⁰。MNNG の突然変異誘発作用に関しては、大腸菌の *ada* 欠損株が親株よりも約 10 倍高かったのに対し、*S. typhimurium* の *ada*_{ST} 欠損株の場合には親株である TA1535 とほぼ同様の感受性を示したにすぎなかった。この結果から、大腸菌とは異なり *S. typhimurium* の場合には、Ada よりも Ogt が MNNG による変異誘発作用から細胞を守っているものと考え、*ogt*_{ST} 遺伝子の破壊を行った。

S. typhimurium の *ogt*_{ST} 遺伝子は、大腸菌の *ogt* 遺伝子とヌクレオチド配列上で 77% の相同性を示し、分子量 19kDa の蛋白質をコードしていた⁸¹。クローニングした *ogt*_{ST} 遺伝子を基に相同的組換えを用いてゲノム上の *ogt*_{ST} 遺伝子を破壊した。*S. typhimurium* TA1535 の *ogt*_{ST} 遺伝子破壊株を YG7104, *ada*_{ST}, *ogt*_{ST} 破壊株を YG7108 と命名した (Table 1)。YG7104, YG7108 はアルキル鎖長の異なる MNNG, *N*-ethyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (ENNG), *N*-propyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (PNNG), *N*-butyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (BNNG) に対し、親株である TA1535 よりも高い感受性を示した (Fig. 3)。*ogt*_{ST} 欠損株では、親株が閾値を示す低い濃度から誘発復帰株数の増加が観察された^{81, 82}。これまでに 15 種類のさまざまなアルキル化剤について感受性の比較が行われ、TA1535 の *ogt*_{ST} 欠損株である YG7104, *ada*_{ST}, *ogt*_{ST} 二重欠損株である YG7108 は、ethylmethane sulfonate (EMS), dimethylnitrosamine (DMN) など各種アルキル化剤に高感受性を示すことが明らかにされている⁸³。Ethylene oxide ガス滅菌したプレートを用いて YG7108 の変異テストを行うと、残留している微量の ethyl-

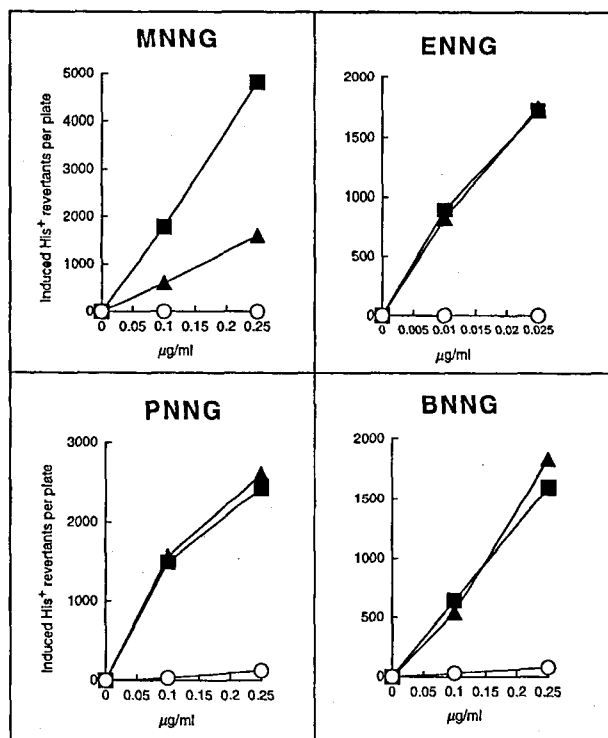


Fig. 3. Sensitivities of *Salmonella typhimurium* strain TA1535 and its derivatives against alkylating agents. Closed square, *S. typhimurium* YG7108 deficient in *adaST* and *ogtST*; closed triangle, *S. typhimurium* YG7104 deficient in *ogtST*; open circle, *S. typhimurium* TA1535.

ene oxide ガスのために「自然突然変異」がきわめて高くなる。このため YG7108 を用いるテストでは、ガンマー線滅菌したプレートを用いることが必須である。Kushida ら^{84, 85)} は、YG7108 にヒト CYP2E1 と cytochrome P-450 reductase あるいは CYP2A6 と cytochrome P-450 reductase を発現させ各種 *N*-nitrosamine の変異原性を調べることで、CYP2E1 は比較的アルキル鎖長の短い *N*-nitrosamine の代謝活性化に関与し、CYP2A6 はアルキル鎖長の長い *N*-nitrosamine の代謝的活性化に関与していることを示した。また Okochi ら⁸⁶⁾ は、*N*-nitrosodialkylamine の cytochrome P-450 モデル系による代謝活性化について、YG7108 に対する変異原性を指標に検討を行っている。

8. 活性酸素種に高感受性を示す *S. typhimurium* テスター株の開発

活性酸素は bleomycin, paraquat, hydrogen peroxide などの化学物質や電離放射線で細胞を処理した時に生ずるほか、内因性的変異原として正常な代謝過程でも生ずる。活性酸素により生ずる修飾塩基は数十以上あるが、その中で生物学的作用が詳しく研究されているものの一つに 8-oxoguanine (8-oxoG) がある⁸⁷⁾。8-oxoG は DNA 複製の際に cytosine 以外に adenine と対合を作るため G:C から T:A への

transversion 変異の原因となる⁸⁸⁾。このため細胞は 8-oxoG によって起こる突然変異を抑制するためいくつかの DNA 修復系を備えており⁸⁹⁾、その代表的な修復酵素が 8-oxoG DNA glycosylase である。8-oxoG DNA glycosylase は cytosine と対合した 8-oxoG を、その glycosylase 活性により切り出し、さらに脱塩基部分の 5'側と 3'側の DNA 鎖に切れ込みを入れる lyase 活性も有している⁹⁰⁻⁹²⁾。DNA 鎖に切断が起きた後は、脱リン酸化酵素、DNA polymerase、DNA ligase の作用により無傷の DNA に修復される。8-oxoG DNA glycosylase は、大腸菌では *mutM* 遺伝子にコードされており、*mutM* 株は内因性的酸化的損傷により自然突然変異が高くなった株 (mutator) である⁹³⁾。

我々は活性酸素を増産する変異原に対し特異的に高い感受性を示す *S. typhimurium* 株を開発することを目的に、*S. typhimurium* の *mutM* 遺伝子 (*mutM_{ST}*) のクローニングならびに遺伝子破壊株の作製を行った⁹⁴⁾。*mutM_{ST}* 遺伝子は、大腸菌の *mutM* 遺伝子とヌクレオチド配列上の同一性を示し、分子量 30.2kDa の蛋白をコードしていた。クローニングした *mutM_{ST}* 遺伝子を基に相同的組換えを用いてゲノム上の *mutM_{ST}* 遺伝子を破壊した。*S. typhimurium* TA1535 の *mutM_{ST}* 遺伝子破壊株を YG3001、TA1975 の *mutM_{ST}* 遺伝子破壊株を YG3002、TA102 の *mutM_{ST}* 遺伝子破壊株を YG3003 と命名した (Table 1)。YG3001 は methylene blue + visible light, neutral red + visible light, 2-nitrofluorene に対し親株の TA1535 よりも 2-8 倍高い感受性を示した。YG3002 は 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO) に対し親株 TA1975 よりも 30 倍以上高い感受性を示した。YG3003 は hydrogen peroxide に対し親株 TA102 よりも約 2 倍高い感受性を示した。YG3003 は fullerene C60 + visible light, diesel particle extracts の変異原性検出にも利用されている^{95, 96)}。

9. ヒト DNA 修復酵素 OGG1 の遺伝的多型と発がんリスク

8-oxoG DNA glycosylase 活性がヒトを含む真核生物にも検出されることから、ヒトの 8-oxoG DNA glycosylase をコードする遺伝子 *hOGG1* の探索が進められ、1997 年にその遺伝子がクローニングされた⁹⁷⁻¹⁰¹⁾。ヒトの OGG1 蛋白質は大腸菌の MutM とはアミノ酸配列上の同一性を示さないが、酵母の Ogg1 蛋白質とは 37% の同一性を示し、マウスの Ogg1 とは 84% 同一性を示す。ヒトの *hOGG1* は第 3 染色体の短腕 3p26 に位置し、7 つのエクソンからなる¹⁰²⁾。*hOgg1* は cytosine と対合した 8-oxoG を glycosylase 活性により切り出し、さらに脱塩基部分の DNA 鎖を切断する lyase 活性を有している。

ヒトの *hOGG1* には遺伝的多型が存在しており、ヒトの集団中には 326 番目のアミノ酸に serin を持つ *hOGG1-Ser³²⁶* と、cystein を持つ *hOGG1-Cys³²⁶* が存在する¹⁰³⁾。日本人の

健常者84名, 肺癌患者90名について調べた結果では, いずれの場合も Ser³²⁶:Cys³²⁶の比はほぼ3:2であると報告されている. hOGG1-Ser³²⁶およびhOGG1-Cys³²⁶の酸化的突然変異に対する抑制能を調べるため, 内因性の酸化的DNA損傷により自然突然変異がきわめて高くなった大腸菌 YG5132 (*mutM*, *mutY*) に, hOGG1-Ser³²⁶およびhOGG1-Cys³²⁶を glutathion S-transferase (GST) 融合蛋白質として大腸菌で発現させるプラスミド (GST-hOGG1-Ser³²⁶, GST-hOGG1-Cys³²⁶) を導入し, その自然突然変異抑制能を比較した¹⁰³⁾. どちらのプラスミドも YG5132の高い自然突然変異を効率良く抑制したが, hOGG1-Cys³²⁶の方がhOGG1-Ser³²⁶に比べ抑制する能力は低かった (Fig. 4). しかし,

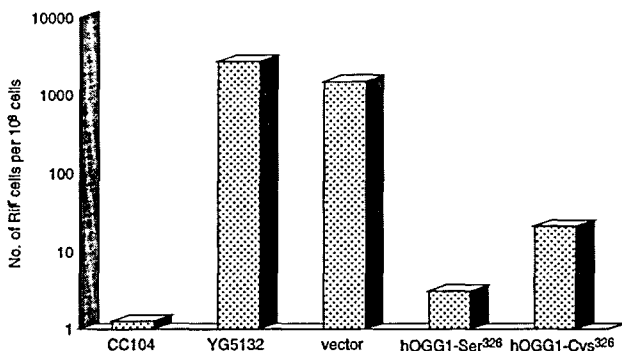


Fig. 4. Complementation of an *Escherichia coli* YG5132 with hOGG1-overexpressing plasmids. Strain YG5132 is a *mutM mutY* double mutant of *E. coli* CC104.

生化学的な活性測定の結果では, hOGG1-Ser³²⁶とhOGG1-Cys³²⁶の間に顕著な差異は見いだされていない¹⁰⁴⁾. hOGG1遺伝子の多型については, 沖縄において男性の肺癌患者を対象に疫学的な調査が行われ, Cys/Cysのalleleを持つヒトはCys/SerあるいはSer/Serのヒトに比べ, squamous cell carcinomaとnon-adenocarcinomaに関しリスクが高いと報告されている¹⁰⁵⁾. hOGG1の遺伝的多型あるいは発現量の多寡と発がんリスクとの関係については, さらに詳細な研究が行われることが期待される.

10. トランスジェニックマウスを用いた遺伝毒性評価系の開発

化学物質のヒトに対するリスクを評価するためには, 微生物や哺乳類培養細胞だけではなく, 動物個体を用いた遺伝毒性検出系が重要である. 近年, 大腸菌やファージの遺伝子をレポーター遺伝子として組み込んだトランスジェニックマウスを用いて遺伝子突然変異を検出し, 変異を分子レベルで解析することが可能になりつつある. これらのマウスでは全ての細胞にレポーター遺伝子を持っており, 原理的には全臓器・全組織を対象に遺伝毒性の検索を行うことが可能である. このことは, 試験物質の臓器特異性や,

標的臓器における発がんと変異の関係, さらに加齢や生殖細胞への影響などを考慮した遺伝毒性評価を可能にする点で意義が大きい. 現在商業的に入手できるトランスジェニックマウスには大腸菌 *lacZ* 遺伝子をレポーターとする MutaTM mouse¹⁰⁶⁾, *lacI* 遺伝子をレポーターとする Big Blue^R mouse¹⁰⁷⁻¹⁰⁹⁾ がある. しかし, 既存のトランスジェニックマウス突然変異検出系は必ずしも普及しているとは言えない. 原因としては, 変異体の検出や変異部位の同定に要するコストや労力の問題や, 放射線等で誘発される欠失変異の検出に効果的な系がないなどの点が挙げられる^{110, 111)}. 我々はこうした点を克服することを目的に, λ EG10DNAを組み込んだ新しいトランスジェニックマウス *gpt delta*を開発した¹¹²⁾. このマウスは, 2つの検出法によって異なるタイプの突然変異を効率よくポジティブセレクションできる点に特徴がある. すなわち①大腸菌 *gpt* 遺伝子をレポーターとする 6-thioguanine (6-TG) セレクションでは, 主に点突然変異 (塩基置換変異とフレームシフト) を検出し, ②λファージの *red/gam* 遺伝子をレポーターとする Spi-セレクションでは, 主に欠失変異を検出する.

新しいトランスジェニックマウスを開発するため, トランスジーンとしてマウス受精卵へ導入する新規なλファージ (λ EG10) DNA を作製した (Fig. 5). λ EG10は点突然

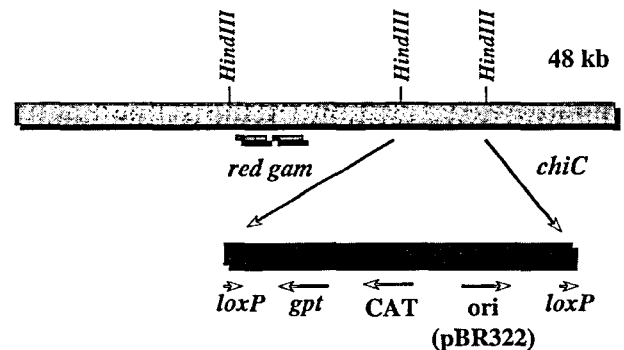


Fig. 5. Schematic representation of λEG10 DNA used to generate transgenic mouse. *gpt* and CAT stand for *E. coli gpt* and chloramphenicol acetyltransferase genes, respectively.

変異の検出に用いる大腸菌 *gpt* 遺伝子と欠失変異検出用の標的遺伝子であるλファージ *red/gam* 遺伝子を持つλファージである. このファージDNAは, λ 2001DNAの *HindIII* 部位に直線状にしたプラスミドDNAを挿入して作製した. プラスミドDNA領域は2つの *loxP* 配列に囲まれており, この中にはchloramphenicol耐性遺伝子 (CAT), 大腸菌 *gpt* 遺伝子, pBR322由来の複製開始部位 (*ori*) が含まれている. λ EG10 DNAをマイクロインジェクション法により C57BL/6J マウス受精卵に導入し, トランスジェニックマウス産仔を得た¹¹²⁾. サザンブロット法により導入遺伝子コピー数を概算したところ, ハプロイドあたりの導入コピー数は約80コピーと算出された. 現在 *gpt delta*として汎用さ

れているマウスは、C57BL/6Jマウス由来の系統をホモ化したもので、両方の17番染色体にトランスジーンが挿入されている¹¹³⁾。

10.1 6-Thioguanin 選択法を用いた点突然変異の検出

大腸菌 *gpt* 遺伝子は、purine サルベージ回路に関わる guanine phosphoribosyltransferase をコードしている。この酵素はグアニンのフォスホリボシル化を触媒し、グアニンのDNAへの取り込みに関与しているほか、6-TGを基質とするため、野生型の *gpt* 遺伝子を持つ大腸菌は6-TGを含む培地上で生育することが出来ず、*gpt* 遺伝子に変異を持った大腸菌のみが6-TGを含む寒天培地上で生育できる。このため *gpt* 遺伝子をレポーター遺伝子に用いると、多数の野生型株の中から変異体のみを選択するポジティブ・セレクションが可能である。大腸菌 *gpt* 遺伝子はコード領域が456 bpと小さいためシーケンス解析による変異の同定も容易である。このため大腸菌、*S. typhimurium* あるいは培養細胞の系でも突然変異検出のレポーター遺伝子として用いられてきた。同一のレポーター遺伝子を用いて *in vitro* と *in vivo* で化学物質の遺伝毒性を検索することは意義あるものと考え、大腸菌 *gpt* 遺伝子を点突然変異検出のレポーター遺伝子として用いることとした。

実験方法の概略を Fig. 6 に示す。変異原で処理したマウ

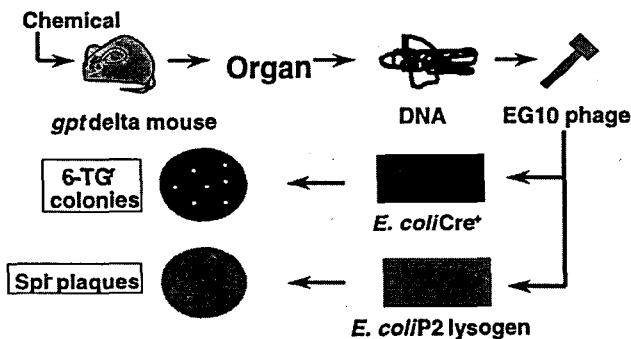


Fig. 6. A protocol of *gpt* delta transgenic mouse mutagenicity assay. After treatment with a chemical, genomic DNAs are extracted from various organs and the transgene λ EG10 is rescued as phage particles by *in vitro* packaging reactions. For 6-thioguanine (6-TG) selection, *E. coli* YG6020 expressing Cre recombinase is infected with the rescued λ EG10. The phage DNA is converted to plasmid DNA by cre-loxP site specific recombination. The *E. coli* cells harboring the plasmids carrying the mutant *gpt* gene can be identified as colonies on plates containing chloramphenicol and 6-TG. For Spi⁻ selection, P2 lysogen is infected with the rescued phages and the deficient in *red* and *gam* can be identified as Spi⁻ plaques.

スから組織DNAを抽出し、 λ ファージ *in vitro* パッケージング反応によってトランスジーン λ EG10 をファージ粒子として回収する。回収したファージを Cre 組み換え酵素を

発現している大腸菌 YG6020 株に感染させると、 λ EG10 上にある *loxP* 配列に挟まれた領域が Cre 組み換え酵素によって切り出され、プラスミドに転換する。感染後の YG6020 菌液を 6-TG と chloramphenicol (Cm) を含む M9 寒天培地にまいて 37°C で培養すると、プラスミド上の *gpt* 遺伝子が不活化している変異体のみが 6-TG を含む寒天培地上でコロニーを形成する。また、Cm を含む M9 寒天培地にまいて生じたコロニー数から、感染ファージ由来のプラスミドによる形質転換効率が求められる。従って、変異コロニー数を形質転換コロニー数で除して突然変異体頻度を算出する。

マウスの背部を除毛して UVB (0.3, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 kJ/m²) を照射し、4 週間後に屠殺して、表皮と真皮について *gpt* 遺伝子突然変異体頻度 (MF) を測定した¹¹⁴⁾。UVB 照射量 0.3 kJ/m² および 0.5 kJ/m² で比較すると、表皮の MF が非照射群の 9 倍以上に達したのに対し、真皮の MF は 2-3 倍であり、表皮が真皮よりも UVB の変異作用に対し、高い感受性を示すことが示された。表皮由来の *gpt* 変異体について自動シーケンサーを用いて変異部位の同定を行うと、変異の多くは 5'-TC-3', 5'-CC-3' などの dipyrimidine 部位で起きた G:C から A:T への transition 変異であった。CC から TT への tandem transition 変異も観察された。Dipyrimidine 部位には、UVB 照射により cyclobutane pyrimidine dimer (CPD) や pyrimidine-(6,4)-pyrimidone photoproducts (6,4-PP) が形成されることが知られている¹¹⁵⁾。このことから今回観察された変異には、CPD や 6,4-PP が関与していることが示唆された。Dipyrimidine 部位での G:C から A:T への transition 変異や CC から TT への tandem transition 変異は、non-melanoma skin cancer の *p53* 遺伝子に起きた変異としても報告されている¹¹⁶⁻¹¹⁹⁾。一方、無処理群においては G:C から T:A への transversion や、CpG 部位での G:C から A:T への transition 変異が多く観察され、これらは DNA の酸化的損傷や 5-methylcytosine の脱アミノ化が *gpt* 遺伝子で見られる自然突然変異に寄与していることを示している¹²⁰⁾。大腸菌でおこる *gpt* 遺伝子の自然突然変異で高頻度にみられる ISI の挿入は、今回無処理マウスから回収した *gpt* 変異体では全く観察されておらず、このことは *gpt* 遺伝子上の突然変異がマウス個体内で固定されていることを示唆している。

10.2 Spi⁻ selection による欠失突然変異の検出

トランスジェニックマウス *gpt* delta は Spi⁻ セレクションを用いて欠失変異を検出できる点の特徴の一つである。トランスジーン λ EG10 には *red/gam* 遺伝子および *chi* 配列が存在する。野生型の λ ファージが大腸菌に感染すると、 λ ファージは大腸菌の細胞内で複製して子ファージを作り、最終的には大腸菌を溶菌させ溶菌斑 (プラーク) を生ずる。これに対し大腸菌の染色体上に P2 ファージの DNA

が挿入されたP2溶原菌では、野生型の λ ファージが感染してもプラークを生じない。この野生型 λ ファージのP2溶原菌に対する表現型をSpi⁺ (sensitive to P2 interference)と呼ぶ。一方、*red/gam* 両遺伝子機能が不活化している変異体ファージはP2溶原菌に対してもプラークを形成することができる (Spi⁻)。Spi⁻表現型は*red/gam* 両遺伝子機能の不活化によりもたらされるため、Spi⁻変異体は主に欠失型の変異を持つと考えられる。*red, gam* 遺伝子にそれぞれ独立した点突然変異が同時に生じる確率は非常に低いと考えられるためである。Spi⁻セレクションが検出できる欠失変異の大きさは*in vitro* パッケージングを阻害しない範囲 (約10 kb) が上限と考えられるが、 λ EG10がマウスゲノム上にタンデムに挿入されていることから、複数のユニットにまたがった大きな欠失変異も原理的には検出可能と思われる。

Spi⁻セレクションの実験方法の概略をFig. 6に示した。*in vitro* パッケージングによって λ EG10を回収する段階までは6-TGセレクションと共通である。回収されたファージをP2溶原菌に感染させた後、37℃で一晩培養し、Spi⁻変異体プラークを得る。また、非溶原菌に感染させると全ファージが溶菌してプラークを作るので、ファージの回収効率が求められる。従って、変異プラーク数を回収ファージ数で除して突然変異体頻度が算出される。

λ EG10を導入したトランスジェニックマウスに γ 線5, 10, 50 Gyを照射し、3日後に臓器を回収したところ、脾臓におけるSpi⁻突然変異頻度はそれぞれ 0.7×10^{-5} , 1.2×10^{-5} , 2.0×10^{-5} であり、明らかな上昇が認められた^{112, 121)}。照射マウス由来のSpi⁻変異体について欠失部位を解析したところ、最大で約9 kbに及ぶ様々な大きさの欠失変異が同定された。UVB処理したマウスの表皮についてもSpi⁻セレクションを用いて欠失変異の解析を行ったところ、UVBドーズ 0.5 kJ/m^2 においてSpi⁻MFは、非照射群よりも顕著に上昇し、1kb以上の大きな欠失は非照射群に比べ10倍以上増大した。 γ 線照射や紫外線照射により誘発された大きな欠失変異体の多くは、連結部位に1-8塩基対の短い相同な配列を持っているか、まったく相同性を示さない配列間で連結していることが多かった。このためSpi⁻変異の多くは、二重鎖切断を起こしたDNA末端同士が非相同的組換えにより連結して生じたものと考えられる。

10. 3 トランスジェニック遺伝毒性試験の今後

*p53*遺伝子や*APC*遺伝子のように発がん過程に直接関わる遺伝子の変異を同定することは、発がんの機構を考える上で重要な情報を提供する。だが癌の誘発には数ヶ月以上の期間を要し、発がん以前の段階で*p53*や*APC*の変異を検出することは多くの場合困難である。トランスジェニック遺伝毒性試験では、導入したレポーター遺伝子を大腸菌に回収し変異体を検出・解析するため、比較的短期間に変異

を定量的に解析することが可能である。しかも全臓器を解析の対象としているため、脳や生殖細胞など従来突然変異の解析が困難であった臓器でも変異を検出し分子レベルで解析することが可能となった。

今回開発した*gpr delta*マウスは、同一の臓器について2つの検出法により点突然変異 (塩基置換, フレームシフト) と欠失変異を効率良く検出する。このマウスを用いては、紫外線照射, γ 線照射以外に、加熱食品中に含まれるヘテロサイクリックアミンや, ethylnitrosourea, mitomycin Cなどにより誘発される突然変異の解析が進められている^{113, 122, 123)}。またマウスの8-oxoG DNA glycosylaseをコードするMmh/Ogg1ノックアウトマウスとの交配により、生体内で生ずる内因性の酸化的損傷に基づく変異の検出・解析にも用いられている¹²⁴⁾。

今後はDNA修復酵素遺伝子を欠損したノックアウトマウスやヒト代謝酵素を発現するトランスジェニックマウスとの交配を通じて、化学物質の遺伝毒性発現あるいは抑制にどのような遺伝子が重要な役割を果たしているのかを*in vivo*で明らかにする研究が進むと予想される。特にSpi⁻セレクションは、非相同的組換えに基づく欠失変異を検出するユニークな検出系であり、DNA鎖の切断と再結合の過程がどのように進むのかを*in vivo*において研究する際に有効である。また、トランスジェニックマウスを用いて発がん試験を行うことにより、発がんと変異の関係をより詳細に検討することが可能である。発がん試験をはじめ毒性試験においてはラットがより広範に使われている。こうした点からすると、同一のレポーター遺伝子を導入したトランスジェニックラットの開発は重要である。また、水圏での化学物質による変異作用を解析するという意味では、トランスジェニック Zebra fish¹²⁵⁾の樹立は興味ある課題である。

おわりに

以上、微生物からトランスジェニックマウスまで、遺伝的改変を加えた遺伝毒性試験用テスターの開発とその応用例について紹介した。先に記したように遺伝毒性試験の目的の一つは、化学物質のヒト遺伝子に対する安全性を予測・評価する点にある。未知の事象を予測するという意味では、火山の噴火や地震の予知、また天気予報などと共通するところがあるかもしれない。だが安全性の予知の場合、予測対象となるヒトは実験動物とは異なり遺伝的に不均一であり、個々人の遺伝的素因の違いは、さらに生活習慣や食生活によって影響を受けていることが予想される。またヒトは低濃度の化学物質に複数暴露されながら生活しており、この点でも動物実験モデルとは異なっている。そしてテスターとして用いられる実験動物には種差、系統差のあることが知られており、動物実験の結果を直接ヒトへ当て

はめることを困難にしている。したがって、今後、遺伝毒性試験を開発して行く際には①ヒトの個体差や②低濃度・複合暴露をどのようにして予測の中に取り込むかと言うことが重要であろう。またテスターとして用いる③動物の種差、系統差をどのようにして克服するかという点も、今後の重要課題である。

本稿で取り上げたアセチル転移酵素遺伝子 (NAT1, NAT2) や *hOGGI* 遺伝子で見られる遺伝子多型は、化学物質に対するヒトの個体差を考える上で重要な因子である。NAT2に関しては人種ごとに rapid acetylator の比率が異なることが知られており、個体差だけではなく人種差・民族差にも遺伝的多型は関連しているかもしれない¹²⁶⁾。だが NAT や CYP など薬物代謝酵素遺伝子の多型に比べ、DNA 修復酵素遺伝子や発がん (抑制) 遺伝子に関する多型の研究は緒についたばかりであると言える¹²⁷⁾。今後、世界的な single nucleotide polymorphism (SNP) 探索の深まりと共に、薬物代謝酵素以外の遺伝子についても SNP 情報が集積され、毒性あるいは発がん感受性との関係が明らかになることが望まれる。米国環境保健研究所 (National Institute of Environmental Health Sciences) では、こうした視点から Environmental genome project

(<http://www.niehs.nih.gov/envgenom/>) の名の下に遺伝的多型と個体差との関係を大規模に解析しようとしている。またゲノムプロジェクトやマウス分子遺伝学の進展に伴い、実験動物の種差、系統差の遺伝学的根拠が分子レベルで明らかにされることが期待される。こうした知見は、毒性試験に関して適切な動物種 (あるいは系統) を選択する場合や、異種遺伝子を導入した細胞やトランスジェニックマウス・ラットを用いる安全性試験に科学的根拠を提供することとなる。またノックアウトマウスと交配した突然変異検出用マウスは、変異原の閾値の研究に新しい可能性を開くかもしれない。

最後に、今後重要になると思われる遺伝毒性分野のトピックスの一つを紹介する。化学物質や紫外線で起こる突然変異の多くは、DNA に付加体が形成されることによって始められる¹¹⁵⁾。染色体の複製を行う DNA ポリメラーゼの多くは、DNA 上の付加体を乗り越えることができず、損傷部位で複製を停止する。だが、一部の複製は付加物を乗り越えて進み、その際に複製エラー (塩基配列変化) が起こる。複製エラーにより生じた DNA 配列は、次の複製の際に鋳型として働き、「正しい」塩基対合を持った二重鎖 DNA が作られ、最初に起きたエラーは固定され突然変異が起こる。この損傷部位を越えて進む DNA 複製は translesion DNA synthesis (TLS) と呼ばれ、突然変異誘発において重要な役割を果たしていると考えられている。最近、TLS に関わる新規な DNA ポリメラーゼが、バクテリアからヒトまで広範な生物種で見いだされた^{128,129)}。興味深いことに、大腸菌に 2 種類存在する TLS 型の DNA ポリメ

ラーゼ (DNA polymerase IV, V)¹³⁰⁻¹³⁴⁾ は、ヒトで見いだされた 4 種類の TLS 型 DNA polymerase¹³⁵⁻¹⁴⁵⁾ と共通する機能領域 (ドメイン) を有している。ヒトの TLS 型 DNA polymerase の 1 つは、紫外線に高発がん性を示す遺伝病 Xeroderma pigmentosum variant (XP-V) の原因遺伝子であることが明らかにされている^{140,143)}。これらの DNA polymerase は突然変異の機構研究のみならず、変異や発がんの個体差や抑制法を考える上で重要な因子となることが予想される。TLS 型の DNA polymerase がヒトの突然変異誘発において果たす役割については、今後さらに検討する必要がある。

謝 辞

ここで紹介した研究の多くは、国立医薬品食品衛生研究所変異遺伝部において行ったものであり、石館基元部長、祖父尼俊雄前部長をはじめ共同研究を賜った方々にお礼申し上げます。またヒト *hOGGI* 遺伝子に関する研究は、国立がんセンター研究所生物学部 (横田淳部長) との共同研究であり、トランスジェニックマウスの開発は、北里大学池田日出男教授、中外製薬鈴木宏志博士、チリ大学加藤基恵博士をはじめ多数の研究者との共同研究である。トランスジェニックマウスの UVB 照射に関する研究は、東北大学医学部小野哲也教授、池畑広伸博士との共同研究である。

文 献

- 1) Kinzler, K. W. and Vogelstein, B.: *Cell*, **87**, 159-170 (1996)
- 2) Sugimura, T., Nagao, M. and Wakabayashi, K.: *Mutat. Res.*, **447**, 15-25 (2000)
- 3) Maron, D. M. and Ames, B. N.: *Mutat. Res.*, **113**, 173-215 (1983)
- 4) Ashby, J. and Tennant, R. W.: *Mutat. Res.*, **257**, 229-306 (1991)
- 5) Zeiger, E., Ashby, J., Bakale, G., Enslein, K., Klopman, G. and Rosenkranz, H. S.: *Mutagenesis*, **11**, 471-484 (1996)
- 6) Zeiger, E.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **35**, 82-85 (2000)
- 7) Oda, Y., Nakamura, S., Oki, I., Kato, T. and Shinagawa, H.: *Mutat. Res.*, **147**, 219-229 (1985)
- 8) Watanabe, M., Ishidate, M., Jr. and Nohmi, T.: *Mutat. Res.*, **216**, 211-220 (1989)
- 9) Watanabe, M., Nohmi, T. and Ishidate, M., Jr.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **147**, 974-979 (1987)
- 10) Watanabe, M., Ishidate, M., Jr. and Nohmi, T.: *Mutat. Res.*, **234**, 337-348 (1990)
- 11) Einisto, P., Watanabe, M., Ishidate, M., Jr. and Nohmi, T.: *Mutat. Res.*, **259**, 95-102 (1991)
- 12) Hagiwara, Y., Watanabe, M., Oda, Y., Sofuni, T. and Nohmi, T.: *Mutat. Res.*, **291**, 171-180 (1993)
- 13) Sera, N., Kai, M., Horikawa, K., Fukuhara, K., Miyata, N. and Tokiwa, H.: *Mutat. Res.*, **263**, 27-32 (1991)

- 14) Sera, N., Fukuhara, K., Miyata, N. and Tokiwa, H.: *Mutat. Res.*, **349**, 137-144 (1996)
- 15) Houk, V. S., Goto, S., Endo, O., Claxton, L. D., Lewtas, J. and Matsushita, H.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **20**, 19-28 (1992)
- 16) Suzuki, J., Kuwayama, K. and Suzuki, S.: *Mutat. Res.*, **271**, 89-96 (1992)
- 17) Hayakawa, K., Kawaguchi, Y., Murahashi, T. and Miyazaki, M.: *Mutat. Res.*, **348**, 57-61 (1995)
- 18) Espinosa-Aguirre, J. J., Reyes, R. E., Rubio, J., Ostrosky-Wegman, P. and Martinez, G.: *Mutat. Res.*, **303**, 55-61 (1993)
- 19) Cerna, M., Pastorkova, A., Myers, S. R., Rossner, P. and Binkova, B.: *Mutat. Res.*, **391**, 99-110 (1997)
- 20) de Pollok, F. S., Aneja, V. P., Hughes, T. J. and Claxton, L. D.: *Chemosphere.*, **35**, 879-893 (1997)
- 21) Azuma, S., Kishino, S., Katayama, S., Akahori, Y. and Matsushita, H.: *Mutagenesis*, **12**, 373-377 (1997)
- 22) Sayato, Y., Nakamuro, K., Ueno, H. and Goto, R.: *Mutat. Res.*, **242**, 313-317 (1990)
- 23) Sayato, Y., Nakamuro, K., Ueno, H. and Goto, R.: *Mutat. Res.*, **300**, 207-213 (1993)
- 24) Kusamran, W. R., Wakabayashi, K., Oguri, A., Tepsuwan, A., Nagao, M. and Sugimura, T.: *Mutat. Res.*, **325**, 99-104 (1994)
- 25) Cerna, M., Pastorkova, A., Smid, J., Bavorova, H., Ocadlikova, D., Rossner, P. and Zavadil, J.: *Toxicol. Lett.*, **88**, 191-197 (1996)
- 26) Hayatsu, H.: *Yakugaku. Zasshi.*, **120**, 534-547 (2000)
- 27) Sakamoto, H., Ohe, T., Hayatsu, T. and Hayatsu, H.: *Mutat. Res.*, **371**, 79-85 (1996)
- 28) Nukaya, H., Yamashita, J., Tsuji, K., Terao, Y., Ohe, T., Sawanishi, H., Katsuhara, T., Kiyokawa, K., Tezuka, M., Oguri, A., Sugimura, T. and Wakabayashi, K.: *Chem. Res. Toxicol.*, **10**, 1061-1066 (1997)
- 29) Oguri, A., Shiozawa, T., Terao, Y., Nukaya, H., Yamashita, J., Ohe, T., Sawanishi, H., Katsuhara, T., Sugimura, T. and Wakabayashi, K.: *Chem. Res. Toxicol.*, **11**, 1195-1200 (1998)
- 30) Ohe, T., Takeuchi, N., Watanabe, T., Tada, A., Nukaya, H., Terao, Y., Sawanishi, H., Hirayama, T., Sugimura, T. and Wakabayashi, K.: *Environ. Health. Perspect.*, **107**, 701-704 (1999)
- 31) Wild, D.: *Z. Ernährungswiss.*, **34**, 22-26 (1995)
- 32) Kim, I. S., Wakabayashi, K., Kurosaka, R., Yamaizumi, Z., Jinno, F., Koyota, S., Tada, A., Nukaya, H., Takahashi, M. and Sugimura, T.: *Carcinogenesis*, **15**, 21-26 (1994)
- 33) Nukaya, H., Koyota, S., Jinno, F., Ishida, H., Wakabayashi, K., Kurosaka, R., Kim, I. S., Yamaizumi, Z., Ushiyama, H. and Sugimura, T.: *Carcinogenesis*, **15**, 1151-1154 (1994)
- 34) Wakabayashi, K., Kim, I. S., Kurosaka, R., Yamaizumi, Z., Ushiyama, H., Takahashi, M., Koyota, S., Tada, A., Nukaya, H. and Goto, S.: *Princess. Takamatsu. Symp.*, **23**, 39-49 (1995)
- 35) Einisto, P., Nohmi, T., Watanabe, M. and Ishidate, M., Jr.: *Mutat. Res.*, **245**, 87-92 (1990)
- 36) De Flora, S., Balansky, R., Gasparini, L. and Camoirano, A.: *Mutagenesis*, **10**, 47-52 (1995)
- 37) Scherer, G., Doolittle, D. J., Ruppert, T., Meger-Kossien, I., Riedel, K., Tricker, A. R. and Adlkofer, F.: *Mutat. Res.*, **368**, 195-204 (1996)
- 38) Smith, C. J., McKarns, S. C., Davis, R. A., Livingston, S. D., Bombick, B. R., Avalos, J. T., Morgan, W. T. and Doolittle, D. J.: *Mutat. Res.*, **361**, 1-9 (1996)
- 39) Gabbani, G., Pavanello, S., Nardini, B., Tognato, O., Bordin, A., Fornasa, C. V., Bezze, G. and Clonfero, E.: *Mutat. Res.*, **440**, 27-33 (1999)
- 40) Yin, X. J., Liu, J. Z., Kong, X. H., Chu, J. H., Wang, H. and Xiao, Z. X.: *Biomed. Environ. Sci.*, **11**, 251-257 (1998)
- 41) Gabbani, G., Nardini, B., Bordin, A., Pavanello, S., Janni, L., Celotti, L. and Clonfero, E.: *Mutagenesis*, **13**, 187-191 (1998)
- 42) DeMarini, D. M., Hastings, S. B., Brooks, L. R., Eischen, B. T., Bell, D. A., Watson, M. A., Felton, J. S., Sandler, R. and Kohlmeier, L.: *Mutat. Res.*, **381**, 83-96 (1997)
- 43) Einisto, P.: *Mutat. Res.*, **262**, 167-169 (1991)
- 44) DeMarini, D. M., Brooks, L. R., Bhatnagar, V. K., Hayes, R. B., Eischen, B. T., Shelton, M. L., Zenser, T. V., Talaska, G., Kashyap, S. K., Dosemeci, M., Kashyap, R., Parikh, D. J., Lakshmi, V., Hsu, F., Davis, B. B., Jaeger, M. and Rothman, N.: *Carcinogenesis*, **18**, 981-988 (1997)
- 45) Pan, Y. H., Reddy, G. R. and Reed, G. A.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **19**, 201-208 (1992)
- 46) Smith, B. J., DeBruin, L., Josephy, P. D. and Eling, T. E.: *Chem. Res. Toxicol.*, **5**, 431-439 (1992)
- 47) Wolz, E., Wild, D. and Degen, G. H.: *Arch. Toxicol.*, **69**, 171-179 (1995)
- 48) Rich, K. J., Murray, B. P., Lewis, I., Rendell, N. B., Davies, D. S., Gooderham, N. J. and Boobis, A. R.: *Carcinogenesis*, **13**, 2221-2226 (1992)
- 49) Duverger-van Bogaert, M., Dierickx, P. J. and Crutzen, M. C.: *Mutat. Res.*, **335**, 219-227 (1995)
- 50) Wagner, E. D., Smith, S. R., Xin, H. and Plewa, M. J.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **23**, 64-69 (1994)
- 51) Plewa, M. J., Wagner, E. D., Yu, T. W. and Anderson, D.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **26**, 171-177 (1995)
- 52) Wagner, E. D., Cebulska-Wasilewska, A., Connolly, S. and Plewa, M. J.: *Mutat. Res.*, **372**, 65-74 (1996)
- 53) Ju, Y. H. and Plewa, M. J.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **29**, 81-90 (1997)
- 54) Stavreva, D. A., Wagner, E. D., Plewa, M. J. and Gichner, T.: *Mutat. Res.*, **379**, 191-199 (1997)
- 55) Wagner, E. D., Repetny, K., Tan, J. S., Gichner, T. and Plewa, M. J.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **30**, 312-320 (1997)
- 56) Ju, Y. H. and Plewa, M. J.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **30**, 330-338 (1997)
- 57) Tepsuwan, A., Kupradinun, P. and Kusamran, W. R.: *Mutat. Res.*, **428**, 363-373 (1999)

- 58) Miadokova, E., Vlckova, V., Podstavkova, S., Slaninova, M. and Vlcek, D.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **31**, 383-389 (1998)
- 59) Kamataki, T., Suzuki, A., Kushida, H., Iwata, H., Watanabe, M., Nohmi, T. and Fujita, K.: *Cancer Lett.*, **143**, 113-116 (1999)
- 60) Nagao, M., Yahagi, T. and Sugimura, T.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **83**, 373-378 (1978)
- 61) Totsuka, Y., Hada, N., Matsumoto, K., Kawahara, N., Murakami, Y., Yokoyama, Y., Sugimura, T. and Wakabayashi, K.: *Carcinogenesis*, **19**, 1995-2000 (1998)
- 62) Watanabe, M., Sofuni, T. and Nohmi, T.: *J. Biol. Chem.*, **267**, 8429-8436 (1992)
- 63) Brockton, N., Little, J., Sharp, L. and Cotton, S. C.: *Am. J. Epidemiol.*, **151**, 846-861 (2000)
- 64) Millikan, R. C.: *Cancer Epidemiol. Biomarkers. Prev.*, **9**, 217-219 (2000)
- 65) Hein, D. W., Doll, M. A., Fretland, A. J., Leff, M. A., Webb, S. J., Xiao, G. H., Devanaboyina, U. S., Nangju, N. A. and Feng, Y.: *Cancer Epidemiol. Biomarkers. Prev.*, **9**, 29-42 (2000)
- 66) Grant, D. M., Hughes, N. C., Janezic, S. A., Goodfellow, G. H., Chen, H. J., Gaedigk, A., Yu, V. L. and Grewal, R.: *Mutat. Res.*, **376**, 61-70 (1997)
- 67) Matsuoka, A., Yamazaki, N., Suzuki, T., Hayashi, M. and Sofuni, T.: *Mutat. Res.*, **272**, 223-236 (1992)
- 68) Bol, S. A., Horlbeck, J., Markovic, J., de Boer, J. G., Turesky, R. J. and Constable, A.: *Carcinogenesis*, **21**, 1-6 (2000)
- 69) Wakabayashi, K., Nagao, M., Esumi, H. and Sugimura, T.: *Cancer Res.*, **52**, 2092s-2098s (1992)
- 70) Yamamura, E. T., Sayama, M., Kakikawa, M., Mori, M., Taketo, A. and Kodaira, K. I.: *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.*, **1475**, 10-16 (2000)
- 71) Otsuka, C., Miura, K. F. and Ishidate, M., Jr.: *Mutat. Res.*, **371**, 23-28 (1996)
- 72) Yanagawa, Y., Sawada, M., Deguchi, T., Gonzalez, F. J. and Kamataki, T.: *Cancer Res.*, **54**, 3422-3427 (1994)
- 73) Hashimoto, H., Yanagawa, Y., Sawada, M., Itoh, S., Deguchi, T. and Kamataki, T.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **320**, 323-329 (1995)
- 74) Wu, R. W., Tucker, J. D., Sorensen, K. J., Thompson, L. H. and Felton, J. S.: *Mutat. Res.*, **390**, 93-103 (1997)
- 75) Sekiguchi, M., Nakabeppu, Y., Sakumi, K. and Tuzuki, T.: *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **122**, 199-206 (1996)
- 76) Lindahl, T., Sedgwick, B., Sekiguchi, M. and Nakabeppu, Y.: *Annu. Rev. Biochem.*, **57**, 133-157 (1988)
- 77) Margison, G. P., Cooper, D. P. and Potter, P. M.: *Mutat. Res.*, **233**, 15-21 (1990)
- 78) Hakura, A., Morimoto, K., Sofuni, T. and Nohmi, T.: *J. Bacteriol.*, **173**, 3663-3672 (1991)
- 79) Vaughan, P. and Sedgwick, B.: *J. Bacteriol.*, **173**, 3656-3662 (1991)
- 80) Yamada, M., Hakura, A., Sofuni, T. and Nohmi, T.: *J. Bacteriol.*, **175**, 5539-5547 (1993)
- 81) Yamada, M., Sedgwick, B., Sofuni, T. and Nohmi, T.: *J. Bacteriol.*, **177**, 1511-1519 (1995)
- 82) Sofuni, T., Hayashi, M., Nohmi, T., Matsuoka, A., Yamada, M. and Kamata, E.: *Mutat. Res.*, **464**, 97-104 (2000)
- 83) Yamada, M., Matsui, K., Sofuni, T. and Nohmi, T.: *Mutat. Res.*, **381**, 15-24 (1997)
- 84) Kushida, H., Fujita, K., Suzuki, A., Yamada, M., Endo, T., Nohmi, T. and Kamataki, T.: *Carcinogenesis*, **21**, 1227-1232 (2000)
- 85) Kamataki, T., Nunoya, K., Sakai, Y., Kushida, H. and Fujita, K.: *Mutat. Res.*, **428**, 125-130 (1999)
- 86) Okochi, E., Namai, E., Ito, K. and Mochizuki, M.: *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 49-52 (1995)
- 87) Kasai, H. and Nishimura, S.: *Nucleic Acids Symp. Ser.*, **165-167** (1983)
- 88) Kasai, H., Chung, M. H., Jones, D. S., Inoue, H., Ishikawa, H., Kamiya, H., Ohtsuka, E. and Nishimura, S.: *J. Toxicol. Sci.*, **16** Suppl 1, 95-105 (1991)
- 89) Michaels, M. L. and Miller, J. H.: *J. Bacteriol.*, **174**, 6321-6325 (1992)
- 90) Tchou, J., Kasai, H., Shibutani, S., Chung, M. H., Laval, J., Grollman, A. P. and Nishimura, S.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **88**, 4690-4694 (1991)
- 91) Boiteux, S., O'Connor, T. R., Lederer, F., Gouyette, A. and Laval, J.: *J. Biol. Chem.*, **265**, 3916-3922 (1990)
- 92) O'Connor, T. R. and Laval, J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **86**, 5222-5226 (1989)
- 93) Michaels, M. L., Pham, L., Cruz, C. and Miller, J. H.: *Nucleic Acids Res.*, **19**, 3629-3632 (1991)
- 94) Suzuki, M., Matsui, K., Yamada, M., Kasai, H., Sofuni, T. and Nohmi, T.: *Mutat. Res.*, **393**, 233-246 (1997)
- 95) Sera, N., Tokiwa, H. and Miyata, N.: *Carcinogenesis*, **17**, 2163-2169 (1996)
- 96) Tokiwa, H., Sera, N., Nakanishi, Y. and Sagai, M.: *Free. Radic. Biol. Med.*, **27**, 1251-1258 (1999)
- 97) Radicella, J. P., Dherin, C., Desmaze, C., Fox, M. S. and Boiteux, S.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **94**, 8010-8015 (1997)
- 98) Rosenquist, T. A., Zharkov, D. O. and Grollman, A. P.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **94**, 7429-7434 (1997)
- 99) Arai, K., Morishita, K., Shinmura, K., Kohno, T., Kim, S. R., Nohmi, T., Taniwaki, M., Ohwada, S. and Yokota, J.: *Oncogene*, **14**, 2857-2861 (1997)
- 100) Lu, R., Nash, H. M. and Verdine, G. L.: *Curr. Biol.*, **7**, 397-407 (1997)
- 101) Aburatani, H., Hippo, Y., Ishida, T., Takashima, R., Matsuba, C., Kodama, T., Takao, M., Yasui, A., Yamamoto, K. and Asano, M.: *Cancer Res.*, **57**, 2151-2156 (1997)
- 102) Tani, M., Shinmura, K., Kohno, T., Shiroishi, T., Wakana, S., Kim, S. R., Nohmi, T., Kasai, H., Takenoshita, S., Nagamachi, Y. and Yokota, J.: *Mamm. Genome.*, **9**, 32-37 (1998)
- 103) Kohno, T., Shinmura, K., Tosaka, M., Tani, M., Kim, S. R., Sugimura, H., Nohmi, T., Kasai, H. and Yokota, J.: *Oncogene*, **16**, 3219-3225 (1998)

- 104) Dherin, C., Radicella, J. P., Dizdaroglu, M. and Boiteux, S.: *Nucleic Acids Res.*, **27**, 4001-4007 (1999)
- 105) Sugimura, H., Kohno, T., Wakai, K., Nagura, K., Genka, K., Igarashi, H., Morris, B. J., Baba, S., Ohno, Y., Gao, C., Li, Z., Wang, J., Takezaki, T., Tajima, K., Varga, T., Sawaguchi, T., Lum, J. K., Martinson, J. J., Tsugane, S., Iwamasa, T., Shinmura, K. and Yokota, J.: *Cancer Epidemiol. Biomarkers. Prev.*, **8**, 669-674 (1999)
- 106) Gossen, J. A., de Leeuw, W. J., Tan, C. H., Zwarthoff, E. C., Berends, F., Lohman, P. H., Knook, D. L. and Vijg, J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **86**, 7971-7975 (1989)
- 107) Kohler, S. W., Provost, G. S., Kretz, P. L., Fieck, A., Sorge, J. A. and Short, J. M.: *Genet. Anal. Tech. Appl.*, **7**, 212-218 (1990)
- 108) Kohler, S. W., Provost, G. S., Fieck, A., Kretz, P. L., Bullock, W. O., Sorge, J. A., Putman, D. L. and Short, J. M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **88**, 7958-7962 (1991)
- 109) Kohler, S. W., Provost, G. S., Fieck, A., Kretz, P. L., Bullock, W. O., Sorge, J. A., Putman, D. L. and Short, J. M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **88**, 7958-7962 (1991)
- 110) Suzuki, T., Hayashi, M., Sofuni, T. and Myhr, B. C.: *Mutat. Res.*, **285**, 219-224 (1993)
- 111) Tao, K. S., Urlando, C. and Heddle, J. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **90**, 10681-10685 (1993)
- 112) Nohmi, T., Katoh, M., Suzuki, H., Matsui, M., Yamada, M., Watanabe, M., Suzuki, M., Horiya, N., Ueda, O., Shibuya, T., Ikeda, H. and Sofuni, T.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **28**, 465-470 (1996)
- 113) Masumura, K., Matsui, M., Katoh, M., Horiya, N., Ueda, O., Tanabe, H., Yamada, M., Suzuki, H., Sofuni, T. and Nohmi, T.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **34**, 1-8 (1999)
- 114) Horiguchi, M., Masumura, K., Ikehata, H., Ono, T., Kanke, Y., Sofuni, T. and Nohmi, T.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **34**, 72-79 (1999)
- 115) Friedberg, E. C., Walker, G. C. and Siede, W.: DNA repair and mutagenesis, ASM Press, Washington D.C., pp. 1-697 (1995)
- 116) Ziegler, A., Leffell, D. J., Kunala, S., Sharma, H. W., Gailani, M., Simon, J. A., Halperin, A. J., Baden, H. P., Shapiro, P. E. and Bale, A. E.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **90**, 4216-4220 (1993)
- 117) Brash, D. E., Rudolph, J. A., Simon, J. A., Lin, A., McKenna, G. J., Baden, H. P., Halperin, A. J. and Ponten, J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **88**, 10124-10128 (1991)
- 118) Dumaz, N., van Kranen, H. J., de Vries, A., Berg, R. J., Wester, P. W., van Kreijl, C. F., Sarasin, A., Daya-Grosjean, L. and de Gruijl, F. R.: *Carcinogenesis*, **18**, 897-904 (1997)
- 119) Dumaz, N., Stary, A., Soussi, T., Daya-Grosjean, L. and Sarasin, A.: *Mutat. Res.*, **307**, 375-386 (1994)
- 120) de Boer, J. G., Provost, S., Gorelick, N., Tindall, K. and Glickman, B. W.: *Mutagenesis*, **13**, 109-114 (1998)
- 121) Nohmi, T., Suzuki, M., Masumura, K., Yamada, M., Matsui, K., Ueda, O., Suzuki, H., Katoh, M., Ikeda, H. and Sofuni, T.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **34**, 9-15 (1999)
- 122) Masumura, K., Matsui, K., Yamada, M., Horiguchi, M., Ishida, K., Watanabe, M., Ueda, O., Suzuki, H., Kanke, Y., Tindall, K. R., Wakabayashi, K., Sofuni, T. and Nohmi, T.: *Cancer Lett.*, **143**, 241-244 (1999)
- 123) Okada, N., Masumura, K., Nohmi, T. and Yajima, N.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **34**, 106-111 (1999)
- 124) Minowa, O., Arai, T., Hirano, M., Monden, Y., Nakai, S., Fukuda, M., Itoh, M., Takano, H., Hippou, Y., Aburatani, H., Masumura, K., Nohmi, T., Nishimura, S. and Noda, T.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **97**, 4156-4161 (2000)
- 125) Amanuma, K., Takeda, H., Amanuma, H. and Aoki, Y.: *Nat. Biotechnol.*, **18**, 62-65 (2000)
- 126) Weber, W. W.: *Mol. Diagn.*, **4**, 299-307 (1999)
- 127) Hulla, J. E., Miller, M. S., Taylor, J. A., Hein, D. W., Furlong, C. E., Omiecinski, C. J. and Kunkel, T. A.: *Toxicol. Sci.*, **47**, 135-143 (1999)
- 128) Friedberg, E. C. and Gerlach, V. L.: *Cell*, **98**, 413-416 (1999)
- 129) Johnson, R. E., Washington, M. T., Prakash, S. and Prakash, L.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 12224-12226 (1999)
- 130) Wagner, J., Gruz, P., Kim, S. R., Yamada, M., Matsui, K., Fuchs, R. P. and Nohmi, T.: *Mol. Cell*, **4**, 281-286 (1999)
- 131) Tang, M., Shen, X., Frank, E. G., O'Donnell, M., Woodgate, R. and Goodman, M. F.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96**, 8919-8924 (1999)
- 132) Tang, M., Pham, P., Shen, X., Taylor, J. S., O'Donnell, M., Woodgate, R. and Goodman, M. F.: *Nature*, **404**, 1014-1018 (2000)
- 133) Reuven, N. B., Arad, G., Maor-Shoshani, A. and Livneh, Z.: *J. Biol. Chem.*, **274**, 31763-31766 (1999)
- 134) Maor-Shoshani, A., Reuven, N. B., Tomer, G. and Livneh, Z.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **97**, 565-570 (2000)
- 135) Lin, W., Wu, X. and Wang, Z.: *Mutat. Res.*, **433**, 89-98 (1999)
- 136) Lin, W., Xin, H., Zhang, Y., Wu, X., Yuan, F. and Wang, Z.: *Nucleic Acids Res.*, **27**, 4468-4475 (1999)
- 137) Masutani, C., Kusumoto, R., Iwai, S. and Hanaoka, F.: *EMBO J.*, **19**, 3100-3109 (2000)
- 138) Matsuda, T., Bebenek, K., Masutani, C., Hanaoka, F. and Kunkel, T. A.: *Nature*, **404**, 1011-1013 (2000)
- 139) Masutani, C., Araki, M., Yamada, A., Kusumoto, R., Nogimori, T., Maekawa, T., Iwai, S. and Hanaoka, F.: *EMBO J.*, **18**, 3491-3501 (1999)
- 140) Masutani, C., Kusumoto, R., Yamada, A., Dohmae, N., Yokoi, M., Yuasa, M., Araki, M., Iwai, S., Takio, K. and Hanaoka, F.: *Nature*, **399**, 700-704 (1999)
- 141) Ogi, T., Kato, T., Jr., Kato, T. and Ohmori, H.: *Genes Cells.*, **4**, 607-618 (1999)
- 142) Gerlach, V. L., Aravind, L., Gotway, G., Schultz, R. A., Koonin, E. V. and Friedberg, E. C.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96**, 11922-11927 (1999)
- 143) Johnson, R. E., Kondratyck, C. M., Prakash, S. and Prakash, L.: *Science*, **285**, 263-265 (1999)
- 144) Johnson, R. E., Prakash, S. and Prakash, L.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 3838-3843 (2000)
- 145) Johnson, R. E., Washington, M. T., Prakash, S. and

- Prakash, L.: *J. Biol. Chem.*, **275**, 7447-7450 (2000)
- 146) Watanabe, M., Sofuni, T. and Nohmi, T.: *Mutat. Res.*, **301**, 7-12 (1993)
- 147) Yamada, M., Sofuni, T. and Nohmi, T.: *Mutat. Res.*, **283**, 29-33 (1992)
- 148) Espinosa-Aguirre, J. J., Yamada, M., Matsui, K., Watanabe, M., Sofuni, T. and Nohmi, T.: *Mutat. Res.*, **439**, 159-169 (1999)
- 149) Yamada, M., Espinosa-Aguirre, J. J., Watanabe, M., Matsui, K., Sofuni, T. and Nohmi, T.: *Mutat. Res.*, **375**, 9-17 (1997)
- 150) Gruz, P., Matsui, K., Sofuni, T. and Nohmi, T.: *Mutat. Res.*, **354**, 157-170 (1996)
- 151) Sui, H., Suzuki, M., Yamada, M., Hara, T., Kawakami, K., Shibuya, T., Nohmi, T. and Sofuni, T.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **34**, 221-226 (1999)
- 152) Watanabe, M., Matsuoka, A., Yamazaki, N., Hayashi, M., Deguchi, T., Nohmi, T. and Sofuni, T.: *Cancer Res.*, **54**, 1672-1677 (1994)
- 153) Kami, H., Watanabe, T., Takemura, S., Kameda, Y. and Hirayama, T.: *Chem. Res. Toxicol.*, **13**, 165-169 (2000)
- 154) Knasmuller, S., Schwab, C. E., Land, S. J., Wang, C. Y., Sanyal, R., Kundi, M., Parzefall, W. and Darroudi, F.: *Mutagenesis*, **14**, 533-540 (1999)
- 155) Cerna, M., Pastorkova, A., Vrbikova, V., Smid, J. and Rossner, P.: *Mutat. Res.*, **444**, 373-386 (1999)
- 156) Dang, L. N. and McQueen, C. A.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **159**, 77-82 (1999)
- 157) Marvin, C. H., McCarry, B. E., Lundrigan, J. A., Roberts, K. and Bryant, D. W.: *Sci. Total. Environ.*, **231**, 135-144 (1999)
- 158) Martin, F. L., Cole, K. J., Weaver, G., Williams, J. A., Millar, B. C., Grover, P. L. and Phillips, D. H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **259**, 319-326 (1999)
- 159) de Mejia, E. G., Castano-Tostado, E. and Loarca-Pina, G.: *Mutat. Res.*, **441**, 1-9 (1999)
- 160) Pfau, W., Martin, F. L., Cole, K. J., Venitt, S., Phillips, D. H., Grover, P. L. and Marquardt, H.: *Carcinogenesis*, **20**, 545-551 (1999)
- 161) Brooks, L. R., Hughes, T. J., Claxton, L. D., Austern, B., Brenner, R. and Kremer, F.: *Environ. Health. Perspect.*, **106** Suppl 6, 1435-1440 (1998)
- 162) Hughes, T. J., Claxton, L. D., Brooks, L., Warren, S., Brenner, R. and Kremer, F.: *Environ. Health. Perspect.*, **106** Suppl 6, 1427-1433 (1998)
- 163) Watanabe, T., Ishida, S., Minami, H., Kasai, T., Ogawa, S., Wakabayashi, K. and Hirayama, T.: *Chem. Res. Toxicol.*, **11**, 1501-1507 (1998)
- 164) Gichner, T., Wagner, E. D. and Plewa, M. J.: *Mutat. Res.*, **420**, 115-124 (1998)
- 165) Sayama, M., Mori, M., Shoji, M., Uda, S., Kakikawa, M., Kondo, T. and Kodaira, K. I.: *Mutat. Res.*, **420**, 27-32 (1998)
- 166) Cerna, M., Pastorkova, A., Smid, J., Dobias, L. and Rossner, P.: *Toxicol. Lett.*, **96-97**, 335-339 (1998)
- 167) Beudot, C., De Meo, M. P., Dauzonne, D., Elias, R., Laget, M., Guiraud, H., Balansard, G. and Dumenil, G.: *Mutat. Res.*, **417**, 141-153 (1998)
- 168) Gonzalez, d. M., Quintanar-Hernandez, A. and Loarca-Pina, G.: *Mutat. Res.*, **416**, 11-19 (1998)
- 169) Arimochi, H., Kinouchi, T., Kataoka, K., Kuwahara, T. and Ohnishi, Y.: *J. Med. Invest.*, **44**, 193-198 (1998)
- 170) Hrelia, P., Fimognari, C., Maffei, F., Brighenti, B., Garuti, L., Burnelli, S. and Cantelli-Forti, G.: *Mutat. Res.*, **397**, 293-301 (1998)
- 171) Bombick, B. R., Avalos, J. T., Nelson, P. R., Conrad, F. W. and Doolittle, D. J.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **31**, 169-175 (1998)
- 172) Hayakawa, K., Nakamura, A., Terai, N., Kizu, R. and Ando, K.: *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **45**, 1820-1822 (1997)
- 173) Gonzalez, d. M., Ramos-Gomez, M. and Loarca-Pina, G.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **30**, 346-353 (1997)
- 174) Vaatanen, A. K., Ridanpaa, M., Norppa, H. and Kociba, P.: *Mutat. Res.*, **379**, 185-190 (1997)
- 175) Hughes, T. J., Lewtas, J. and Claxton, L. D.: *Mutat. Res.*, **391**, 243-258 (1997)
- 176) Anari, M. R., Josephy, P. D., Henry, T. and O'Brien, P. J.: *Chem. Res. Toxicol.*, **10**, 582-588 (1997)
- 177) Gonzalez, d. M., Loarca-Pina, G. and Ramos-Gomez, M.: *Mutat. Res.*, **389**, 219-226 (1997)
- 178) Ono, Y., Wu, X., Noda, A., Noda, H., Takeo, S., Nasa, Y., Isayama, Y., Imai, M. and Sera, N.: *Biol. Pharm. Bull.*, **20**, 61-65 (1997)
- 179) Sasaki, Y. F., Chiba, A., Murakami, M., Sekihashi, K., Tanaka, M., Takahoko, M., Moribayashi, S., Kudou, C., Hara, Y., Nakazawa, Y., Nakamura, T. and Onizuka, S.: *Mutat. Res.*, **371**, 203-214 (1996)
- 180) Gupta, R. L., Vats, V. and Juneja, T. R.: *Mutat. Res.*, **370**, 195-201 (1996)
- 181) Rosser, P. F., Ramachandran, P., Sangaiah, R., Austin, R. N., Gold, A. and Ball, L. M.: *Mutat. Res.*, **369**, 209-220 (1996)
- 182) Kitamori, S.: *Fukuoka. Igaku. Zasshi.*, **87**, 142-150 (1996)
- 183) Malfatti, M. A., Connors, M. S., Mauthe, R. J. and Felton, J. S.: *Cancer Res.*, **56**, 2550-2555 (1996)
- 184) Chen, C. C. and Lee, H.: *Mutat. Res.*, **367**, 105-114 (1996)
- 185) De Flora, S., Camoirano, A., Bagnasco, M., Bennicelli, C., van Zandwijk, N., Wigbout, G., Qian, G. S., Zhu, Y. R. and Kensler, T. W.: *J. Cell Biochem. Suppl.*, **25**, 92-98 (1996)
- 186) Gichner, T., Veleminsky, J., Wagner, E. D. and Plewa, M. J.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **27**, 59-66 (1996)
- 187) Higashimoto, M., Yamamoto, T., Kinouchi, T., Matsumoto, H. and Ohnishi, Y.: *Mutat. Res.*, **367**, 43-49 (1996)
- 188) Gupta, R. L., Kaur, I. P. and Juneja, T. R.: *Mutat. Res.*, **334**, 273-281 (1995)
- 189) Hrelia, P., Vigagni, F., Maffei, F., Fimognari, C., Lamartina, L., Spinelli, D., Juric, P., Guerra, M. C. and

- Cantelli-Forti, G.: *Mutagenesis*, **10**, 171-177 (1995)
- 190) Rossi, C., Poli, P., Buschini, A., Cassoni, F., Magnani, F., Lucertini, S., Tolomei, S. and Gerbelli, C.: *Toxicol. Lett.*, **77**, 289-298 (1995)
- 191) Lemke, L. E. and McQueen, C. A.: *Drug Metab. Dispos.*, **23**, 559-565 (1995)
- 192) Johansson, M. A., Knize, M. G., Jagerstad, M. and Felton, J. S.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **25**, 154-161 (1995)
- 193) Vikse, R., Hatch, F. T., Winter, N. W., Knize, M. G., Grivas, S. and Felton, J. S.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **26**, 79-85 (1995)
- 194) Scheepers, P. T., Martens, M. H., Velders, D. D., Fijneman, P., van Kerkhoven, M., Noordhoek, J. and Bos, R. P.: *Environ. Mol. Mutagen.*, **25**, 134-147 (1995)
- 195) Oguri, A., Karakama, K., Arakawa, N., Sugimura, T. and Wakabayashi, K.: *Mutat. Res.*, **346**, 57-60 (1995)
- 196) Gichner, T., Voutsinas, G., Patrinely, A., Kappas, A. and Plewa, M. J.: *Mutat. Res.*, **309**, 201-210 (1994)
- 197) Stamm, S. C., Zhong, B. Z., Whong, W. Z. and Ong, T.: *Mutat. Res.*, **321**, 253-264 (1994)
- 198) Hirvonen, A., Nylund, L., Kociba, P., Husgafvel-Pursiainen, K. and Vainio, H.: *Carcinogenesis*, **15**, 813-815 (1994)
- 199) Balimandawa, M., de Meester, C. and Leonard, A.: *Mutat. Res.*, **321**, 7-11 (1994)
- 200) Stamm, S. C., Lan, W., Zhong, B. Z., Whong, W. Z. and Ong, T.: *Mutat. Res.*, **320**, 261-271 (1994)
- 201) Hatcher, J. F., Rao, K. P. and Swaminathan, S.: *Mutagenesis*, **8**, 113-120 (1993)
- 202) Lake, R. S., Gaworski, C. L., Crouse, E. W. and Heck, J. D.: *Mutat. Res.*, **301**, 157-163 (1993)
- 203) Gotzl, E. and Schimmer, O.: *Mutagenesis*, **8**, 17-22 (1993)
- 204) Maragos, C. M., Andrews, A. W., Keefer, L. K. and Elespuru, R. K.: *Mutat. Res.*, **298**, 187-195 (1993)
- 205) Thompson, D. C., Josephy, P. D., Chu, J. W. and Eling, T. E.: *Mutat. Res.*, **279**, 83-89 (1992)
- 206) Espinosa-Aguirre, J. J., Reyes, R. E. and Cortinas, d. N.: *Mutat. Res.*, **264**, 139-145 (1991)
- 207) Scheepers, P. T., Theuws, J. L. and Bos, R. P.: *Mutat. Res.*, **260**, 393-399 (1991)
- 208) Cunningham, M. L. and Matthews, H. B.: *Mutat. Res.*, **242**, 101-110 (1990)

「抄録の日本語訳」

環境中に存在するさまざまな化学物質の遺伝毒性を効率よく検出し、そのヒトに対する危険性を評価するために新しい遺伝毒性試験法を開発した。アセチル Co-A O-アセチル転移酵素のような薬物代謝酵素遺伝子を持つプラスミドを導入した *Salmonella typhimurium* や、O⁶-メチルグアニン DNA メチル転移酵素のような DNA 修復酵素を欠損した菌株は、特定のグループの変異原にきわめて高い感受性を示す。このため、高感受性試験菌株は、さまざまな物質からなる混合物 (complex mixture) の遺伝毒性検出に汎用されている。化学物質によって誘発される突然変異を齧歯類のさまざまな臓器で検出し解析するため、*gpt delta* と名付けたトランスジェニックマウスを樹立した。遺伝的に改変された生物を用いる遺伝毒性試験の将来について考察する。

NO ドナー

丹野雅幸[#]・末吉祥子・宮田直樹

Nitric Oxide (NO) Donor

Masayuki TANNO[#], Shoko SUEYOSHI and Naoki MIYATA

Nitric oxide (NO), which is synthesized from L-arginine by nitric oxide synthase (NOS) in mammals, acts as a signal molecule for vasorelaxation, cytotoxicity and neurotransmission. The difficulty in handling of a gaseous and labile NO causes problems with the effective and precise studies using NO. The increasing interest in the biological roles of NO requires the use of NO donors which releases NO under the various desirable conditions. We systematized the most commonly used NO donors in this article to support the biological investigation. NO donors were classified according to the functional groups based on NO-donating characteristics. The preparation, chemical properties and NO-donating ability of these NO donors are summarized. It is particularly described in some detail on the stability both as a solid and in solution and the handling of the compounds.

Keywords : nitric oxide, NO donor

1. はじめに

内皮由来血管弛緩因子 (EDRF) の存在は約20年前から知られ、それが一酸化窒素 (NO) 自身であると明らかにされるまでさらに約10年の時を要したが、これらの研究を行った Furchgott, Ignarro, Murad の3人のNO研究者が1998年のノーベル医学・生理学賞を受賞した¹⁾。NOは大気中存在し、環境汚染物質、NO_xとして古くから知られていた低分子量の気体分子であり、これが実は生体内で産生され利用されていたことは驚きである。NOはNO合成酵素 (NOS) によりL-アルギニンがL-シトルリンへ代謝される際に生成する。NOはさらに、情報伝達物質としてその生理機能に関与していることもわかってきた。最近では、NO合成酵素 (NOS) の同定、3種のアイソフォーム (cNOS, iNOS, nNOS) の精製とそのクローニング、ノックアウトマウスの作製等による解析も行われおり、特に、cNOS, iNOSの各々あるいは両者が関与する病態も明らかにされている²⁾。例えばcNOSの場合、動脈硬化、高血圧、アルコール性肝障害、インポテンスに、また、iNOSでは肺血症、感染症、リウマチ、臓器移植、肝硬変に関与し、両者が関与する場合は虚血・再灌流 (脳、心、腎、胃)、そして糖尿病である。これらNOの代謝病態の研究が現在も盛んに進められている。

NOの有効性や有害性等の作用を解析するためには、NOを直接あるいは間接的に生体に与える必要がある。しかし、

NOは分子内に孤立電子対を有するフリーラジカルであり、常温常圧下で気体である。また、大気中の酸素で酸化されやすいため、少量を定量的に扱うことは難しい。一般の化学実験ではボンベに貯蔵されたNOまたは不活性ガスで希釈したNOガスを利用する。実験室で簡単にNOを発生させるには、亜硝酸ナトリウムの粉末に濃硫酸を滴下させる³⁾。しかし、生物実験系では微量のNOを制御して使用する事が多いのでこれらの方法を用いることは稀である。生体内でNOを用いる実験では、NOの代替品として、秤量や希釈がしやすく、目的に応じた安定性を持ち、必要量のNOを発生する化合物、NOドナー (NO供与剤) が使われるようになってきた。NOの生物作用に関する研究が飛躍的に進んだのはNOドナーの貢献が大きい。

NOの研究を生理医学系に限定すれば、もともと血管系に始まり、NOの機能もはっきりしてきたが、神経系や免疫系等その他の分野では未だにはっきりしていない部分が多い。NOは、神経伝達や可塑性にどうかかわっているのか、そこにNOによって上昇したcGMPはどのようにNOの作用を仲介しているのか、細胞の癌化やアポトーシスにはどうかかわっているのか、タンパク質のニトロ化はどのように調節されているのか、なぜ過剰のNOを産生する細胞自身はNOの毒性を受けにくいのか⁴⁾、生化学や分子生物学の手法だけでは追いきれないこうした疑問に答えるためにもNOドナーを利用した実験は有効な手助けになる。筆者らも有機化学的立場からNOドナーの重要性を説き、種々のNOドナー候補化合物を合成してきた⁵⁾。さらに合成したNOドナーや既知のNOドナーのNO発生速度 (NO発生能) を測定できる簡単な装置も考案した⁶⁾。

現在、種々のNOドナーが市販されているが化学的性質

[#] To whom correspondence should be addressed: Masayuki Tanno; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158, Japan; Tel:+81-3-3700-1141 ext. 224; Fax: +81-3-3707-6950; E-mail: tanno@nihs.go.jp

も様々である。そのため、NOドナーの化学的性質を理解した上で研究の目的に適したNOドナーを選択することが重要となる。特に、NOの発生量が制御でき、持続性があり、NO代謝系の影響を受けないようなNOドナーが要求されている。しかしながら、NOドナーを使用する場合の注意やNOドナーの化学的性質や保存方法などを体系的に紹介した文献はほとんどない。各メーカーからの情報では、自社が扱っている製品に関しては詳細に記載されているがNOドナー全般を知ろうとすると離散的である。筆者らも数年前からNOドナーに関する性質の体系化を試みてきたが^{7,8)}、最近、生物化学者のためのNOドナーの扱い方を紹介したレビューがでた⁹⁾。また、このレビュー以外にもNOドナーに関する研究成果がいくつか報告されている。著者らも「NO-化学と生物」(学会出版編1996)および「生体内一酸化窒素(NO)実験プロトコル」(共立出版2000)でNOドナーについて述べた。本総説は、それらに記載したデータに最新の情報を加筆したものである。現在市販されているNOドナーを中心に官能基別に分類し、製法、溶解性、固体状態および水溶液中での安定性、保存方法、NO発生機序などをまとめた。また、市販されていないNOドナーについても記載した。

2. NOドナーの分類

筆者らは以前、NOドナーの性質をNOの発生方法に従って次のように四つに分類した⁷⁾。(1)熱や光により物理化学的にNOを発生する自発発生型化合物 (2)溶液中で酸・アルカリ等により分解しNOを発生する化学反応依存型化合物 (3)代謝酵素により分解しNOを発生する代謝活性型化合物 (4)NOSが関与するNO産生系に作用して、内因性NO発生を高めるNO産生系活性型化合物である。しかし、NOが発生するまでの過程が研究途上の場合が多く、直接的か間接的か、あるいは非酵素的か酵素的かによって上記の分類は一部重複するところもあり、それぞれ厳密に区分することは難しい。そこで、今回は構造による分類、すなわちNOの発生に深く関与すると考えられる

官能基毎に分類した。

現在市販されているNOドナーについてはTullettおよびRees⁹⁾らの文献をもとに、最新のデータ⁸⁾と共にTableにまとめ、化学的性質や作用機序などのほか発売元も載せた。また、NOドナーの構造を各章毎に図示した。

NOドナーは、便宜的に治療薬と研究試薬に分けることができる⁸⁾。治療薬よりも研究試薬の方が種類は多いが本論の各章の中やTable中で治療薬である場合は説明を加えた。

3. 官能基別NOドナーの性状と合成法

一般にNOドナーが分解しNOを発生する場合、物理化学的環境下(光, 熱, pHによる反応)でも生物化学的環境下(酵素による生体内化学物質存在下での反応)でもNOを放出する場合が多いので本論では使用環境下でのNO発生(遊離)機構に関する説明を加えた。

3.1 硝酸エステル(RONO₂)および亜硝酸エステル(RONO)

ニトログリセリン(NTGまたはGTN)、ジ亜硝酸イソソルビド(ISDN)、モノ亜硝酸イソソルビド(IS-5-MN)の硝酸エステル類と亜硝酸イソアミル等の亜硝酸アルキルエステルに分類される。いずれも冠動脈拡張剤であり、狭心症治療に用いられる。亜硝酸イソアミルやNTGは日本薬局方収載医薬品である。ニコランジルとKRN-2391も硝酸エステル誘導体であるが、これらはNOドナーというよりもむしろKチャネルオープナーと称されることが多い¹⁰⁾。合成法としてアルキルアルコール類を硝酸や亜硝酸でニトロ化またはニトロソ化する方法が知られているが、反応条件も種々で副生成物も生じやすい¹¹⁾。これらのNOドナーは治療薬として医薬品メーカーから入手可能なので合成例は省略した。ISDNやIS-5-MNの合成原料であるイソソルビドも医薬品として用いられている。これら硝酸エステル類が生体内のシトクロームP-450やチオール分子で代謝され、NOを生成して血圧を下げると考えられるようになっ

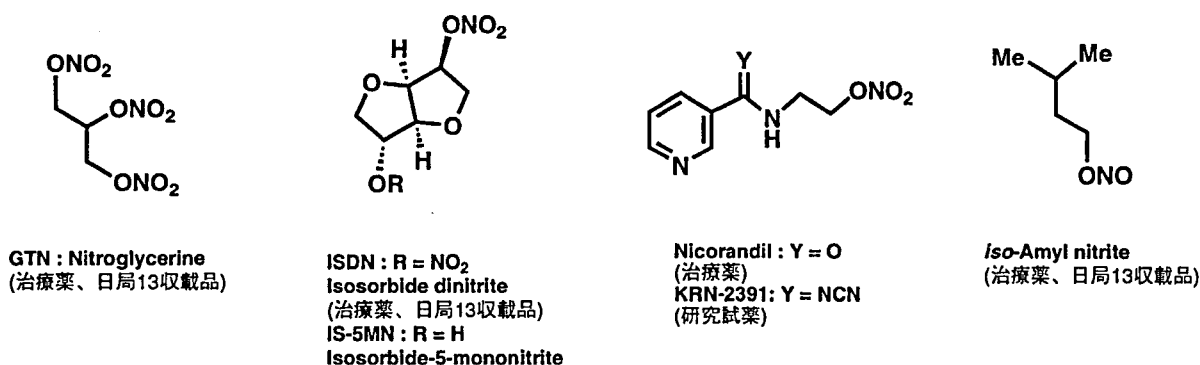


Fig. 1 Nitrates and Nitrites

Table NOドナーの性質(J. M. Tullettのデータの新知見を加えて一部改変⁹⁾)

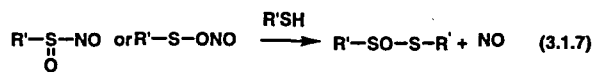
分類	名称または記号	性状、安定性、貯蔵方法	備考	国内発元 ^注
有機硝酸エステル類	GTN (NTG)	液状。EtOH又はDMSOで調製した溶液は安定。遮光保存	酵素のおよび非酵素的経路で代謝を受ける。チオ硝酸エステル (RSNO ₂) 中間体を経てRSNOからNO遊離する。弱い血小板凝固因子。冠動脈拡張剤。治療薬。JP 収載	A
	ISDN	上記と同じ	上記と同じ。治療薬。JP 収載	A
	Nicorandil	EtOH可溶。水に難溶。2-10°Cで暗所、乾燥貯蔵	狭心症治療剤。冠血管拡張作用。治療薬	A
有機亜硝酸エステル類	iso-Amyl nitrite	液状。4°Cで封かんしたガラス容器に貯蔵	NOの発生にはSH基の存在が必要。RONOが活性中間体。NOの発生速度はRSNOの生成速度の関数になる。RONOの代謝を伴う。治療薬。JP 収載	A, K
金属ニトロシル類	SNP	室温、暗所、乾燥貯蔵。光を避け、水溶液を用時調製	酵素のおよび光化学的にNOを遊離するが、発生機構は一部不明。シアン化物を同時に生成。生物学的半減期はヒトで約2分。降圧剤。治療薬。	F, I, K, W
	NPS	水に可溶。2-10°Cで暗所、乾燥貯蔵	Caged化合物であり、光照射によりNOを放出。SNPと異なり、シアンによる毒性は無い。研究用試薬	I, K, W
	DNIC (1:20)	-70°Cで1ヶ月以上安定。希釈水溶液中で分解。	L-システインの過剰量で調製した(L-Cysteine) ₂ Fe(NO) ₂ 錯体の冷水溶液。研究用試薬	K
シドノニン類	Molsidomine	固体は安定。光を避け室温で貯蔵。DMSOに溶かして調製	<i>In vitro</i> で不活性。肝臓のエステラーゼによって活性代謝体SIN-1へ変換され、NOを発生。狭心症治療剤。治療薬。	F, I, K
	SIN-1	固体の塩酸塩は安定。光を避け-20°Cで乾燥貯蔵。DMSO、エタノールに可溶。水及びpH 5.0酸性溶液で安定。	加水分解により開環体、SIN-1Aを生成し、ラジカル過程を経てNOを発生。酸素存在下でスーパーオキシドも生成。NOの発生はSODにより増大。ペルオキシ亜硝酸(ONOO)とOHラジカルが生成する可能性あり。研究用試薬	F, I, K, W

分類	名称または記号	性状、安定性、貯蔵方法	備考	国内発売先*
S-ニトロソチオール類	GEA 3162	水に可溶。固体の塩酸塩は安定。光を避け-20°Cで乾燥貯蔵	熱的に比較的安定なNOドナー。 研究用試薬	I, K
	GEA 5024	上記と同じ	上記と同じ	I, K
	GEA 5583	上記と同じ	上記と同じ	K
	GSNO	光を避け-20°Cで乾燥貯蔵。使用時にクエン酸/塩酸緩衝液(pH 2.0)または0.5-1M塩酸に溶かす。溶液は光を避け4°Cで貯蔵	速い分解によりNOとジスルフィド生成。チオールラジカルが生成する。この分解は熱や光によって加速され、痕跡量のCu ²⁺ が触媒する。研究用試薬	F, I, K, W
	CysSNO	上記と同じ	上記と同じ	W
	SNAP	光を避け室温で乾燥貯蔵。使用時に調製。溶液は光を避け4°Cで貯蔵	上記と同じ	F, I, K, W
NONOate類	ANGELI'S SALT	-20°Cで貯蔵。水またはメタノールに可溶	自発的にNOを発生。アルカリ性で安定。酸性では速い分解。pHでNO発生を制御。研究用試薬	F, I
	Diethylamine/NO	-80°Cでアルゴンまたは窒素下で貯蔵。水に可溶。使用時に希NaOHで調製。溶液はアルゴン下で冷却貯蔵	自発的にNOを発生。チオール濃度が高いとNOの発生が低下。アルカリ性で安定で、pHの低下に従ってNOの発生速度が増大。pH 5.0では速い分解。pHでNO発生を制御可能。研究用試薬	F
	Spermine/NO	上記と同じ	生物活性を持つスベルミンを生成。研究用試薬	F, I, K
	NOC	上記と同じ	0.1 M リン酸 buffer 中 37°C, pH 7.4 で NO を発生する NOC 類の半減期(分), (吸収スペクトル法): NOC 5 (25.0), NOC 7 (5.0), NOC 12 (100), NOC 18 (21h)。研究用試薬	F, I, K, W

分類	名称または記号	性状、安定性、貯蔵方法	備考	国内発売先*
ヒドロキシイミン類	NOR	冷凍庫で乾燥貯蔵。DMSOに可溶。pHアルカリ側で分解が速い。	NO発生の機構は不明な部分がある。0.1 M リン酸 buffer 中, 37°C, pH 7.4 の水溶液中で NO を発生する NOR 類の半減期 (分), (ESR 法): NOR 1 (1.8), NOR 2 (28), NOR 3 (30), NOR 4 (60)。NOR 3 は FK409 とも称される。研究用試薬	F, I, K, W
オキソトリアゼン類	CNO-4	2-10°C 保存。脂溶性で水に難溶	光照射により NO を発生する Caged 化合物。生理的 pH 下で膜透過性が低く細胞内外どちらかで選択的に閉じこめられ、光分解的に NO を生成。NO 放出の場所、時間および濃度の制御が可能。研究用試薬	K, W
	CNO-5	上記と同じ	光照射により NO を発生する Caged 化合物。CNO-4 と異なり膜透過性が高い。細胞内でエステラーゼにより加水分解され、細胞内に局在。NO 放出の場所、時間および濃度の制御が可能。CNO-4、CNO-5 の量子収率は 0.02-0.05。研究用試薬	K, W
芳香族 N-ニトロソアミン類	BNN 3	光を避け冷凍庫で貯蔵。脂溶性。DMSO に可溶	光照射により NO を発生する Caged 化合物。オキソトリアゼン類と比べ量子収率は 2 と高い。研究用試薬	W
	BNN 5 Na	光を避け冷凍庫で貯蔵。水溶性 (5mM 以上溶解)	細胞内に局在化可能。研究用試薬	W
	BNN 5 Methyl ester	光を避け冷凍庫で貯蔵。水に不溶。EtOH に難溶。DMSO 可溶。	細胞膜通過型。研究用試薬	W
フロキサソニル類	4-Phenyl-3-furoxan-carbonitrile	4°C、暗所保存で 3 年間安定。水、DMSO に可溶。溶液は不安定。リン酸緩衝液中では安定 -20°C で貯蔵	血管拡張作用や血小板凝固阻止活性を示す。研究用試薬	F, I
脂肪族 N-ニトロソ尿素類	STZ	冷凍庫で貯蔵。水に可溶。溶液は不安定	光照射により NO を発生する。研究用試薬	F, I

* 発売元略記号：A: 製薬各社 (医療薬 日本医薬品集 1998-99 (第 22 版) 日本医薬情報センター編 薬業時報社), F: フナコシ薬品, I: 岩井化学, K: 国産化学, W: 和光純薬

たのは最近のことである。すなわち、生体内でグルタチオンのようなチオールとの代謝によりニトロソチオールに変換されてNOを遊離すると言われているが^{12a)}、亜硝酸エステルのNO遊離式は(式3.1)、(式3.1.2)であり、ニトログリセリンのような硝酸エステルの場合は(式3.1.3)と(式3.1.4)や(式3.1.5)から(式3.1.7)で亜硝酸エステルとNO発生機構は異なる。硝酸エステルでは他の機構としてP-450を経由する代謝も考えられている^{12b)}。

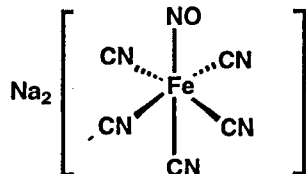


3.2 金属ニトロシル類

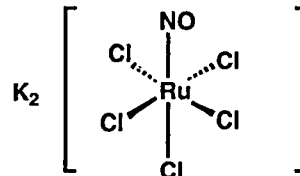
3.2.1 ニトロプルシドナトリウムおよびニトロシルペンタクロロルテナトカリウム

ニトロプルシドナトリウム (SNP) とニトロシルペンタクロロルテナトカリウム (PNP) が市販されている。SNPの方は降圧剤として使用されている。これらのNOドナーは照射でNOを放出する。多くのNOドナー類は使用時に溶液にすると、直ちにNO放出の分解が始まる。しかし、このグループの化合物は、pHによっては安定で、照射時だけNOを発生するので目的部位で利用するのに良いとされている¹³⁾。ただし、筆者らの実験では光を遮りpH7.4、37°Cでの熱分解でもNOを放出することが判明した。従って、照射下での温度制御に注意が必要と思われる。SNPは $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ を温水に溶かし、濃硝酸を加えて反応させたのち炭酸ナトリウムで中和して得られる(式3.2.1)¹⁴⁾。PNPの場合は $RuCl_3 \cdot H_2O$ の温水溶液に発泡しなくなるまで KNO_2 を加えて製する(式3.2.1.2)¹⁵⁾。

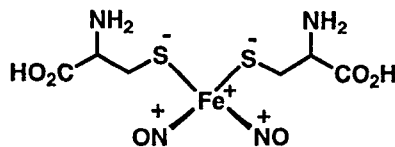
SNPはNO以外の生理活性も示し、CN基を持つためその毒性がNOによる活性を評価する際に複雑にする可能性もあるので問題となっている。これに対して、PNPはCN基を持たないので、使用の際、選択する目安となる。ただし、SNPはこれまで広く利用されてきただけにデータも豊富であるから、自分達のデータと比較検討する場合など、SNPの使用はまだ多いと思われる。



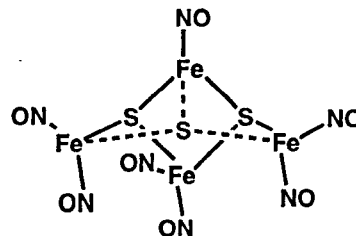
SNP : Sodium pentacyanonitrosylferrate
(治療薬)



NPS : Nitrosylpentachlororuthenate
potassium salt (研究試薬)

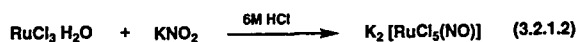
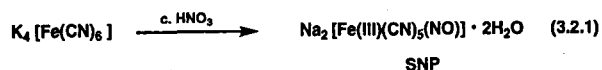


DNIC (1:20) : Dinitrosyl-iron-di-L-cysteine
prepared with an excess of L-cysteine
(研究試薬)



Roussin's Black Salt :
Heptanitrosyl-tri-μ3-thioxotetraferate (1-)
(研究試薬)

Fig. 2 Metal Nitrosils



3.2.2 DNIC

最近、新しいNOドナーとしてDNIC、が市販されている。DNIC (1:20) は鉄ニトロシルとL-システインから形成した錯体 (L-Cys)₂Fe(II)(NO)₂の1当量に20当量のL-システインを加えたものである¹⁶⁾。EDRFの本体がL-システインのような低分子のチオールを配位子とする鉄ニトロシル錯体であるとの考えからDNICがNOドナーとして開発された。

3.2.3 黒色ルッサン塩

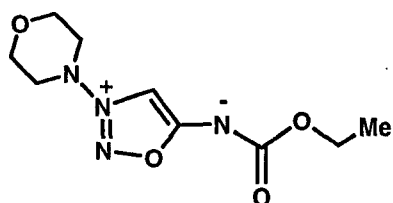
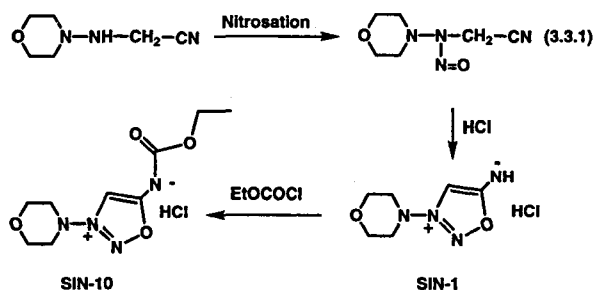
クラスター構造を持つ鉄ニトロシル化合物として赤色ルッサン塩 (M₂[Fe₂(NO)₄S₂]; M=K, Na) と黒色ルッサン塩 (M[Fe₄(NO)₇S₃]; M=H, K, Na, Cs) が古くから知られている。両金属塩のうち、黒色ルッサン塩 (Roussin's black salt)¹⁷⁾ は熱的分解だけでなく光分解でもNOを発生することが最近報告された。ただし、黒色ルッサン塩は市販されていないので必要に応じて合成する必要がある。製法¹⁸⁾ : 1) 亜硝酸アルカリと硫化アルカリの混合水溶液に硫酸鉄(II)水溶液を熱時反応させる。2) 水酸化鉄(II)と二硫化炭素

との混合物にアンモニアを飽和させてNOを通ずる。3) 新しく沈殿させた硫化鉄(II)を水に懸濁させ、NOを通ずる。黒色ルッサン塩は一般に光沢ある黒赤色の結晶で、熱すると分解しやすい。水、エタノール、エーテルなどに可溶。緩衝液に溶かすと、速やかに分解が始まる。空气中、散光下では安定であるが太陽光では分解する。アルゴン雰囲気下、-20℃で保存する。

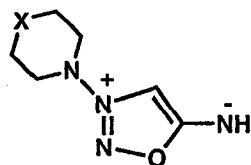
3.3 シドノニミン類

3.3.1 モルシドミン (SIN-10)

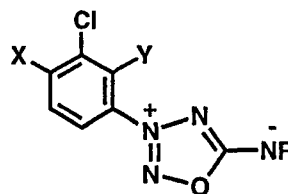
市販されている血管拡張薬である。代謝されてSIN-1へ変換されてNOを遊離する¹⁹⁾。N-ニトロソアルキルアミノアセトニトリルを原料にして合成する (式3.3.1)²⁰⁾。



SIN-10 : Molsidomine
N-(Ethoxycarbonyl)-3-(4-morpholinyl)sydnonimine
(治療薬)



SIN-1 : X = O
3-Morpholinolonyl-sydnonimine
C78-0698 : X = SO₂
(研究試薬)

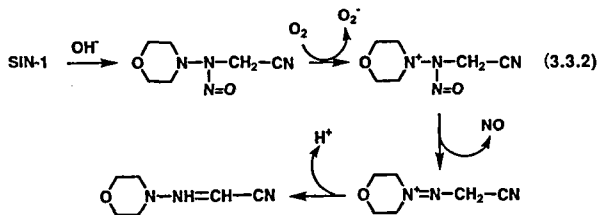


GEA 3162 : R = H, X = Cl, Y = H
5-Amino-3-(3,4-dichlorophenyl)-
1,2,3,4-oxatriazolium
GEA 5024 : R = H, X = H, Y = Me
5-Amino-3-(3-chloro-2-methylphenyl)-
1,2,3,4-oxatriazolium
GEA 5583 : R = CONHCH₂CN, X = H, Y = Me
3-(3-Chloro-2-methylphenyl)-5-(cyanomethylamino)-
carbonylamino-
1,2,3,4-oxatriazolium
(研究試薬)

Fig. 3 Sydnonimine Derivatives

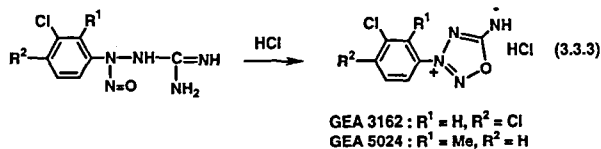
3.3.2 SIN-1 (3-Morpholinosydnonimine · HCl)

狭心症治療として使用されているモルシドミンの代謝物であり、塩酸塩として市販されている。さらに同類のC78-0698も、共鳴構造上N-ニトロソ構造を有するNOドナーに分類できる。酸素分子を吸収しながら、NOとスーパーオキシド、 O_2^- を発生するとされている(式3.3.2)。実際、筆者らもpH7.4でNOの放出を確認した。5) NOと O_2^- との反応により細胞障害性が強いペルオキシ亜硝酸イオン、ONOO $^-$ を生成するのでONOO $^-$ 発生剤とも呼ばれる^{21, 22)}。純粋にはNOドナーと言いがたい。酸性で安定。アルカリ性になると分解は速くなる。



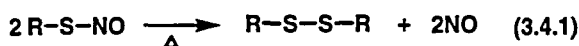
3.3.3 オキサトリアゾリウム類

GEA3162 [5-Amino-3-(3,4-dichlorophenyl)1,2,3,4-oxatriazolium] および GEA5024 [5-Amino-3-(3-chloro-2-methylphenyl)-1,2,3,4-oxatriazolium] の各塩酸塩が市販されている。水溶性で、安定なNOドナーである²²⁾。Ar-N(NO)-NH-C(NH₂)=NHを酸で処理すると生成する(式3.3.3)²³⁾。GEA類(GEA 3162, GEA5024, GEA5583)もSIN-1と同様にNOと O_2^- を遊離しONOO $^-$ 作用を示すと考えられている^{22d)}。



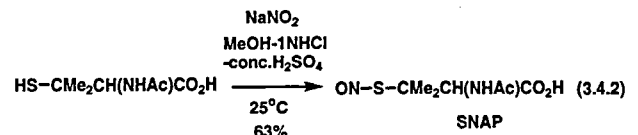
3.4 S-ニトロソ化合物

S-ニトロソ-N-アセチル-DL-ペニシラミン (SNAP) (m.p.152-154°C (dec.))²⁴⁾ およびS-ニトロソグルタチオン (GSNO) (二水和物, m.p.176-179°C (dec.))²⁵⁾ が有名。熱などの非酵素的反応では(式3.4.1)のように分解しNOを遊離する。

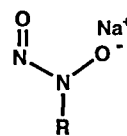


一般にニトロソチオール類(R-SNO)は熱や光に不安定である。しかし、SNAP, GSNOおよびS-ニトロソシステ

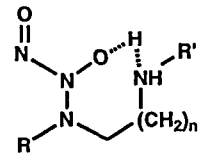
イン(CysSNO)は比較的安定で扱いやすいため市販されており、特にSNAPはNOドナーとしてよく用いられる代表的な化合物である。これらチオール類は分解するのにコファクターを必要とせず自発的にNOを放出し、トランス(寛容, チオール類の枯渇による薬理効果の減弱)の小さい優れた薬剤とされてきた。しかし、最近、1価の銅イオンが分解を触媒することが指摘された^{26a)}。抗ウイルス活性があり²⁷⁾、また、ラット大動脈での弛緩作用も報告されている²⁸⁾。製法: 一般に酸性条件下でチオール類に亜硝酸ナトリウム水溶液を加えるとS-ニトロソ体が生成する(式3.4.2)。SNAPやGSNOはこの方法で合成される。他のニトロソチオール類(RSNO)としてR = Et, n-Bu, t-Bu, PhCH₂, Phの誘導体も知られている。これらはCCl₄中、-20°C、暗所でアルキルチオール類にN₂O₄を反応させて得られている²⁹⁾。その他、多くのS-ニトロソ化合物が報告されている³⁰⁾。



3.5 NONOate類



ANGELI'S SALT:
R = O $^-$ Na $^+$
DEA/NO: R = N(Et)₂
Diethylamine/NO
(研究試薬)



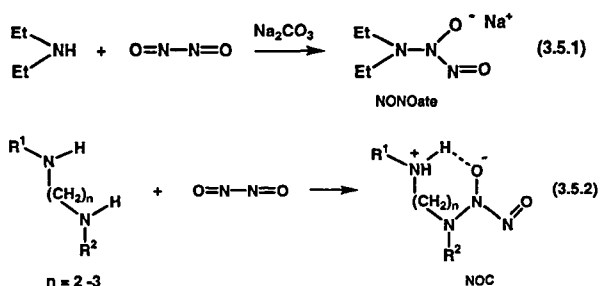
SPER/NO: n = 3, R = R' = (CH₂)₃NH₂,
Spermine/NO
NOC 5: n = 2, R = Isopr, R' = H
NOC 7: n = 2, R = R' = Me
NOC 12: n = 1, R = R' = Et
NOC 18: n = 1, R = (CH₂)₂NH₂, R' = H
(研究試薬)

Fig. 5 NONOates

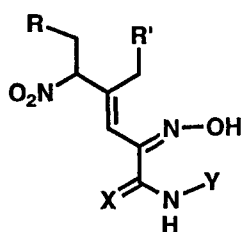
ANGELI'S SALT, Diethylamine/NO, Spermine/NO, NOC等のNONOate類は相当するアミン類に加圧下でNOガスと反応させたとき生成する化合物である³¹⁾。加圧下のNOは通常、二量体O=N-N=Oを形成しやすい。この二量体へ求核的にアミンが反応してNOCを生成する(式3.5.1; 式3.5.2)³²⁾。化学構造式(Fig.5)から明らかのように分子内で一種のキレート環を形成し、安定な塩となっている。Keeferらは合成初期の頃、アミンとNOの分子間双性イオン(zwitterion)の複合体やそのナトリウム塩として単離し、一連の化合物をNONOateと呼んだ³¹⁾。その後、分子内キレートの形成を利用して、安定なNOC類の合成に成功し

た。各種の化合物が市販されている。

NOCは若干吸湿性であるが、比較的安定な固体で水によく溶ける。しかも、NOC5, NOC7, NOC12, NOC18の半減期は、37°C, pH7.4, 0.1MPBS中で、それぞれ、7.0, 1.7, 13, 78分である。水中でのNO発生反応は酸素へのプロトン付加が引金になるとされている³³⁾。このため、アルカリ側では比較的安定であるが、0.1M水酸化ナトリウムに10mM濃度で溶かした場合、冷所でも、5-6%/1日程度でNOを放出して分解する。NONOate類はコファクターを必要としないNOドナーに分類される。NONOate類を用いて、DNA合成阻害作用をNO発生速度と関係づけた興味深い報告がある³⁴⁾。また、NOC7, NOC12を用いて、インスリン分泌に適切なNO発生速度が必要であるとの報告や³⁵⁾、グルタマート毒性とNOとの関係も報告されている³⁶⁾。



3.6 ヒドロキシイミン類



FK409 誘導体

NOR 1 : R = OMe, R' = H, X = O, Y = H

NOR 2 : R = H, R' = H, X = O, Y = H

NOR 3 (FK409) : R = H, R' = Me, X = O, Y = H

NOR 4 : R = H, R' = Me, X = H₂, Y = CO-3-pyridyl

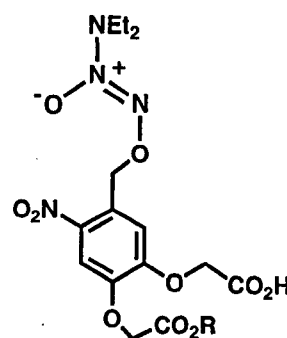
(研究試薬)

Fig. 6 Hydroxyimino Compounds

NOR 誘導体は *Streptomyces gneosporeus* の醗酵生成物中より単離された NOR3 に基づいて開発された³⁷⁾。現在までに4種類が市販されている。コファクターを必要としないNOドナーとして知られている^{26a)}。特に、喜多ら³⁸⁾により NOR3 は KF-409 と呼ばれ、NOを放出することや血管弛緩

作用を示すことが見出された。pHが6を越えるとNO放出の分解が速くなることからOH⁻によって触媒されると考えられているがNOの発生機構は明らかにされていない^{39, 40)}。水に難溶で、少量のDMSOに溶解し、bufferで希釈して使用する。半減期はNOR1からNOR4の順で、それぞれ、1.8, 28, 30, 60分である³⁷⁾。我々は後述するように、いくつかのNOドナーのNO発生量を調べたが、用いた化合物の中ではNOR4のNO放出速度は、かなりゆっくりであった。生理活性にNOの放出速度が重要である場合があり、目的によってはこのタイプの化合物は今後重宝されるだろう。

3.7 オキサトリアゼン類 (Caged 化合物)



CNO-4 : R = K

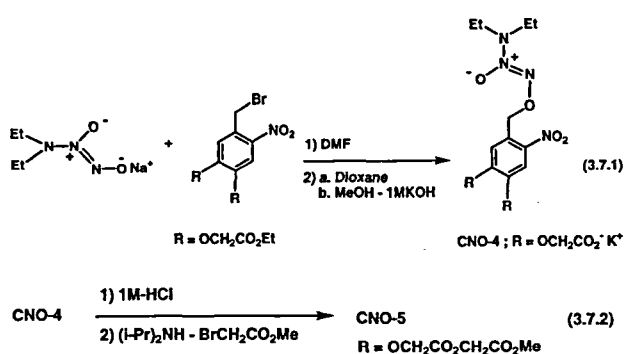
1-[4',5'-Bis(carboxymethoxy-2'-nitrophenyl)methoxy]-2-oxo-3,3-diethyl-1-triazene Dipotassium Salt

CNO-5 : R = CH₂CO₂Me

1-[4',5'-Bis(carboxymethoxy-2'-nitrophenyl)methoxy]-2-oxo-3,3-diethyl-1-triazene Diacetoxymethyl Ester (研究試薬)

Fig. 7 Oxotriazines

CNO類はすでに述べたSNPやルテニウムのニトロシル錯体と同様に可視光照射によりNOを放出する。照射している間のみNOが発生するのでNOの発生量をコントロールしやすい。また、これらの化合物をUV照射した場合でもNOを放出していることはトロンピンで刺激した血小板凝集阻止作用によって証明されている。NONOateからCNO-4 (mp.300-305°C (dec.))を得た後(式3.7.1)、CNO-4を経てCNO-5 (Oil)を合成する(式3.7.2)⁴¹⁾。CNO-4とCNO-5はすでに市販されている⁴²⁾。



3.8 N-ニトロソ化合物

各種のN-ニトロソアミン、N-ニトロソアミド、N-ニトロソ尿素等 (Fig.8) があるがNOドナーとして市販されているのは、現在のところ下記に記載するN-ニトロソアミンのBNN類だけである。またNOドナーとしての性質が最近明らかにされたクペロンは分析試薬として以前から販売されており、NOドナーとして供給されていない。おそらく、一般にこれらの化合物群は水溶性に乏しい性質持つものが

多いためであろう。また、N-ニトロソアミン類は熱的に安定であり、効率良くNOを発生させるためには高温処理や光分解させる必要がある。一方、逆にN-ニトロソアミドやN-ニトロソ尿素類は室温で不安定な化合物であり、-20°Cでの保存を要するものが多いため、NOドナーとして扱いにくいことも原因と思われる。これらの化合物群は筆者らが研究の対象にしてきたので、特にNOドナーとしての芳香族N-ニトロソアミドおよび芳香族N-ニトロソ尿素類については国立衛研報(1997年)⁶⁾に詳述したのでここでは簡単にふれるにとどめる。

3.8.1 芳香族N-ニトロソアミン類

N-ニトロソアミン類を有機溶媒中で熱分解すると相当するニトロ体が生成することは古くから知られ、分解の際、NOの発生を伴ってニトロ体が生成すると考えられていた。例えば、ジフェニルアミンとカルバゾールのN-ニトロソ体は、トルエン中80-100°C付近で分解して相当するニトロ体を生成すること^{43a)}、また、N-ニトロソ-N-メチルアニリンも有機溶媒中、53°Cで分解生成物としてニトロ体を生成することからいずれの反応でもNOを発生していると推定さ

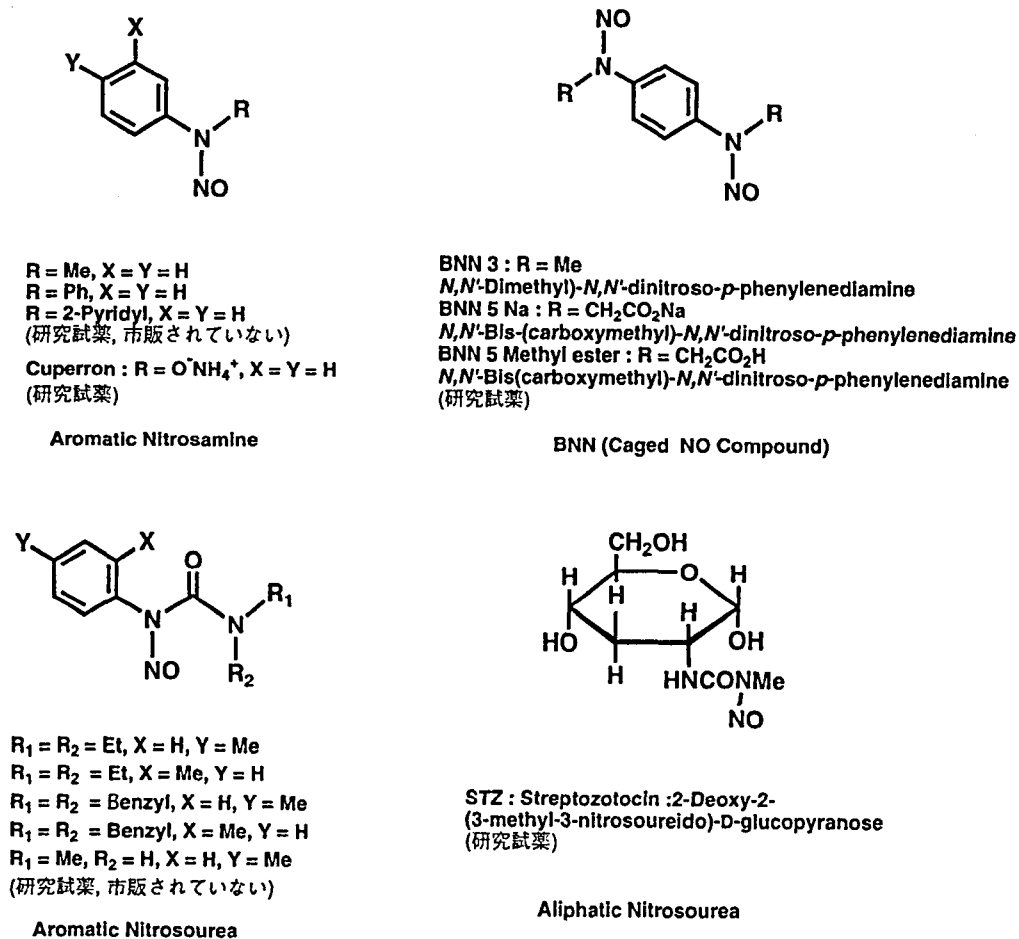
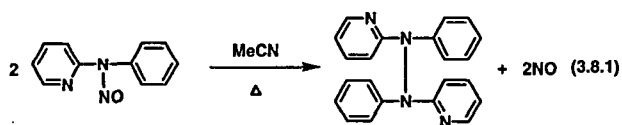


Fig. 8 N-Nitroso Compounds

れていたが^{43b)}、最近、筆者らは室温でもこれらの化合物がNOを発生することを明らかにした⁴⁴⁾。

N-ニトロソアミン類は熱的に安定であるため通常のNOドナーと比べNOを遊離しにくい。筆者らは逆にこの性質を利用して通常のNOドナーのNO発生速度（NO発生能）の数10分の1程度のNO発生能を持つ*N*-ニトロソアミン類の開発を行ってきた。*N*-*t*-ブチル基、*N*-メチル基および*N*-フェニル基をもつ*N*-ニトロソアニリン類（RN(NO)Ph, R=Bu, Me, Ph）のNO発生能を調べると、置換基*t*-Bu<Me<Phの順にNO発生能は増大する。これはN-NOのπ結合が芳香環（Ph）のπ系と共役しやすい性質を与える置換基ほどN-NO結合はラジカル解裂を生じやすいことを示している。そこでフェニル基よりも電子吸引性基であるピリジル基を導入したニトロソ体（PyN(NO)Ph）を各種合成した（Fig.8）。NO発生能はPhN(NO)Phよりも10-100倍に向上した⁴⁴⁾。この熱分解反応生成物も明らかにした（式3.8.1）。

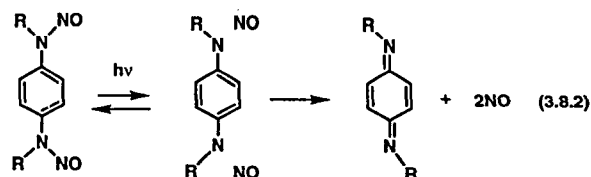
NOが作用部位と効率的に反応することが重要であると指摘されているが、筆者らの実験でも同様の結果を得ている。すなわち、培養した腫瘍細胞であるL-5178Y細胞の生育阻害効果を*N*-ニトロソアミン、*N*-ニトロソアミド、*N*-ニトロソ尿素を用いて調べた結果は、多くの化合物のNO発生能と細胞増殖阻害作用とが直線性を示す。しかし、NO発生能が特に高い化合物ではNO発生能と阻害作用が直線関係になかった。従って、生物に対する作用を調べるとき、徐放性や持続性があるNOドナーが、分野で要求される^{26a)}。特に細胞の代謝速度よりもNOドナーからのNO発生速度が大きいと、実験結果が正しく評価されない場合があり、徐放性や持続性は重要なファクターになる^{26a)}。この点で熱的に分解し徐放的にNOを放出する*N*-ニトロソアミン類も利用価値がある。



3.8.2 BNN類（Caged NO化合物）

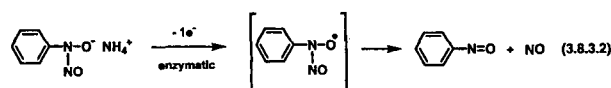
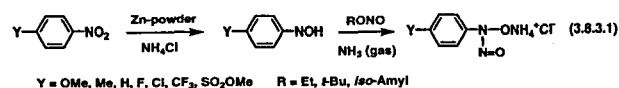
N-ニトロソ構造を有するCagedNO化合物、BNN（BNN 3, BNN 5 Na, BNA 5 Methylsterなど）⁴⁵⁾が最近報告された。これらの化合物は光を照射した時のみNOを発生する（式3.8.2）。光照射を利用するNOドナーの長所は、照射している間のみNOが発生するのでNOの発生量と条件をコントロールしやすい点である。特に、neurobiologyの分野では量子収率の高い化合物を用いてミリ秒でNOを高速発生させ、しかも、その発生量が制御できることが要求されるが、BNN類はその点で注目される。BNN 5 Naは水溶性である。また、脂溶性のBNN 3やBNN 5 Methylsterは細胞内に局在化し、後者は細胞内でエステラーゼで加水分

解され水溶性のBNN 5になる。



3.8.3 クペロン

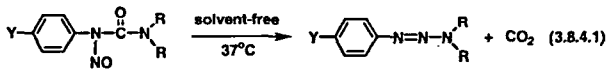
つい最近、古くから金属イオンの分析試薬として知られているクペロン（cupferron、*N*-ニトロソフェニルヒドロキシルアミンアンモニウム、別名パウディッシュ試薬）はNOを放出する性質を有することが報告された⁴⁶⁾。クペロンは*N*-ニトロソアミン構造にヒドロキシルアミン構造もあわせ持つ化合物である。芳香族*N*-ニトロソアミン類としては数少ない水溶性化合物である。単純な構造の*N*-ニトロソフェニルヒドロキシルアミンアンモニウムは以前から市販されている。一般的な製法は、フェニルヒドロキシルアミン類に塩酸と亜硝酸ナトリウムを0°Cで反応させ、ろ過後、エーテル抽出液にアンモニアを加えるか、冷時、フェニルヒドロキシルアミン誘導体を亜硝酸アミルとアンモニアで処理する⁴⁷⁾。種々のフェニルヒドロキシルアミン類の合成法とNO発生機構を含めると下記のようなになる（式3.8.3.1; 式3.8.3.2）⁴⁶⁾。



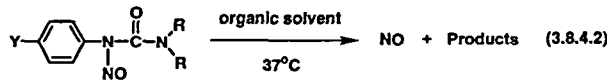
3.8.4 *N*-ニトロソ尿素誘導体

一般に芳香族*N*-ニトロソアミド、尿素類は熱的に不安定であり、NOドナーとしてよりもアリールジアゾニウムを生成する化合物として研究されてきた。しかし、筆者らはジ置換およびトリ置換の*N*-ニトロソ尿素誘導体の分解反応を詳細に検討して、室温下でアリールジアゾニウムを生成するよりもNOを放出する反応が優先する化合物を見出した（式3.8.4.1）。高温処理や光照射しなくても、N-NO bondはラジカル解裂しNOを遊離する。さらに、置換基の位置や種類を選択することによりジアゾニウムとNOを生成する反応を制御できる。さらに、溶媒を使用せずに室温放置するとNOでなく、CO₂を放出することができる（式3.8.4.2）⁴⁸⁾。

芳香族*N*-ニトロソ尿素のNO発生速度は芳香族*N*-ニトロソアミン類に比べ、10から100倍以上も大きい⁴⁴⁾。



R = Et, CH₂Ph, Y = H, Me



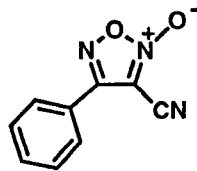
R = Et, CH₂Ph, Y = H, Me ; organic solvent = DMSO, EtOH, CHCl₃

3.8.5 脂肪族N-ニトロソ化合物

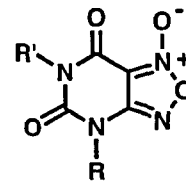
脂肪族N-ニトロソアミン、N-ニトロソアミドおよび脂肪族N-ニトロソ尿素が室温でNOを発生するという報告は現在のところない。筆者らの実験でもNO発生は認められていない⁴⁴⁾。しかし、光照射するとNOを発生する脂肪族N-ニトロソ尿素誘導体としてN-メチル-N-ニトロソ尿素構造を持つ抗生物質、ストレプトゾトシン (STZ) がNOドナーとして市販されている⁴⁹⁾。STZはDNAに対し強力なアルキル化剤として作用するが、一方リン酸緩衝液中で光を照射するとNOを遊離すると報告されている⁴⁹⁾。

3.9 N-オキシド類

N-オキシド構造に分類できるNOドナーとして、フロキサン類と1,2-ジアゼチジンN-オキシド類 (DD) がある。

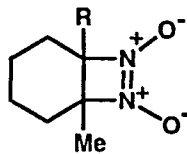


4-Phenyl-3-furoxan carbonitrile
(研究試薬)

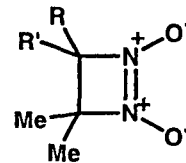


a : R = R' = Me b : R = Me, R' = H
c : R = H, R' = Me d : R = R' = H
(研究試薬, 市販されていない)

Furoxan



DD 1 : R = H : 4-Methyl-3,4-tetramethylene-
1,2-diazetidene di-N-oxide
DD 4 : R = Br : 3-Bromo-4-methyl-3,4-tetramethylene-
1,2-diazetidene di-N-oxide
(研究試薬, 市販されていない)



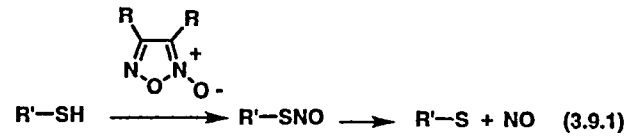
DD 2 : R = H, R' = Ph : 3,3-Dimethyl-4-phenyl-
1,2-diazetidene di-N-oxide
DD 5 : R = Br, R' = Me : 3-Bromo-3,4,4-trimethyl-
1,2-diazetidene di-N-oxide
(研究試薬, 市販されていない)

3,4-Dihydro-1,2-diazete 1,2-dioxide

Fig. 9 N-Oxide Derivatives

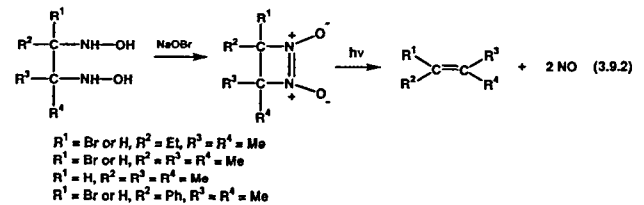
3.9.1 フロキサン類

フロキサンは血管拡張作用を示し、ニトロソチオール経路によりNOを放出する(式3.9.1)⁵⁰⁾。また、チオール無しでもNOを放出するフロキサン誘導体も合成されている。



3.9.2 1,2-ジアゼチジン-1,2-ジオキシド類

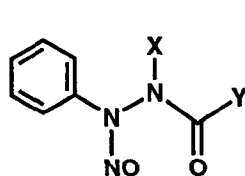
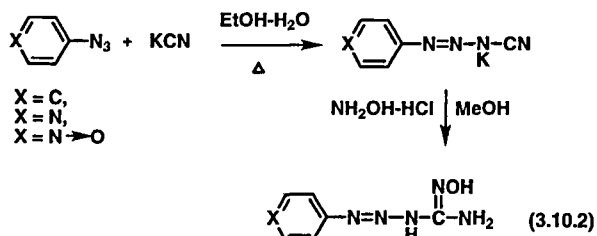
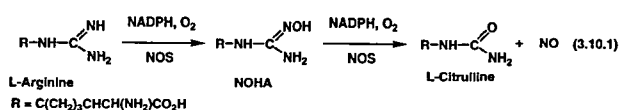
1,2-ジアゼチジン-1,2-ジオキシド類 (DD1, DD2, DD4, DD5) は、 α -ヒドロキシルアミンまたは1,2-ビスヒドロキシルアミンをNaOBrで酸化すると得られる(式3.9.2)。熱でや光でオレフィンと2分子のNOへ分解し、条件により発生速度が変化する⁵¹⁾。この化合物は血管拡張作用や血小板凝固阻止活性を示す⁵¹⁾。



3.1.0 グアニジン類 (RNHC(=NH)NH₂)

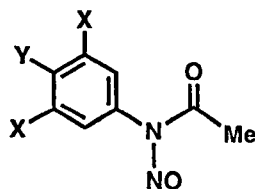
L-アルギニン⁵²は生体内にも存在し、NOS系により次に挙げるN^ω-ヒドロキシ-L-アルギニン (NOHA) へ代謝を受け、さらに、L-シトルリンへ変換される過程でNOが生成する(式3.10.1)^{52, 53}。NOの生合成過程として有名である。市販されている。

NOHAが代謝によりNOを放出したことから、ヒドロキシグアニジノ基を持つ化合物(アミドキシム化合物)が注目された⁵⁴。NOHAは酢酸塩⁵⁵として、またヒドロキシグアニジンは硫酸塩⁵⁶として市販されている。水によく溶ける。アミドキシム化合物は、ニトリルまたはシアナミドにヒドロキシルアミンを作用させて合成する。これらの化合物は自発的にNOを遊離しないが、NOHAがNOS系の助けで酸化的にNOを放出すると同じように、酸化剤が共存するとNOを出す⁵⁴。筆者らは、シアノトリアゼン類から同様にしてシアノトリアゼノアミドキシム誘導体を合成した(Fig.11: GroupIII, 式3.10.2)⁵⁷。これら誘導体は、一電子酸化剤によりNOHAの約3倍のNOを発生し(式3.10.2.3)、またラットの動脈平滑筋を弛緩することを確認した⁵⁸。これらの化合物は生体内でNOSやP-450系で酸化的代謝を受けてNOを放出することが期待できる。



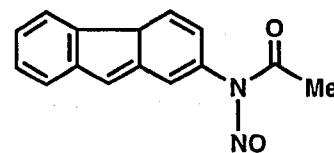
Nitroso-6a : X = Na, Y = Ph
Nitroso-10 : X = H, Y = N(Ph)₂
Nitroso-11 : X = H, Y = SO₃K
(研究試薬, 市販されていない)

N-Nitrosohydrazine

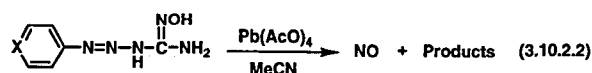


N-NO-DNAAP : X = NO₂, Y = OH
N-Nitroso-3,5-dinitro-acetaminophen
NAPT : X = H, Y = Me
N-Nitroso-aceto-p-toluidide
(研究試薬, 市販されていない)

Nitrosamide



N-NO-2-FAA :
N-Nitroso-2-fluorenylacetamide
(研究試薬, 市販されていない)



3.1.1 その他

研究途上のNOドナーとして、N-ニトロソヒドラジン類 (Nitroso-6a, -10, -11)^{59, 60}、N-ニトロソアミド類 (N-NO-DNAAP, NAPT, H-NO-2-FAA)⁶¹、最近開発されたNONOate構造を持つピペリジンジアゼニウムジオレート (R-N(CH₂)₂(CH₂)₂N-N(NO)=N-ONa, N(CH₂)₂(CH₂)₂N=ピペリジン環, R=カルボン酸エステル, 芳香環) などがある(Fig.11)⁶²。

4. まとめ

現在知られているNOドナーをNO発生に関与する官能基に基づいて分類し、それらの化学的性質やNO生成機構および市販の有無や製法などについてまとめた。良いNOドナーの条件としては、(a) 合成が容易であること、(b) 安定で純度の良い固体であること、(c) 生理的条件下で分解し、適当な速度でNOを定量的に放出すること、(d) 副生成物は毒性が低いことが挙げられる。最近では種々のNOドナーが提供されているが、それぞれ構造が異なり、水溶性や安定性等の性質も異なる。実験の目的に応じて使用するNOドナーを選ぶことはNOによる生物活性をより正しく評価することに対応するので重要である。

5. おわりに

これまで当研究所、有機化学部で合成し、研究中のNOドナー候補化合物(Fig.11)を図示した。

グループは三つに分けられる。室温下熱分解によりNOを遊離する各種芳香族N-ニトロソ化合物についてはグループIに示した化合物で水溶化と徐放化を意識し、水溶性官能基を導入したN-ニトロソ尿素類とピリジル基を持つN-

Fig. 10 Other N-Nitroso Compounds

ニトロソアミン類の合成を行った。さらにまたグループIIに示したようにスーパーオキシド (O_2^-) とNOを遊離するかさらにこれら活性種が反応し、ペルオキシ亜硝酸イオン ($ONOO^-$) を与える化合物も合成している。ONOO⁻はアポトシースとの関連で研究が盛んであるが、この不安定活性種を与える化合物としてシドノイミン類以外には知られていない。

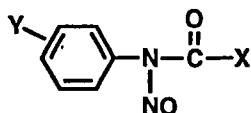
一方、NOHAは生体内でNOSによりL-アルギニンがL-シトルリンへ酸化されるときに生成する中間化合物であるが(式3.10.1)、この化合物はNOSの二段階関与によりNOを遊離し、L-シトルリンへ代謝される。これら一連の代謝経路に基づいて考えられたのがNOHAの部分構造を持つトリアゼノアミドキシム誘導体であり、NOSの代わりに適当な酸化剤により分解してNOを発生する(グループIII)。これらは酸化酵素により活性化されNOを発生する、いわゆ

る誘導活性化を狙った化合物である。筆者らは代謝活性化モデル化合物と呼んでいる。さらに、当部の福原らはニトロ基からのNOの生成を明らかにし、照射下でNOを発生する芳香族ニトロ化合物を見出している⁶³⁾。このような化合物の長所はBNN類の項でも述べたように照射の間だけNOを発生するのでNOの量や反応条件を制御できる点にある。今後、このタイプの化合物の研究の発展が望まれる。また、NOドナーから発生するNOを定量する測定法にはふれなかったが重要なので最後に最近の報告をあげた^{64, 65)}。

文 献

- 1) 大柳善彦：NOの生体内でのさまざまな役割，化学，化学同人，54，46-50 (1999)
- 2) 南山幸子，井上正康，NOの代謝動態-その様相と病態：

Group I

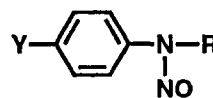
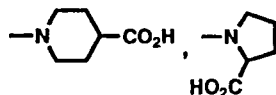


N-Nitrosamide, *N*-Nitrosourea

Y = Me, H, Cl

X = Me, NHR, NR¹R²,

R = Me, Et, Bn, Ph

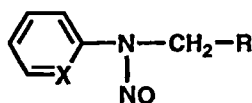


N-Nitrosamine

Y = Me, H, Cl

R = Me, Ph, 2-Pyridyl, 4-Pyridyl

Group II

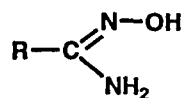


N-Nitrosamine

X = CH, N

R = CO₂Me, CO₂H, CN

Group III



Hydroxyguanidine

R = 2-Pyridyl, 4-Pyridyl, NMe₂, NPhMe,

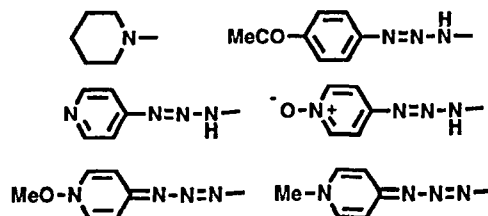


Fig. 11 NO Donors Prepared in Our Laboratory

- NO-化学と生物 (季刊化学総説 30), (日本化学会編), pp.143-150, 学会出版 (1996)
- 3) 伊藤幸夫: 新実験化学講座 8 無機化合物の合成 (I), (日本化学会編) 丸善, pp.224-225 (1991)
- 4) 中根正樹 特殊: NO 研究の最前線, NO 研究の新しい展開, 実験医学, 羊土社, 17, 914-917 (1999)
- 5) M. Tanno, S. Sueyoshi, N. Miyata and S. Nakagawa, *Chem Pharm. Bull.*, 44, 1849-1852 (1996)
- 6) S. Sueyoshi, M. Tanno and N. Miyata, *Bull. Nat. Inst. Health Sci.*, 115, 40-48 (1997)
- 7) a) 丹野雅幸, 末吉祥子, 宮田直樹: NO 産生化合物: NO-化学と生物 (季刊化学総説 30), (日本化学会編), pp.53-62, 学会出版 (1996); b) 丹野雅幸, 宮田直樹: 生体内で NO を発生する化合物, 現代化学, 東京化学同人出版 (4月号) pp.36-41 (1994)
- 8) 宮田直樹, 丹野雅幸: 生体内一酸化窒素 (NO) 実験プロトコール: NO ドナー, 共立出版 (2000)
- 9) Tullett, J. M. and Rees, D. D., *Molecular Biotechnology*, 11, 93-100 (1999)
- 10) 中沢久, 松下敏: 高血圧とカリウムチャンネルオープナー, *BIOmedica*, 8, 39-42 (1993)
- 11) a) 尾形強, 新実験化学講座 14, 有機化合物の合成と反応 (III), pp.1286 (1978) 丸善; b) 長哲郎, 佐藤伸, 幸田清一郎, 吉田忠雄, 高橋甫, 富永博夫: 共立化学ライブラリー 15: "NO_x の化学" pp.97-105 (1978) 共立出版
- 12) M. Feelisch, *J. Cardiovascler Pharmacol.* 17 (suppl. 3), S25 (1991)
- 13) a) N. Bettache, J. E. T. Corrie, T. Carter, J. Williams and D. Ogden, *Biophys J* 64, A190 (1993); b) "NO research", Wako Pure Chemical Industries Ltd., Tokyo Japan, pp.10 (1994)
- 14) 後藤正文, 第 4 版 実験化学講座 17 無機錯体・キレート錯体, pp. 90-91 (1991) 丸善
- 15) 中原勝儼, 第 4 版 実験化学講座 17 無機錯体・キレート錯体, pp. 140 (1991) 丸善
- 16) a) A. F. Vanin, *FEBS Lett.* 289, 1 (1991); b) A. F. Vanin, I. V. Mlenkova, P. I. Mordvintcev and A. Mulsch, *Biokhymia (transl.)* 58, 1094 (1993); c) A. Mulsch, P. I. Mordvintcev, A. F. Vanin and R. Busse, *BBRC* 196, 1303 (1993); d) M. Feelisch, M. te Poel, R. Zamora, A. Deussen and S. Moncada, *Nature* 368, 62 (1994); e) A. L. Kleschyov, K. R. Sedov, P. I. Mordvintcev and A. F. Vanin, *BBRC* 202, 168 (1994)
- 17) a) Flitney, F. W., Megson, I. L., Flitney, D. E. and Butler, A. R.: *Br. J. Pharmacol.*, 107, 842-848 (1992); b) Matthews, E. K. Setaton, E. D., Forsyth, M. J. and Humphrey, P. P. A.: *Br. J. Pharmacol.*, 113, 87-94 (1994)
- 18) "ENCYCLOPEDIA CHIMICA 9", Kyoritsu Press, Tokyo, pp.840 (1964)
- 19) R.-E. Nitz and V. B. Fiedler, *Pharmacotherapy*, 7, 28 (1987)
- 20) H. U. Daeniker and J. Druey, *Helv. Chim. Acta.*, 45, 2462-2465 (1962)
- 21) a) N. Hogg, V. M. Darley-vsmer, M. T. Wilson and S. Moncada, *Biochem. J.*, 281, 419-424 (1992); b) H. Bohn and K. Schonafinger, *J. Cardiorac. Pharmacol.*, 14 (suppl.11) S6 (1989); c) D. T. Hess, S. I. Patterson, D. S. Smith and J. H. Skene, *Nature*, 366, 562-565 (1993)
- 22) a) 大柳善彦 (編): NO ラジカルの医学, 羊土社, pp.52-54 (1996); b) 大柳善彦 (著): NO と病気, 化学同人, pp.131-132 (1994); c) Feelisch, M., Ostrowski, J., Noak, E., *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 14 (Suppl. 11), S13 (1989); d) Mato-Ranta, U., Yla-Herttuaia, S., Metsa-Ketala, T., Jaakkola, O., Moilanen, E., Vuorinen, P. and Nikkari, T.: *FEBS Lett.*, 337, 179-183 (1994); e) Vanin, A. F., *FEBS Lett.*, 289, 1-3 (1991)
- 23) 佐々木正, 新実験化学講座 14, 有機化合物の合成と反応(IV), p. 2259-2260 (1978) 丸善
- 24) L. Field, R. V. Dilts, R. Ravichandran, P. G. Lenhert and G. E. Carnahan, *J. Chem Soc. Chem. Comm.*, 1978, 249-250
- 25) T. W. Hart, *Tetrahedron Lett.*, 26, 2013-2016 (1985)
- 26) a) 片山佳樹: NO 放出薬と生物医学への応用, 最新医学, 52, 53-59 (1997); b) Singh, R. J., Hogg, N., Joseph, J. and Kalyanaraman, B., *J. Biol. Chem.*, 271, 18596-18603 (1996); c) Feelisch, M.: *J. Cardiovascler Pharmacol.*, 17 (suppl. 3), S25 (1991)
- 27) K. D. Croen, *J. Clin. Invest.*, 91, 2446 (1993)
- 28) E. A. Kowaluk and H-L Fung, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 255, 1256-1264 (1990)
- 29) S. Oae, D. Fukushima and Y. H. Kim, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, 1977, 407-408
- 30) B. Roy, A. M. d'Hardemare and M. Fontecave, *J. Org. Chem.*, 59, 7059-7026 (1994)
- 31) J. A. Hrabie, J. R. Klose, D. A. Wink and L. K. Keefer, *J. Org. Chem.* 58, 1472-1476 (1993)
- 32) R. S. Drago and F. E. Paulik, *J. Am. Chem. Soc.*, 82, 96-98 (1960)
- 33) "NO Pathway", Dojindo laboratory, Kumamoto Japan, pp.7 (1994)
- 34) C. M. Maragos, J. M. Wang, J. A. Hrabie, J. J. Oppenheim and L. K. Keefer, *Cancer Res.* 53, 564-568 (1993)
- 35) Sakurai K., Terakawa S., Presented in part at the 71th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, Takamasu, Japan, March 1994, Abstract, pp.133
- 36) Nishimura K., Okada T., Yamamura K., Koizumi S., Presented in part at the 67th Annual Meeting of the Pharmacological Society of Japan, Kyoto, Japan, March 1994, Abstract, pp.O-157
- 37) "NO Pathway", Dojindo laboratory, Kumamoto Japan, pp.10 (1994)
- 38) a) Fukuyama S., Kita Y., Hirasawa Y., Higashi T., Karatuchi N., Kouda S., Yasuda T., Sakurai H., *Xenobiotic Metabolism and Disposition*, 9 (suppl.), S239 (1994); b) Kita, Y., Ohkubo, K., Hirasawa, Y., Katayama, Y., Ohno, M., Nishino, S., Kato, M. and Yoshida, K., *Eur. J. Pharmacol.*, 275, 125-129 (1995)
- 39) 吉村哲彦 (著): NO 一酸化窒素, 共立出版, pp.113-120 (1998)
- 40) a) Hrabie, J. A., Klose, J. R., Wink, D. A., L. K. Keefer and L. K., *J. Org. Chem.*, 58, 1472-1476 (1993); b) 片山佳樹: NO 作用解明に有用な新しい自発的 NO ドナー, 別冊・医学のあゆみ, NO のすべて, 平田結喜緒編集, 医歯薬出

- 版, pp.35-40 (1996)
- 41) L. R. Makings and R. Y. Tsien, *J. Biol. Chem.* **269**, 6282 (1994)
- 42) a) "NO research", Wako Pure Chemical Industries. Ltd., Tokyo Japan, Wako, pp. 9 (1994); b) "L-ARGININE-NITRIC OXIDE PATHWAY '95", Alexis corporation San Diego USA and Kokusankagaku Ltd. Tokyo Japan, 1995
- 43) a) P. Welzel, *Chem. Ber.*, **104**, 808-821 (1971); b) A. J. Buglass, B. C. Challis and M. R. Osborne, *IARC Sci. Publ.*, **9**, 94-100 (1974)
- 44) Tanno, M., Sueyoshi, S. and Miyata, N., *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 595-598 (1997)
- 45) a) Namiki, S., Arai, T. and Fujimori, K., *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 3840-3841 (1997); b) Namiki, S., Kaneda, F., Ikegami, M., Arai, T., Fujimori, K., Asada, S., Hama, H., Kasuya Y. and Goto, K., *Bioorg. Med. Chem.*, **7**, 1695-1702 (1999)
- 46) A. D. McGill, W. Zhang, J. Wittbrodt, J. Wang, H. B. Schlegel and P. G. Wang, *Bioorg. Med. Chem.*, **8**, 405-412 (2000)
- 47) "VORTARO DE ANALIZO KEMIO", Kyoritsu Press, Tokyo, Japan, pp.532-534 (1971)
- 48) a) Tanno M., Sueyoshi, S., Miya N., Presented in part at *International Chemical Congress of Pacific Basin Societies of Hawaii, USA, Decemer 1995*, Abstracts, Part I, pp.9 ORGN 544; b) Tanno M., Sueyoshi, S., Miya N., Presented in part at *International Symposium on Organic Reaction of Hsinchu, Taiwan, November 1998*, Abstracts, pp.283-284; c) Tanno M., Sueyoshi, S., Miya N., Presented in part at the *217th American Chemical Society National Meeting of California, USA, May 1999*, Abstracts, pp.MEDI 0033
- 49) a) Kroncke, K. D. and Fehsel, F.: *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, **376**, 327-343 (1995); b) Kwon, N. S., Lee, S. H., Chul, C. S., Kho, T., and Lee, H. S.: *FASEB J.*, **8**, 529-533 (1994)
- 50) a) Ferioli, R., Folco, G. C., Ferretti, C., Gasco, A. M., Medana, Fruttero, R., Civelli, M. and Gasco, A.: *Br. J. Pharmacol.*, **114**, 816-820 (1995); b) Sorba, G. Medana, C., Fruttero, R., Cena, C., Sttilo, A. D., Galli, U. and Gasco, A.: *J. Med. Chem.*, **37**, 463-469 (1997); c) Sako, M., Oda, S., Ohara, S., Hirota, K. and Maki, Y.: *J. Org. Chem.*, **63**, 6947-6951 (1998)
- 51) a) Severina, I. S., Belushkina, N. N. and Grigoryev, N. B.: *Biochem. Mol. Int.*, **33**, 957-967 (1994); b) Utepbergenov, D. I., Khramtsov, V. V., Vlassenko, L. P., Markel, A. L., Mazhukin, D. G., Tikhonov, A. Ya. and Volodarsky, L. B.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **214**, 1023-1032 (1995); c) 平田結喜緒: 治療薬としてのNO: NOと循環調節, (猿田享男, 平田結喜緒監修), 診断と治療社, pp.63-89 (1998)
- 52) H. H. H. W. Schmidt, T. D. Warner, K. Ishii, H. Sheng and F. Murad, *Science*, **255**, 721-723 (1992)
- 53) R. M. J. Palmer and S. Moncada, *BBRC*, **158**, 348-352 (1989)
- 54) J. M. Fukuto, *J. Med. Chem.*, **36**, 2666-2670 (1993).
- 55) P. Klatt, K. Schmidt, G. Uray and B. Mayer, *J. Biol. Chem.* **268**, 14781-14787 (1993)
- 56) A. Zembowicz, T. A. Swierkosz, G. J. Southan, M. Hecker and J. R. Vane, *Br. J. Pharmacol.* **107**, 1001-1007 (1992)
- 57) a) M. Tanno, S. Sueyoshi, and S. Kamiya, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 3125-3132 (1982); b) S. Kamiya and M. Tanno, *ibid.*, **28**, 529-534 (1980); c) M. Tanno and S. Kamiya, *ibid.*, **27**, 1824-1829 (1979)
- 58) a) Sueyoshi S., Tanno M., Hirano K., Fukuhara K., Miyata N., Presented in part at the *115th Annual Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan, Sendai, Japan, April 1995*, Abstract, pp.22; b) Sueyoshi S., Tanno M., Hirano K., Miyata N., Ono K., Satake M., *Magnetic Resonance in Medicine*, **7**, 230-232 (1996)
- 59) Rehse, K. and Koenig, P.: *Arch. Pharm.*, **328**, 137-142 (1995)
- 60) Wang, J.-M., Lin-Shiau, S.-Y. and Lin, J.-K.: *Biochem. Pharmacol.*, **45** (4) 819-825 (1993)
- 61) a) 大柳善彦 (著): NOと疾患, 医歯薬出版, pp.123-124 (1994); b) Makings, L. R. and R. Y. Tsien, R. Y.: *J. Biol. Chem.*, **269**, 6282-6285 (1994)
- 62) Saavedra, J. E., Booth, M. N., Hrabie, J. A., Davies, K. M. and Keefer, L. K.: *J. Org. Chem.*, **64**, 5124-5131 (1999)
- 63) Fukuhara K., Miyata N., Presented in part at the *28th Annual Meeting of the Environmental Mutation Society (EMS) Japan, Gifu, Japan, 1999*, Abstract, pp.118
- 64) 小島宏建, 長野哲雄: NO研究の研究最前線, NO判定法の新展開, 実験医学, 羊土社, **17**, 946-950 (1999)
- 65) 片山佳樹: NO測定法, ふんせき, **5**, 252-258 (2000)

過去の毒劇物事件等に関する調査と分析

国立医薬品食品衛生研究所化学物質情報部

山本 都[#]・神沼二眞

Studies on Poisonings and Incidents caused by Chemicals in Japan

Miyako Yamamoto[#] and Tsuguchika Kaminuma

The criminal cases of poisonings caused by poisonous, deleterious or other hazardous chemicals in Japan were studied. The data (111 cases) were collected mainly from the newspaper database (Aug. 1984-Feb. 1999). More than half cases were caused by chemicals which are regulated by the "Poisonous and Deleterious Substance Control Law". Copy-cat poisonings occurred in succession in 1984-1985 and 1998. Many cases occurred at the laboratories of institutes and universities, and hospitals where there are various kinds of chemical reagents. The cases of chemical incidents such as those which occurred while transportation were also discussed.

Keywords: poisoning, chemical incident, poisonous substance, deleterious substance

はじめに

1998年7月に和歌山で発生した毒物混入カレー事件に端を発し、全国で毒劇物等を用いた事件が相次いで発生した。またこの5年ほどの間に、阪神・淡路大震災、松本および地下鉄サリン事件、重油流出事故など大規模な事故、事件、災害が相次ぎ、こうした事態への対応に際して各分野で危機管理の重要性が指摘された。事件・事故の防止策を講じ、また発生時に迅速かつ適切に対応できる体制を整備するためにも、過去の事件や事故について分析し問題点も含めてそこから得られた知見を今後の方策に生かしていくことが重要である。これをふまえ、本研究では過去に起こった化学物質による(犯罪)事件および大規模な事故を調査・分析した。なお、事件という言葉は、必ずしも不正な目的で意図的にひきおこされる犯罪事件だけに使われる用語ではないが(例:ヒ素ミルク事件)、本報告書では便宜上、意図的なものを事件、非意図的なものを事故と使い分けた。

方 法

以下の情報源を用いて事件および大規模事故事例を調査した。

(1) 文献データベース

Medline, Toxline, CA Search, JICST 科学技術文献ファイル(JOIS)

(2) インターネット情報

1) 国内外の関連機関のホームページおよび中毒関連情報サイト

2) 検索エンジンによる検索(GOO, Alta Vista)

(3) 新聞データベース

朝日新聞データベース: 1984年8月~1999年2月

(4) 災害情報データベース(災害情報センター)

(5) 「毒劇物等の事故状況」(平成4~9年), 消防庁

結果と考察

1. 毒劇物等による事件

1998年7月の和歌山ヒ素混入カレー事件以降全国で毒劇物等を用いた事件が相次いだことから、内閣において「毒劇物対策会議」が設置され、その報告書の中で、過去の毒劇物事件において使用された物質や入手経路に関する情報等を関連省庁および関係付属機関(国立医薬品食品衛生研究所等)で共有して毒劇物の監視に活用すべきであるとされた¹⁾。

工場での化学物質による事故などと異なり、毒劇物中毒事件の場合は原因物質が直ぐには判明しないためその対応が遅れることが多い。今後の事件防止対策に活用するために、過去の毒劇物中毒事件を調査し、使用された毒劇物等の種類、事件の傾向、入手経路等を分析した。

[#] 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

1-1 過去の(犯罪)事件例の収集

個々の事件事例については、文献データベース、インターネット情報、その他の資料からはごく一部の事例しか得られなかったため、新聞記事データベースがほとんど唯一の情報源であった。新聞記事には次のようにいくつかの短所がある。a) 被害者数、状況などの記述が時間経過と共に変わることがあるので最終的なものを確認する必要がある、b) 後で容疑者検挙、原因物質特定などの事実があっても記事にならない場合がある、c) 同じような種類の事件でもその時の状況によって報道される場合とされない場合がある、d) いずれのデータベースにも共通する問題であるがデータベースからの情報検索は情報すべてが抽出されてくるという保証はない。しかし他に適切な公表情報源がないこともあり、上記のような短所を考慮に入れても毒劇物中毒事件例の収集においては新聞記事が最も有用と考えられる。すべての事例が抽出されるわけではないので数字の細かい比較は意味がないが、大まかな件数を相対的に比較することによって事件発生全体の像を把握し傾向を分析することは十分可能である。

新聞データベースを中心に公表資料から抽出した事件例は1984年8月～1999年2月で105件であり、これに警察庁の非公表資料を加えた111件を分析対象とした。この件数には以下のような事件は含めていない。

・小学校や中学校での給食への混入事件(被害が出たもの

や特別問題があるもの以外)

・催涙スプレー、防犯スプレー等を噴霧した事件(異臭事件等)の発生件数は近年増加しているが、特に被害が大きかったもの以外は除外した。

・犯罪事件対象のため自殺は除外したが、シアン化合物をインターネットで販売し自殺したケース、大学からアジ化ナトリウムを盗み自殺したケースは含めた。

なお、1984年から1985年にかけて全国的に多発したシアン化合物混入による企業脅迫事件、グリコ・森永事件は全体を1件として記載した。

1-2 事件の内容

111件の事例について、事件の種類、発生場所、原因物質別に大別したそれぞれの件数および内容を表1～3にまとめた。

(1) 事件の種類

事件を種類別に分類する方法はいろいろ考えられるが、本報告では便宜上表1のように分類した。不特定多数を対象とした毒物混入事件が最も多く半数以上を占めた。殺人・傷害事件の中には1992年から1993年にかけての筋肉弛緩剤(塩化スキサメトニウム注射液)を用いた大阪の愛犬家殺人事件(5名死亡)と硝酸ストリキニーネを用いた埼玉の愛犬家殺人事件(4名死亡)がある。これら2件の愛犬家殺人事件はいずれも原因物質は知人の獣医師から入

表1 毒劇物などによる事件の傾向 -事件の種類-

(事例総数:111件)

		件数	内容
毒物混入事件		67	
	農薬	36	農薬のうち、バラコート21件。 場所:自動販売機(25件)、コンビニやスーパー等の店(17件)、学校(9件)、研究室・大学・病院等(8件)
	次亜塩素酸	6	
	シアン化合物	5	
	アジ化ナトリウム	4	
	洗剤	4	
	ヒ素化合物	1	
	その他	11	
殺人・傷害事件		12	
	農薬	4	うち、バラコート3件
	その他	8	硝酸ストリキニーネ、酢酸タリウム、シアン化合物、ヒ素化合物、トリカブト、筋肉弛緩剤、天然アルカロイド等
オウム真理教関連の事件		9	サリン2件、シアンガス3件、VXガス3件、ホスゲン1件
企業脅迫		8	
	シアン化合物	4	1984年～1985年のグリコ・森永事件は全体を1件としている。
	その他	4	農薬、溶媒など
その他		15	
	催涙スプレー散布	4	駅の構内や地下通路、電車車内、学校などで散布
	その他	11	クロルピクリン、クレゾール等の散布3件、いやがらせ2件、インターネットによる販売2件、盗難・自殺1件、不明3件

手したものであり、動物病院における毒劇物管理のずさんさや獣医師の倫理観が問われた。1994年から1995年にかけての一連のオウム真理教関連事件は9件で、市街地、地下鉄、駅など公共の場所を対象にしたものと個人を対象にしたものがある。残存している戦争中の化学兵器によって起きた事故は別にして、化学兵器に用いられる物質による事件として少なくとも立件されたものはこれが最初である。催涙スプレーなどの散布事件に関しては、横浜駅地下通路で起きた事件や東京の中学校で起きた事件など被害者数が特に多かった4件のみを今回は対象としたが、スプレーの散布事件は近年増加の傾向にある。催涙スプレーは通信販売や個人輸入で入手できることから、規制を含め何らかの対策が必要と考えられる。表1記載の事例件数の中には、狂言13件が含まれている。これらはすべて1998年9月以降に発生したものであり、その多くはコンビニ、スーパーなどで購入した飲料に自分で薬物を混入して被害を装い届けたものである。

(2) 事件の発生場所

発生場所ごとの件数を表2に示した。自動販売機が最も多く(25件)、いずれも毒物混入事件でそのほとんどが農薬によるものだった。これらの事件は1984年12月～1985年11月に15件、1998年9月～11月に9件発生しており、発生時期が極端に局在化していた。このうち狂言は1件だった。コンビニ、スーパー、百貨店など店で発生した事件は18件であり、うち16件が1998年8月以降に発生したものだ。このうち11件が狂言であり、同じ毒物混入事件でも自動販売機における場合と比較して店の場合は狂言が多かった。

大学、研究室、病院などで発生した事件は10件で、こ

のうち、毒物混入事件が8件(うちアジ化ナトリウム3件)だった。学校(小学校、中学校等)で起こった毒物混入事件における混入物質は、ほとんどが農薬、クレゾール、洗剤、漂白剤といった一般に入手しやすいものであったが、中学校の理科の実験で使った試薬を給食に混入したケースもあった。

公共の場所(駅、地下鉄、地下街、公園等)で発生した10件は、オウム真理教関連事件の他、駅や電車車両内に催涙スプレーがまかれた事件、娯楽健康施設にクロロピクリンが投げ込まれた事件、寺で参拝者のためのお茶用電気ポットに殺虫剤が混入されていた事件等である。

インターネットを利用した事件は、1件は1998年に男性がシアン化カリウムをインターネット等を通じて知り合った7名に宅配便で送付し受け取った女性1名が自殺した事件(送った本人も自殺)、もう1件は大学院生が教室から持ち出したクロロホルムをインターネットを通じて販売し、購入した男性が強姦未遂事件で逮捕されたものである。

(3) 原因物質

原因物質ごとの件数を表3に示した。原因物質のうち半数以上が毒劇物取締法で規制されている物質だった。この数字の中にアジ化ナトリウム(事件当時は消防危険物)は含まれていないがその後毒物に指定されている。毒劇物取締法で規制されているものもないものも含め、原因物質としては農薬が最も多かった(47件)。農薬の場合、比較的入手しやすいことに加え、以前に農薬や白蟻駆除剤などとして使用されていた物質が長期間使われなまま倉庫や納屋などに保管されているケースも多いとみられる。こうした場合は実態の把握が困難である。化学兵器に用いられ

表2 毒劇物などによる事件の傾向 一事件の発生場所一

(事例総数:111件)

	件数	内容
自動販売機	25	農薬によるもの23件(うちパラコート15件) 1984年12月～1985年11月に15件、1998年9月～11月に9件発生
店	18	コンビニ、スーパー、百貨店などで購入した缶入り、紙パック入り、ペットボトル等の飲料への毒物混入事件17件。
大学、研究室、病院	10	毒物混入事件8件(アジ化ナトリウム3件、シアン化合物2件、カドミウム、クロロホルム、リグロイン)、殺人事件1件(酢酸タリウム)、自殺目的の盗難事件1件(アジ化ナトリウム)
学校(小学校、中学校等)	11	毒物混入事件10件、催涙スプレー噴霧事件1件
公共の場所	10	駅構内、駅地下街、地下鉄、寺境内、公園、健康施設等。
インターネットを利用	2	シアン化カリウム、クロロホルム
その他	35	食堂、保育園等。その他殺人・傷害事件など場所が特定できないもの。

る物質による事件はいずれもオウム真理教関連のものであった。この他原因物質としては、筋肉弛緩剤、トリカブト等がみられたが、これらは毒劇物取締法の対象にはなっていない。

1-3 入手経路

入手経路に関する情報はきわめて限られており、111件のうち新聞記事に入手経路が記載されていたのは18件のみであった。この内訳は次のようなものである。但し、新聞記事からの情報であるため、容疑者のその後の供述と異なる可能性もある。

- ・ 研究室・大学・学校等の実験室用試薬から入手：5件（アジ化ナトリウム、クロロホルム、酢酸タリウム、ストリキニーネ等）
- ・ 会社の倉庫に保管してあった試薬：1件（アジ化ナトリウム）
- ・ オウム真理教関連：5件（独自に合成等）
- ・ 理由を偽って薬品会社から入手：2件（シアン化合物）
- ・ 知人の獣医師から入手：2件（大阪および埼玉の愛犬家殺人事件）
- ・ 植物（トリカブト）購入：1件
- ・ 自宅の漂白剤：2件

しかしこの他に、入手経路として確認されていないものの、原因物質と同じ種類の試薬が研究室の薬品棚など事件発生場所にあったケースが6件あった。また入手経路が記載されていない事件でも、毒物劇物に指定されていないピレスロイド系農薬、漂白剤として家庭で用いられる次亜塩素酸、洗剤などは、一般でも容易に入手できる物質である。

1-4 毒劇物等の盗難・紛失事件

表1の111件の事例には含めなかったが、別途新聞記事から毒劇物の主な盗難・紛失事例を検索したところ、毒劇物を使用する会社の金庫等からの盗難や研究所、大学、高校等の実験室の試薬の盗難が多かった。表示の不備による輸送中の紛失もみられた。また盗難ではないが、戦前に農薬として使われた大量のシアン化カリウムが農業用倉庫にドラム缶に入れて保管されたまま忘れられていたことが分かったケースもある⁴⁾。

1-5 国外での事件例

海外での化学物質による個々の事件例に関しては、国内の場合と同様、文献データベースおよびインターネットの検索でほとんど抽出されてこなかったが、米国の重要な毒物混入事件であるタイレノール事件に関しては文献データベースからいくつかの資料が得られた。タイレノール事件の概要は以下のようなものである。

1982年秋に米国イリノイ州で、大手医薬品メーカー「ジョンソン・アンド・ジョンソン」社の鎮痛剤タイレノールにシアン化合物が混入され7人が死亡する事件が起きた。さらに、1986年2月、ニューヨーク州の女性がタイレノールを服用して混入されていたシアン化カリウムのため死亡し、続いて同州の2ヶ所から別のシアン化合物入りタイレノールが発見された。製造工場に混入した可能性はなくスーパーなどに置かれた後に混入されたと見られている^{4, 23, 24)}。米国ではタイレノール事件後、細工されたらすぐわかるように薬品や食品の包装が変わった。

1-6 事件発生の傾向

国内の毒劇物等を用いた事件の中で、特に目立ったのは、

表3 毒劇物などによる事件の傾向 -原因物質-

(事例総数:111件)

	件数	内容
特定毒物	1	パラチオン
毒物	46	パラコート25件、シアン化合物16件、ヒ素化合物2件、ホスゲン、ストリキニーネ等
劇物	16	クロルピクリン3件、クロロホルム2件、クレゾール3件、等
消防危険物	17	次亜塩素酸6件、アジ化ナトリウム5件(当時。現在は毒物)、等
化学兵器に用いられる物質	5	サリン2件、VXガス3件 (ホスゲンは毒物としてカウント)
その他	28	農薬(ピレスロイド系、物質名不明の農薬等)12件、催涙スプレー4件、洗剤4件、天然アルカロイド系毒物(トリカブト等)、カドミウムまたはカドミウム化合物(化合物のみ劇物指定)。他

毒物混入事件が模倣犯罪を誘発しやすいことと研究所や大学、病院等における事件が多いことだった。

(1) 模倣犯罪

特定の期間に類似の事件が集中して発生するいわゆる模倣犯罪が目立った。特に顕著なのは1984年から1985年にかけてのパラコート混入事件（多くは自動販売機）、1998年7月から年末にかけての毒物混入事件だった。1998年の毒物混入事件多発の際には、狂言も多くみられた。

1) 1984から1985年のパラコート混入事件

パラコートによる事件25件のうち16件までが1984年10月から1985年11月の間に発生し、そのほとんどが自動販売機で缶飲料に混入された事件である。パラコート中毒は死亡率が高くこの期間のパラコート混入事件による死亡者は11名にのぼる。

2) 1998年7月の和歌山ヒ素混入カレー事件から1998年末までの毒物混入事件

111事例のうち上記の期間に発生した事件は44件であり、そのうち毒物混入事件は38件にのぼった。このうちアジ化ナトリウム混入事件は4件であり、いずれも新潟毒茶事件以降に起こった。なお、この集計後1999年6月にも

埼玉県の研究所で電気ポットの湯にアジ化ナトリウムが混入された事件が発生している。毒物混入事件は、被害者と加害者の間に特別の関係がみられないことから犯人をしぼりにくく、また特定の人物を対象としていないために犯行は実行しやすい時間や場所を選ぶことができるので比較的容易に行えると思われている可能性があり、こうした点も模倣犯罪を誘発しやすくしているのかもしれない。

(2) 研究所や大学の研究室、病院等における事件

全体を通して、事件の発生場所、入手経路共に研究所や大学の研究室、病院等が目立った（主に毒物混入事件）。研究室等では、一般の人が入手しにくい毒劇物を比較的容易に入手できる一方、研究者、学生など多くの人が日常的に実験等で試薬を使うため厳重な管理がしにくい面もある。アジ化ナトリウムは、事件当時毒劇物には指定されていなかったものの一般人には入手し難い物質であったが、一方研究機関や大学の実験室では普通にある試薬のひとつだった。新潟の毒茶事件で倉庫にあったアジ化ナトリウムが犯罪に使われたのをきっかけにその後4件の犯罪が相次いだ。これらはいずれも研究機関、大学、病院だった。アジ化ナトリウムの例から、過去に使用されたことが

表4 主な輸送事故事例

発生日時	原因物質	発生場所	概要(文献番号)	被害状況
1990.07.13	硝酸とフッ化水素酸の混合液(毒物、劇物)	山口県の中国自動車道	走行中のタンクローリー車から硝酸とフッ化水素酸の混合液が漏出。フッ化水素酸が気化して付近に黄色い煙と悪臭がたちこめ、町は付近住民に避難命令を出した。中和作業がはかどらず、道路が長時間にわたってストップした。(文献:4)	
1993.04.01	クロルピクリン(劇物)	岡崎市の東名高速道路上	クロルピクリン積載車両が交通事故で出火し、クロルピクリン缶が膨張破裂して有毒ガスが発生。中和剤による処理が始まったのは事故発生から九時間後であり、事故発生約16時間半後に道路が全線開通した。(文献:4,8,7)	付近に駐車中の運転手ら2名が被害、うち1名がガスを吸って肺水腫のため死亡、他の1名は軽傷。近くの公園の職員や消防職員も被害。
1997.08.05	脂肪酸クロライド	静岡県東名高速道路上	脂肪酸クロライドを積んだタンクローリーが横転したタンクから脂肪酸クロライド(主にステアリン酸クロライド)が漏出。雨水と反応して塩化水素ガスを発生したため、中和作業に時間がかかり高速道路は約15時間にわたって機能マヒに陥った。(文献:4,7)	運転手が重傷。
1997.09.19	キシレン(劇物)	佐賀県の長崎自動車道	タンクローリーが横転し、キシレン約100リットルが流出。化学消防車などが出動。発火の恐れがあるため、事故直後から現場付近は約2時間通行止めになった。(文献:4,14)	なし
1997.10.21	フェニレンジアミン(劇物)	狹津市の東名高速道路日本坂トンネル内	トンネル内でタンクローリーが横転し、積んであった石油類が流出。物質名がフェニレンジアミンと特定できたのは事故発生から約2時間後、回収作業に手間取った。(文献:4)	運転手が軽いけが。レッカー会社の作業員が薬品に触れ、右手などに約二週間のやけど。
1999.10.29	過酸化水素(劇物)	東京都港区の首都高速道路上	タンクローリーが走行中、過酸化水素の液体を積んだタンクが爆発。積み荷の過酸化水素が現場に流出。衝撃で道路の防音壁や付近のビル、店舗の窓ガラスが破損した。タンク内に残留していた別の物質と過酸化水素が反応して爆発したものとみられている。(文献:15)	運転手、近くの車に乗っていた人、道路の下の通りをいた人約20名が重軽傷。

ほとんどない化学物質でも、突然いつ犯罪に使用されるか予測がつかない面があることが示唆される。特に、研究所、大学、中学校や高校の理科実験室、化学品会社など、試薬が身近にある場所では、思いもかけない試薬が犯罪に使われる可能性がある。

2. 化学物質による事故

化学物質による事故としては、化学プラント事故、輸送中の流出事故、タンカーからの油流出事故、食品等への有害物質の混入事件（非意図的なもの）、家庭やその周辺における事故（家庭用製品による中毒事故、有毒ガスの発生、その他）等がある。事故の発生件数は毒物等を用いた犯罪事件件数に比べはるかに多く原因物質の種類も多い。

かつて我が国で起こった食品への有害物質の混入（ヒ素ミルク事件、カネミ油症等）や公害型被害（水俣病、イタイタイ病、各種鉍毒事件等）のような重大事故についてはその後さまざまな対策がとられたり法整備が行われ、近年この種の事故は起こっていない。また外国の大規模事故例（表5）によくみられるような化学プラントの大事故

（火災、爆発、漏洩等）は我が国ではこれまでほとんど起こっていないが、化学プラントの数は多いことから大規模事故発生の可能性は常にあるといっていだらう。むしろ外国に比べて対応の経験が少ないだけに事故発生を想定した対応策を準備しておく必要がある。

2-1 国内の事故事例

個々の事故事例が収載されている資料は事件事例に比べてはるかに多い。当部でも1997年に化学物質による事故事例を調査したことがあり²⁾、本報告では事故に関する個々の事例は取り上げない。消防庁の「毒劇物等の事故状況」¹⁴⁾においては、平成4年から9年までの6年間における事故件数225件のうち、原因物質として最も多かったものは、アンモニア（液体アンモニアを含む：52件）、次いでクロルピクリン（32件）、塩素ガス（26件）、その他酸やアルカリ等であった。事故の原因としては、漏出が138件、火災が19件、その他（輸送中の事故等）が68件だった。原因物質としてあげられている物質は約60種類近いが、やはりアンモニア、クロルピクリン、塩素ガスといった拡散しやすい物質による被害事故が多い。化学物質によ

表5 国外の大規模事故例

発生日時	原因物質	発生場所	概要（文献番号）	被害状況
1974.06.01	シクロヘキサン	英国、フリックスポロ	バイパスパイプのデザイン不良のためシクロヘキサンが急速に押し出されて空気と混合し爆発性蒸気雲を形成、発火源によって爆発した。（文献：10,21）	建物が破壊され、従業員28名死亡、36名負傷。800メートル離れた近くの村でも多くの建物が破壊された。
1976.07.10	ダイオキシン、トリクロロフェノール他	イタリア、セベン	イタリアのイクメサ社のトリクロロフェノールを扱う化学プラントで暴走反応が起こり、生成したダイオキシン等が大量に放出された。（文献：5,8,10,16,17,18）	22万人以上に被害。吐き気、頭痛、塩素座敷を引き起こし、広い範囲で土地が汚染された。
1984.12.02	メチルイソシアネート	インド、ポパール	ユニオンカーバイド社の殺虫剤製造プラントで、タンクの安全弁が破裂しイソシアネートメチル等が大量に流出。プラントの周辺に住んでいた多数に被害が出た。（文献：4,5,9,10,16,19,20）	約2000人以上が死亡。被害者総数は約20万人前後といわれている。
1988.08.21	二酸化炭素、亜硫酸ガス、硫化水素など	カメルーン、ニオス湖	カメルーンの火山湖であるニオス湖で、火山作用によってガスが噴出し、近くの村の住民多数死亡。（文献：4,11,16）	1,700人以上が死亡。生存者は数時間意識を失っていた。湖底にあった大量の二酸化炭素が吹き出したことによると考えられている。
1989.03.24	原油	アラスカ沖	アラスカ沖でタンカー「エクソン・バルディーズ号」が座礁。原油24万バレルが流出。原油除去作業が難航し、環境に大きな被害が出た。（文献：4,22）	動植物をはじめ、環境に大きな被害が出た。
1992.03.24	アンモニア	セネガル、ダカール郊外	ピーナッツ加工工場のアンモニアタンクが爆発。タンクに過剰のアンモニアを注入したため。（文献：4,12）	90名死亡、約350名負傷
1992.04.22	ノバ・ガンソリン、ヘキサン	メキシコ、グアダラハラ	市下水道で地下パイプラインから漏れた大量のノバ・ガンソリンなどが一連の爆発を起こし、多数の死傷者が出た。爆発の前からガス臭があり警察や消防に通報があったが対策がとられていなかった。（文献：4,13）	少なくとも200名死亡、1000名以上負傷、犠牲者は約1万人。損壊した建物は1000戸以上とみられる。
1993.08.05	硝酸系化学薬品(?)	中国、深セン経済特区	化学薬品の倉庫が次々と爆発。従業員の他に消防団員、警察官らも多数死亡。倉庫には硝酸アンモニウムなどの各種化学薬品や燃料などが保管されていた。（文献：4）	死傷者は150人以上ともいわれているが不明。

る事故において、拡散しやすい有毒ガスが発生するような事故の場合は事故現場だけでなく周辺住民や地域にも影響を及ぼし被害が拡大する可能性がある。こうした例は、化学工場における塩素ガス等の発生や、有毒な化学物質を積載した車両が交通事故などを起こして内容物が周辺に散乱し漏出した場合によくみられる。輸送中の主な事故を表4に示した。東名高速道路で起きたクロルピクリン流出事故では、物質の毒性に関する情報伝達が不十分で救出にあたった消防職員等に二次被害が出た。1999年3月にフランス・イタリア国境のモンブラントンネル内で車両火災が発生し少なくとも30名以上が死亡したが、我が国でも東名高速でのクロルピクリン流出事故のような拡散しやすい有毒物質を積載した車両がもしトンネル内で事故を起こしたら被害は非常に大きなものになるであろう。条件や状況が少し変わっただけで思いもかけない大事故になる可能性があることを常に念頭において対応を考えておく必要がある。

2-2 国外の事故事例

国外の化学物質事故については、文献検索や新聞記事検索により数十例が抽出されたが、特に大規模なものを表5に記載した。化学プラント事故が多いが、化学プラントではいくつもの工程で大量の化学物質を扱うため、どこかの工程で不具合が発生すると暴走反応や圧力上昇、発熱などが起こり大事故につながりやすい。特に重要な大事故である1976年のイタリア、セベソのダイオキシン発生事故と1984年インド・ボパールで起きたイソシアン酸メチル（メチルイソシアネート）流出事故について記述する。

(1) イタリア、セベソの事故^{5, 8, 10, 16, 17, 18)}

1976年7月10日、イタリア北方のセベソと境を接する町メダにあるイクメサ社の農薬工場で爆発事故が起きた。この事故は農薬の原料となる2,4,5-トリクロロフェノールの製造中に起きた。反応工程で反応器内の温度が急上昇し安全弁が吹き飛ぶと共に、反応温度の上昇によって生成した多量のダイオキシンがトリクロロフェノール、水酸化ナトリウム、エチレングリコール等他の化学物質と共に大気中に拡散し数キロメートル四方に広がった。他の国でそれまで起きた同種の事故例からダイオキシンの生成が予測されたにもかかわらず爆発事故のあと詳細な事故情報は隠されており、動物が死に幼児が皮膚障害を起こして、ダイオキシンが確認されたのは事故後10日ほどたってからだった。住民はその間ダイオキシンに汚染された地域に情報を知らされないまま住み続けていたことになる。その後住民の強制疎開が始まったが、多くの子供がクロールアクネ（塩素座創）にかかり、大量の動物が死亡した。土地は広い範囲にわたって汚染された。流産の率が増加し、その後も長期にわたって住民の健康影響のモニタリング調査が続いている。最近の報告では、心血管系や呼吸器系の疾患、がん発生率などの増加がみられている。

(2) インド・ボパールの事故^{5, 9, 10, 16, 19, 20)}

1984年12月2日の夜から3日未明にかけて、インドのボパールにある米系化学企業ユニオンカーバイドインド社のカーバメート系殺虫剤（カルバリル）製造プラントから、非常に毒性の強いイソシアン酸メチル（MIC）とその反応生成物が大量に漏洩した。被害者数はいまも正確にはわかっていないが、インド政府の概算では死者約1800人、他の文献には死者2500～5000人との数字が見られる。被害者の総数も文献によってさまざまだが約20万人前後とされている。ボパールは事故当時プラント周辺に約10万人が居住していたと推定されているが、被害者に被差別カーストや少数部族の人たちも多く戸籍もないため州政府も実際にどれだけの人が事故現場周辺に住んでいたのか把握できていない。漏出の原因として広く認められているのは、MICの入ったタンクの中に水が入ったことである。その結果MICと水が混じって激しく発熱し、圧力上昇によってタンクの安全弁が破裂してタンク内のMICと反応生成物が数時間以内にほとんど漏出した。MICは粘膜への刺激性がきわめて強く吸入時の急性毒性も高い。高濃度では呼吸困難や肺水腫を起こす。事故後も被害者に神経障害、死産や流産、眼、肺等の損傷や喘息など数々の後遺症がみられている。この事故では、中和剤用の設備があったにもかかわらず中和剤が入っていなかった、事故の連絡が遅れた、秩序だった避難がまったく行われなかった、MICの詳細は企業秘密とされており会社は漏洩したガスの性質や暴露したときの手当の方法について詳細な情報を与えなかった、など技術面、安全管理面、人的面、情報面などあらゆる部分できわめて多くの問題がみられた。

まとめ

今回収集した毒劇物等を用いた事件事例では不特定多数を対象とした毒物混入事件が最も多く、また原因物質としては農薬が最も多かった。事件全体の半数以上が毒劇物取締法で規制されている物質を用いたものだった。全体の傾向として特に目立ったのは、毒物混入事件が模倣犯罪を誘発しやすいことと研究所や大学、病院等における事件が多かった。アジ化ナトリウムの例からみて、過去に使用例がほとんどない物質でも、研究室や薬品倉庫など試薬が身近にある場所では、思いもかけない試薬が突然犯罪に用いられる可能性がある。毒劇物取締法で規制されていない物質でも危険と思われる物質については、自主的に毒劇物に準じた管理を行う必要があると考えられる。

一般に公表資料からは、入手経路や原因物質同定の経緯についての情報を得にくい。しかしこれらの情報は事件防止あるいは事件発生時の対応において重要な情報であり、毒劇物管理に携わる行政機関、原因物質の特定に携わる分析機関など関係機関でこれらの情報を共同利用できる体制

整備がのぞまれる。

国外、特に米国の国立機関ホームページには、化学物質事故対応マニュアルや危険物質に関する情報が豊富である。事故や事件に関連する有用なサイトは必要に応じて迅速にアクセスできるように、国立衛研ホームページの「健康危機管理に関連する情報」ページからリンクしている。(http://www.nihs.go.jp/hse/hazard/index.html)

なお、本研究は平成10年度厚生科学研究費により行った³⁾。

文 献

- 1) 毒劇物対策会議報告書
http://www.kantei.go.jp/jp/topics/981208dokurepo.html
- 2) Yamamoto, M. et al.: Bull. Natl. Inst. Health Sci., 116, 132-136 (1998)
- 3) 平成10年度厚生科学特別研究事業研究報告書「毒劇物中毒事件に関する研究」(主任研究者: 山本都)
- 4) Newspaper Database Asahi. Com Perfect (August 1984-February 1999)
- 5) Murata, T.: Kankyō Joho Kagaku, 16 (3), 16-22 (1987)
- 6) Headquarters of Fire Department, Okazaki City, Aichi Pref.: Kindai Shobo, 33, 33-37 (1995)
- 7) Fire and Disaster Management Agency: Kindai Shobo, 36, 58-62 (1998)
- 8) Fukuyama, I.: Bosai System 4, 3-7 (1981)
- 9) Miyake, T. and Bowonder, B.: Journal of Japan Society for Safety Engineering, 26, 346-354 (1987)
- 10) Takagi, N.: Journal of Japan Society for Safety Engineering, 32, 253-259 (1993)
- 11) Workshop "Mass poisoning and its response" (1 July 1995)
The Japanese Journal of Toxicology, 9, 43-74 (1996)
- 12) News of incidents and disaster No.68, Journal of Japan Society for Safety Engineering, 32 (2), 132 (1993)
- 13) News of incidents and disaster No. 69, Journal of Japan Society for Safety Engineering, 32 (3), 208 (1993)
- 14) Incidents by Poisonous and Deleterious Substances (1992-1997), Fire and Disaster Management Agency
- 15) Asahi Newspaper, 1999. 10. 29
- 16) Ferner R. E.: Pharmac. Ther. 58, 157-171, (1993)
- 17) Bertazzi, P. A. et al.: Environmental Health Perspectives, 106, 625-633 (1998)
- 18) Landi M. T., et al.: The Lancet, 349, 1811, (1997)
- 19) Mehta, P. S. et al.: JAMA, 264, 2781-2787 (1990)
- 20) Koplan, J. P. et al.: JAMA, 264, 2795-2797 (1990)
- 21) Major Industrial Accidents Council of Canada
http://www.maacc.ca/MM.html
- 22) R. W. Gorman, et al.: HETA 89-200 & 89-273-2111 by NIOSHI, (1991)
- 23) Dabis, D. A. and Richards, R.: Drug Cosmet Ind (DCI), 131, 30 (1982)
- 24) OTC Capsules Threatened By New Tylenol Crisis, Drug Cosmet Ind (DCI), 138, 34 (1986)

英文要旨の和訳

日本で過去に起こった毒劇物による(犯罪)事件を調査・分析した。事件事例(111例)は主に新聞データベースから収集した。事件事例の半分以上が、毒劇物の対象になっている毒劇物によって引き起こされたものであった。事件発生の傾向として、模倣事件が多いこと、および研究所、大学、病院など日常的に試薬が使われる場所での発生が多いことがあげられる。この他、輸送時の化学物質による事件事例などについても調査した。

5-フッ化プロパノール (2,2,3,3,3-pentafluoro-1-propanol, 5FP) の ラットを用いた経口投与による催奇形性試験

宇佐見 誠[#]・酒見和枝・紅林秀雄・大野泰雄

Teratogenicity study of 2,2,3,3,3-pentafluoro-1-propanol (5FP) in rats by oral administration

Makoto Usami[#], Kazue Sakemi, Hideo Kurebayashi, Yasuo Ohno

Teratogenicity of 2,2,3,3,3-pentafluoro-1-propanol (5FP), an alternative cleaning agent for chlorofluorocarbon, was examined in rats. 5FP was diluted with sesame oil and given to pregnant rats (Crj: Wistar) by gavage once a day from day 7 to 17 of pregnancy at doses of 0, 250, 500 and 1000 mg/kg/day. The pregnant rats were sacrificed on day 20 of pregnancy and their fetuses were examined for malformation. In the pregnant rats, 5FP caused wheezing, salivation, ptosis, reduced body weight gain and reduced food consumption at 500 and 1000 mg/kg/day. In the fetuses, 5FP reduced body weight, increased the incidences of skeletal variations and retarded the ossification at 1000 mg/kg/day, but did not increase the incidences of malformations. It was concluded from these results that 5FP has no teratogenicity in rats when given by gavage. The no-observed-adverse-effect level was 500 mg/kg/day for rat fetuses, and 250 mg/kg/day for pregnant rats.

Keywords: 2,2,3,3,3-pentafluoro-1-propanol, cleaning agent, Wistar rat, teratogenicity

緒言

5-フッ化プロパノール (2,2,3,3,3-pentafluoro-1-propanol, 5FP) は、電子部品等の精密洗浄に使用される特定フロンであるCFC-113の代替物質のひとつとして有望視される洗浄液である¹⁾。含フッ素アルコール系化合物である5FPは、塩素を含まないので、フロンとは異なり成層圏オゾン層を破壊しないと考えられている。また、不燃性であること、沸点が80℃と高いため揮発ロスが少なく回収しやすいこと等の利点を持つ。しかし、ABS樹脂およびポリカーボネイト樹脂を溶解すること等の欠点、並びに安全性の確認等、広く使用されるための問題が残されている。本試験では、5FPの安全性評価の一環として、催奇形性についてラットを用いて調べた。

材料および方法

1. 被験物質

5FPはダイキン工業株式会社より入手した。性状は無色透明の液体で、添付資料による純度は99.3%であった。

5FPのCAS登録番号は422-05-9で、分子量は150.0である。

2. 試験系

ウイスター系ラット (日本チャールスリバー, Crj: Wistar) の雌 (9週齢) および雄 (11週齢) を用いた。未経産の雌を雄と終夜同居させ、翌朝産卵中に精子が認められたものを妊娠ラットとして試験に供し、解剖順に各群20匹目までの妊娠が確認された動物のデータを試験成績として用いた。妊娠日の起算は精子確認日を妊娠0日とした。

3. 飼育条件

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

4. 用量および群構成

5FP投与群として250, 500 および 1000 mg/kg/day の3用量を設定し、対照群を加えて計4群とした。1群の動物数は25匹とした。

5. 投与方法

ゴマ油 (日本薬局方, 宮澤薬品, ロット番号: JG30) で希釈した被験物質を、妊娠7日の体重に基づいて妊娠7~

[#] To whom correspondence should be addressed:

Makoto Usami; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext. 342; Fax: 03-3707-6950; E-mail: usami@nihs.go.jp

17日の11日間、1日1回、胃ゾンデを用いて妊娠ラットに強制経口投与した。被験物質溶液の濃度は、投与量がいずれの用量においても5 ml/kgとした。対照群にはゴマ油5 ml/kgを同様に経口投与した。

6. 観察方法

妊娠動物の一般状態、体重および餌重量を試験期間中毎日、観察または測定した。妊娠20日に妊娠動物を屠殺し、黄体数、着床数および胚・胎児死亡を調べた。生存胎児については、外表の異常および性別を調べ、体重および胎盤重量を測定した。各妊娠動物の約3分の2の生存胎児についてAlizarin red S染色骨格標本を作成し骨格を観察した²⁾。残り約3分の1の生存胎児については内部器官を観察した。内部器官の観察には、頭部および腹部については粗大切片法³⁾を、胸部については顕微解剖法⁴⁾を用いた。

7. 統計学的方法

妊娠動物または一腹を標本の単位とした。対照群と5FP投与群との差の有意性の検定には、度数データについてはFisher直接確立法を用いた。計量データについては、Bartlettの等分散検定により群間で分散に差がないことを調べた後、分散分析またはKruskal-Wallisの検定およびDunnnett法を用いた。群間で分散に差が認められた計量データおよび計数データについては、Kruskal-Wallisの検定およびDunnnett法を用いた。

結 果

1. 妊娠ラットに及ぼす影響

1.1. 一般状態

いずれの群にも死亡動物は認められなかった。対照群および250 mg群では一般状態の変化は認められなかったが、500および1000 mg群では投与期間中に喘鳴、流涎および眼瞼下垂が観察された (Table 1)。これらの症状は、500 mg群では12例に妊娠11日から17日まで、1000 mg群で

は全例に妊娠7日から17日まで認められた。500および1000 mgのいずれの投与群においても、流涎および眼瞼下垂は投与10分後から発現し、4時間後には消失する一過性の変化であった。

1.2. 体重および摂餌量

体重には、対照群と5FP投与群との間に有意差は認められなかったが、妊娠7日の体重を基準とする投与期間中の体重増加量には、500および1000 mg群において妊娠9、10および11日に対照群に比べて有意な減少が認められた (Table 2)。

摂餌量は、妊娠9日に500および1000 mg群において対照群に比べて有意な減少が認められた (Table 2)。

2. 胎児に及ぼす影響

2.1. 生存胎児数、性比、胎児体重および胚・胎児死亡
胎児体重が1000 mg群で対照群に比べて有意に減少した (Table 3)。黄体数、着床数、着床率、生存胎児数、性比および胚・胎児死亡率には、対照群と5FP投与群との間に有意差は認められなかった。

2.2. 胎児外表

各5FP投与群において2匹の胎児に奇形が認められたが、対照群と比較して発生率に有意な増加は認められなかった (Table 4)。

2.3. 胎児骨格

胎児骨格には奇形は認められなかった (Table 5)。骨格変異は、250および500 mg群では対照群と比較して有意な変化は認められなかったが、1000 mg群では骨格変異を有する胎児の総発生率が有意に増加した。腰肋を有する胎児の発生率が有意に増加したが、過剰肋骨を有する胎児の発生率には有意な変化はなかった。また、仙尾椎骨および中手骨の骨化核数が有意に減少し化骨遅延を起こしていることを示した。250 mg群における中手骨の骨化核数の有意な

Table 1. Clinical signs of pregnant rats treated with 5FP

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	250	500	1000
No. of rats	20	20	20	20
No. of dead rats	0	0	0	0
No. of rats with toxic signs ^a	0	0	16 (80%)**	20 (100%)**
Salivation	0	0	12 (60%)**	20 (100%)**
Ptosis	0	0	10 (50%)**	18 (90%)**
Wheezing	0	0	8 (40%)**	18 (90%)**

a, Incidence is shown in the parentheses. **, Significantly different from the control group (p<0.01).

Table 2. Body weight, body weight gain and food consumption of pregnant rats treated with 5FP

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	250	500	1000
Body Weight (g) ^a				
Day 0	268.9 ± 12.3	268.8 ± 13.0	266.8 ± 14.9	268.9 ± 14.2
Day 7	306.3 ± 15.2	307.0 ± 16.9	306.1 ± 16.2	306.0 ± 17.5
Day 12	331.1 ± 18.7	329.4 ± 18.2	326.4 ± 18.8	327.0 ± 19.1
Day 17	381.5 ± 23.8	380.5 ± 20.6	375.0 ± 22.9	376.2 ± 21.8
Day 20	433.4 ± 27.9	431.2 ± 23.0	428.3 ± 27.2	425.4 ± 23.8
Body weight gain during dosing period (g) ^a				
Days 7-9	8.2 ± 3.7	5.9 ± 2.8	1.0 ± 4.4**	0.7 ± 4.4**
Days 7-11	19.7 ± 6.1	17.7 ± 4.4	13.6 ± 4.9**	14.4 ± 7.1**
Days 7-13	31.4 ± 7.9	29.6 ± 4.9	26.6 ± 5.5	26.6 ± 7.8
Days 7-15	45.3 ± 9.4	44.1 ± 9.8	41.6 ± 7.3	44.4 ± 7.6
Days 7-17	75.2 ± 11.9	73.6 ± 8.6	69.0 ± 9.2	70.2 ± 9.2
Food consumption (g/day) ^a				
Days 0-1	20.5 ± 2.1	20.6 ± 2.9	20.7 ± 3.2	19.8 ± 2.9
Days 6-7	24.7 ± 2.8	24.7 ± 2.9	25.0 ± 2.6	25.5 ± 2.7
Days 8-9	21.7 ± 3.2	21.4 ± 2.6	18.3 ± 2.7**	17.0 ± 2.9**
Days 11-12	21.6 ± 3.8	24.1 ± 13.5	21.0 ± 3.0	19.8 ± 3.4
Days 16-17	24.5 ± 3.5	26.0 ± 9.5	23.3 ± 3.4	24.3 ± 3.7
Days 19-20	24.5 ± 3.7	24.3 ± 4.2	26.4 ± 2.9	28.1 ± 2.7

a, Mean ± S.D. is shown. **, Significantly different from the control group (p<0.01).

Table 3. Fetal growth in pregnant rats treated with 5FP

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	250	500	1000
No. of litters	20	20	20	20
No. of corpora lutea ^a	17.5 ± 1.2	17.1 ± 1.9	17.5 ± 1.6	17.6 ± 1.9
No. of implants. ^a	16.2 ± 1.6	16.4 ± 2.0	16.0 ± 2.6	16.6 ± 1.9
Implantation rate (%) ^a	92.7 ± 8.4	96.0 ± 6.3	91.8 ± 14.5	94.2 ± 5.4
No. of live fetuses ^a	15.5 ± 1.9	15.6 ± 2.1	14.8 ± 2.6	15.7 ± 2.0
Sex ratio (male/female)	1.13	1.06	1.09	1.00
Fetal weight (g) ^a				
Male	3.88 ± 0.18	3.83 ± 0.21	3.82 ± 0.22	3.40 ± 0.25**
Female	3.70 ± 0.16	3.64 ± 0.22	3.67 ± 0.18	3.22 ± 0.23**
No. of dead implants				
Early death	14	16	23	17
Late death	1	0	0	1
Mortality (%) ^a	4.5 ± 4.5	4.9 ± 5.2	7.0 ± 7.5	5.1 ± 5.5

a, Mean ± S.D. is shown. **, Significantly different from the control group (p<0.01).

減少は、他の骨化核数および 500 mg 群においては有意な減少が認められないことから、被験物質投与によるものではない偶発的な変化と考えられる。

2.4. 胎児内部器官

対照群に、1匹の胎児に心血管系および肺分葉異常の奇形が認められた。また、いずれの群においても2～8匹の胎児に小奇形が認められたが、対照群と5FP投与群には発

生率に有意差は認められなかった (Table 6)。

考 察

本試験の結果から、5FPにはラットにおける経口投与では催奇形性は認められないと考えられる。5FPは妊娠動物に体重増加抑制、摂餌量減少、喘鳴、流涎および眼瞼下垂等の毒性徴候を起こす投与量においても、胎児の奇形発生

Table 4. External malformations in the fetuses from pregnant rats treated with 5FP

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	250	500	1000
No. of litters	20	20	20	20
No. of fetuses examined	309	312	296	314
No. of litters with malformed fetus ^a	0 (0.00%)	2 (10.0%)	1 (5.00%)	2(10.0%)
No. of fetuses with malformation ^b	0 (0.00%)	2 (0.61%)	2 (0.72%)	2(0.65%)
Omphalocele	0 (0.00%)	2 (0.61%)	0 (0.00%)	1(0.33%)
Anal atresia	0 (0.00%)	1 (0.32%)	1 (0.36%)	0(0.00%)
Anury	0 (0.00%)	1 (0.32%)	0 (0.00%)	1(0.33%)
Kinky tail	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	1(0.32%)
Vestigeal tail	0 (0.00%)	0 (0.00%)	2 (0.72%)	0(0.00%)

a, Incidence is shown in the parentheses. b, Total number and mean incidence are shown.

Table 5. Skeletal variations in the fetuses from pregnant rats treated with 5FP

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	250	500	1000
No. of litters	20	20	20	20
No. of fetuses examined	208	208	194	203
No. of fetuses with malformation ^a	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
No. of fetuses with variation ^a	32 (15.4%)	37 (17.8%)	30 (15.1%)	88 (43.3%)**
Hypoplastic supraoccipital	9 (4.81%)	6 (2.68%)	11 (6.02%)	23 (11.5%)
Cervical rib	1 (0.46%)	0 (0.00%)	1 (0.42%)	2 (1.06%)
Wavy rib	7 (3.74%)	1 (0.50%)	7 (3.79%)	18 (9.28%)
Deformed cervical vertebral arch	4 (2.34%)	1 (0.46%)	5 (2.63%)	4 (2.01%)
Deformed sternbrae	2 (1.17%)	5 (2.34%)	2 (0.92%)	6 (2.96%)
Deformed thoracic vertebral body	2 (1.01%)	2 (1.00%)	1 (0.56%)	7 (3.42%)
Lumbar rib	17 (7.81%)	22 (10.9%)	15 (7.62%)	54 (26.4%)**
Extra rib	2 (0.96%)	2 (0.92%)	0 (0.00%)	7 (3.51%)
Rudimentary rib	17 (7.35%)	21 (10.4%)	15 (7.62%)	52 (25.3%)**
No. of sacro-caudal vertebrae ^b	7.84 ± 0.38	7.75 ± 0.36	7.60 ± 0.48	7.13 ± 0.57**
No. of metacarpus ^b	7.22 ± 0.62	6.73 ± 0.51*	6.79 ± 0.73	6.38 ± 0.64**
No. of metatarsus ^b	7.99 ± 0.04	7.99 ± 0.04	7.98 ± 0.06	7.94 ± 0.20

a, Total number and mean incidence are shown. b, Mean ± S.D. is shown. *, Significantly different from the control group (p<0.05). **, Significantly different from the control group (p<0.01).

率を増加させなかった。また、胎児骨格検査において、腰肋の発生率の増加が認められたが、催奇形性の指標となりうると考えられている過剰肋骨⁵⁾の発生率には変化が認められないので、より高用量においても胎児奇形発生率が増加することはないと考えられる。

本試験条件下での5FPの妊娠ラットに対する無有害影響量は250 mg/kg/dayであると考えられる。これは、500および1000 mg 群では母動物に一般状態の変化、体重増加抑制および摂餌量減少等の毒性徴候が認められたが、250 mg 群では対照群と比較して有意な変化が認められないからである。

ラット胎児に対する無有害影響量は500 mg/kg/dayであると考えられる。これは、1000 mg 群では胎児に体重減少、骨格変異発生率の増加および化骨遅延等の毒性徴候が認められたが、250 および 500 mg 群では対照群と比較して被験物質投与による有意な変化が認められないからである。

文 献

- 1) 佐野・秋元・浦野・倉田・富永(編)：季刊化学総説 **11** フロンの環境化学と対策技術，学会出版センター，東京(1991)
- 2) Dawson, A. B.: *Stain Technol.*, **1**, 123 (1926)
- 3) Wilson, J. G.: in *Teratology principles and techniques* (eds. Wilson, J. G. and Warkany, J.) pp. 262, The University of Chicago Press, Chicago (1965)
- 4) 西村耕一：先天異常，**14**, 23 (1974)
- 5) 安田峯生，前田広由：先天異常，**13**, 25 (1973)

Tabl 6. Visceral malformations in the fetuses from pregnant rats treated with 5FP

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	250	500	1000
No. of litters	20	20	20	20
No. of fetuses examined	101	104	102	111
No. of litters with malformed fetus	2 (10.0%)	4 (20.0%)	3 (15.0%)	6 (30.0%)
No. of fetuses with malformation ^a	2 (2.00%)	5 (4.84%)	3 (3.50%)	8 (7.17%)
Thymic remnant in neck	1 (1.00%)	3 (2.84%)	3 (3.50%)	5 (4.34%)
Abnormal heart and great vessels	1 (1.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
Abnormal lung lobulation	1 (1.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
Dilatated renal pelvis	0 (0.00%)	1 (1.00%)	1 (1.00%)	2 (1.84%)
Left-sided umbilical artery	0 (0.00%)	1 (1.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)

a, Total number and mean incidence are shown.

モルホリン脂肪酸塩の ラットを用いた経口投与による催奇形性試験

酒見和枝[#], 宇佐見 誠, 紅林秀雄, 大野泰雄

Teratogenicity study of morpholine salts of fatty acids (oleic acid, 50% water solution) in rats by oral administration

Kazue Sakemi[#], Makoto Usami, Hideo Kurebayashi and Yasuo Ohno

Teratogenicity of morpholine salts of fatty acids was examined in Wistar rats (Crj : Wistar). Morpholine salts of fatty acids (oleic acid, 50% water solution) was given to pregnant rats by gavage once a day from day 6 through day 15 of pregnancy at doses of 0, 234, 468 and 936 mg/kg/day. The pregnant rats were sacrificed on day 20 of pregnancy and their fetuses were examined for malformation. Morpholine salts of fatty acids caused nasal discharge, dirty nose and salivation in pregnant rats at doses from 234 mg/kg/day. However, fetal effects, such as malformation and growth retardation, were not observed even at 936 mg/kg. It was concluded that morpholine salts of fatty acids has no teratogenicity in rats when given by oral administration. The no-observed-adverse-effect level was 936 mg/kg/day for rat fetuses and less than 234 mg/kg/day for pregnant rats.

Keywords: morpholine salts of fatty acids, food additive, Wistar rat, teratogenicity, developmental toxicity

緒 言

モルホリン脂肪酸塩は、果実、果菜の被膜剤として使用される。被膜剤は、果実および果菜の呼吸および水分の蒸発を抑制することを目的として、果実および果菜に対する噴霧又は浸漬処理により使用される。また、外傷、汚染、菌の進入の防止、鮮度の保持および貯蔵性の向上等に役立つ。食品添加物としては、被膜剤以外の用途に用いることは出来ない。安全性に関しては、構造の一部であるモルホリンについて変異原性および発がん性が調べられている²⁻⁸⁾。モルホリンは第二級アミンであるため、発がん性ニトロ化合物の体内生成が疑われたが、変異原性および発癌性試験の結果は陰性であった^{3, 5)}。しかし、モルホリン脂肪酸塩またはモルホリンの催奇形性に関する情報は見当たらないことから、本研究ではモルホリン脂肪酸塩の催奇形性をラットへ経口投与して調べた。

材料および方法

1. 被験物質

モルホリン脂肪酸塩 50% 水溶液 (オレイン酸) は株式会社リレイより入手した。性状は橙黄色粘稠液体で、粘度は 2430 mPa.s (25℃), 比重は 0.936 (25℃), pH は 8.70 である。

2. 動物及び飼育条件

ウイスター系ラット (日本チャールスリバー) の雌 (10 週齢) および雄 (11 週齢) を用いた。未経産の雌を雄と終夜同居させ、翌朝腔垢中に精子が認められたものを試験に供した。妊娠日の起算は精子確認日を妊娠 0 日とした。1 群の妊娠動物数は 21 匹とした。

妊娠動物は、試験期間をとおしてアルミ製ケージで個別飼いし、固形飼料 (オリエンタル酵母, MF) および水道水を自由に摂取させた。動物飼育室内の環境は、温度 25 ± 2℃, 相対湿度 55 ± 5%, 換気回数 15 回/時間, 明暗交代 12 時間 (明期 5:00 ~ 17:00) とした。

3. 用量および投与

モルホリン脂肪酸塩投与群として 234, 468 および 936 mg/kg/day の 3 用量を設定し、対照群を加えて計 4 群とした。

被験物質を、妊娠 6 日の体重に基づいて妊娠 6 ~ 15 日の 10 日間、毎日 1 回、胃ゾンデを用いて妊娠動物に強制

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

経口投与した。モルホリン脂肪酸塩投与群には、原液である 50% 水溶液をそのまま投与した。投与液量は、234, 468 および 936 mg/kg/day の各投与群について、それぞれ 0.5, 1 および 2 ml/kg である。対照群には蒸留水 2 ml/kg を同様に経口投与した。

4. 観察方法

妊娠動物の体重および餌重量を妊娠 0, 1, 3, 6, 9, 12, 15, 17 および 20 日に測定した。また、一般状態を毎日観察した。妊娠 20 日に妊娠動物を屠殺し、黄体数、着床数および胚・胎児死亡を調べた。生存胎児については、外表の異常および性別を調べ、体重を測定した。各妊娠動物の約 2 分の 1 の生存胎児について Alizarin red S 染色骨格標本を作成し骨格を観察した⁹⁾。残り約 2 分の 1 の生存胎児については内部器官を観察した。内部器官の観察には、頭部および腹部については粗大切片法¹⁰⁾を、胸部については顕微解剖法¹¹⁾を用いた。

5. 統計学的方法

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

結 果

1. 妊娠動物に及ぼす影響

1.1. 一般状態

モルホリン脂肪酸塩投与群において投与 1 日目（妊娠 6 日）から投与 1 時間後および 3 時間後の観察時に、鼻汁お

よび鼻汁によると思われる鼻周囲の汚れが認められた。また、投与 7 日目（妊娠 12 日）からは、流涎がモルホリン脂肪酸塩投与群において認められた。これらの症状は何れも翌日までに回復した。死亡動物は認められなかった (Table 1)。

1.2. 体重および摂餌量

体重には、対照群とモルホリン脂肪酸塩投与群との間に有意差は認められなかった (Fig.1)。

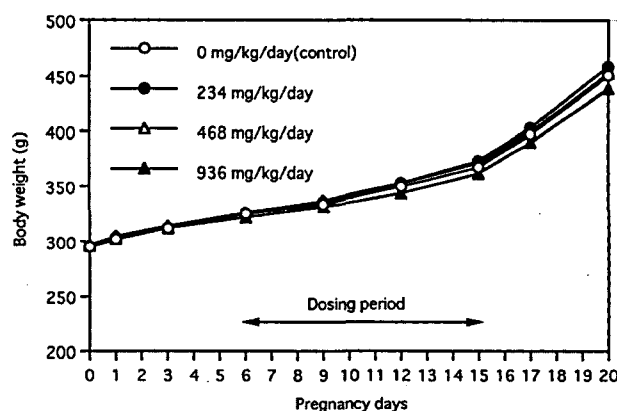


Fig 1. Body weight of pregnant rats treated with morpholine salts of fatty acids

摂餌量には、投与前から他の群に比べて低い傾向が認められていた 936 mg/kg/day 投与群において、投与 4 日（妊娠 9 日）および 7 日（妊娠 12 日）にモルホリン脂肪酸塩投与によると考えられる有意な減少が認められた (Fig.2)。

2. 胎児に及ぼす影響

2.1. 生存胎児数、性比、胎児体重および胚・胎児死亡
黄体数、着床数、着床率、生存胎児数、性比、胎児体重および胚・胎児死亡率には、対照群とモルホリン脂肪酸塩投与群との間に、有意差は認められなかった (Table 2)。

Table 1. Clinical signs in pregnant rats treated with morpholine salts of fatty acids

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	234	468	936
No. of pregnant rats	21	21	21	21
No. of dead pregnant rats	0	0	0	0
No. of pregnant rats with toxic signs	0 (0.0%)	7 (33.3%)**	20 (95.2%)**	21 (100%)**
Nasal discharge or dirty nose	0 (0.0%)	5 (23.8%)*	13 (61.9%)**	15 (71.4%)**
Salivation	0 (0.0%)	2 (9.5%)	18 (85.7%)**	20 (95.2%)**

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

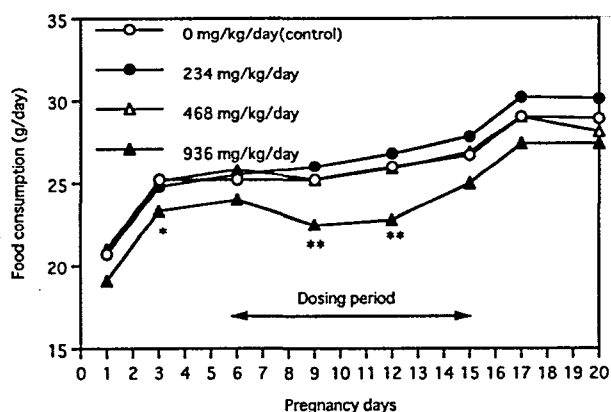


Fig 2. Food consumption of pregnant rats treated with morpholine salts of fatty acids

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

Table 2. Fetal growth in pregnant rats treated with morpholine salts of fatty acids

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	234	468	936
No. of litters	21	21	21	21
No. of corpora lutea ^a	17.6 ± 1.2	17.4 ± 1.9	17.6 ± 2.6	16.7 ± 1.6
No. of implants ^a	16.9 ± 1.9	16.2 ± 2.1	16.2 ± 1.8	15.8 ± 2.1
Implantation rate (%)	96.0 ± 9.1	93.3 ± 7.7	93.1 ± 10.6	94.3 ± 8.2
No. of live fetuses ^a	15.7 ± 2.5	15.0 ± 2.4	14.9 ± 2.1	14.8 ± 2.4
Sex ratio (male/female)	1.45	1.29	1.28	1.29
Fetal weight (g) ^a				
Male	4.04 ± 0.20	4.11 ± 0.16	4.06 ± 0.23	4.01 ± 0.21
Female	3.79 ± 0.23	3.92 ± 0.15	3.84 ± 0.19	3.80 ± 0.20
No. of dead implants	24	27	28	21
Early death	24	26	28	21
Late death	0	1	0	0
Mortality (%) ^a	7.2 ± 8.4	7.9 ± 8.7	7.8 ± 12.1	6.4 ± 8.0

a : Mean ± S.D. is shown.

Table 3. Gross malformations in the fetuses from pregnant rats treated with morpholine salts of fatty acids

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	234	468	936
No. of litters	21	21	21	21
No. of litters with malformed fetus	0 (0.00%)	2 (9.52%)	0 (0.00%)	1 (4.76%)
No. of examined fetuses	330	314	312	310
No. of fetus with malformation ^a	0 (0.00%)	2 (0.62%)	0 (0.00%)	1 (0.34%)
Polydactyly	0 (0.00%)	1 (0.30%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
Club foot	0 (0.00%)	1 (0.30%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
Dwarf	0 (0.00%)	1 (0.32%)	0 (0.00%)	1 (0.34%)

a : Mean ± S.D. is shown.

2.2 胎児外表

234 mg/kg/day 投与群において矮小が1例, 内反足および多指が1例, 936 mg/kg/day 投与群において矮小が1例観察されたが, 対照群とモルホリン脂肪酸塩投与群との間に発生率には有意差は認められなかった (Table 3).

2.3 胎児骨格

骨格奇形はいずれの群においても認められなかった (Table 4). 骨格変異の発生率には, 対照群とモルホリン脂肪酸塩投与群との間に有意差は認められなかった. 腰肋および過剰肋骨を有する胎児の発生率においても有意な変化はなかった. また, 骨化の進行度の指標として調べた仙尾椎骨, 中手骨および中足骨の骨化核数にも有意な変化は認められなかった.

Table 4. Skeletal variations in the fetuses from pregnant rats treated with morpholine salts of fatty acids

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	234	438	936
No. of litters	21	21	21	21
No. of fetuses examined	171	162	163	160
No. of fetuses with malformations ^a	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
No. of fetuses with variations ^a	62 (36.4%)	76 (47.4%)	75 (46.5%)	63 (40.7%)
Hypoplastic supraoccipital	26 (15.5%)	21 (13.3%)	20 (12.3%)	18 (12.1%)
Cervical rib	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	3 (2.43%)
Fused cervical vertebral arch	0 (0.00%)	1 (0.53%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
Deformed cervical vertebral arch	16 (8.83%)	7 (4.75%)	9 (5.42%)	9 (5.56%)
Deformed sternbrae	8 (4.12%)	8 (4.78%)	5 (2.93%)	8 (4.99%)
Deformed thoracic vertebral body	14 (7.96%)	31 (20.1%)	25 (17.0%)	13 (8.84%)
Wavy rib	4 (2.40%)	6 (4.30%)	14 (8.73%)	10 (6.29%)
Lumbar rib	19 (11.4%)	25 (14.7%)	32 (19.0%)	20 (12.9%)
Extra	0 (0.00%)	2 (1.12%)	4 (2.40%)	0 (0.00%)
Rudimentary	19 (11.4%)	23 (13.6%)	30 (17.9%)	20 (12.9%)
Others	1 (0.60%)	1 (0.95%)	2 (1.19%)	1 (0.43%)
No. of sacro-caudal vertebrae ^b	8.32 ± 0.51	8.41 ± 0.46	8.50 ± 0.56	8.50 ± 0.31
No. of metacarpus ^b	7.75 ± 0.30	7.84 ± 0.18	7.86 ± 0.30	7.90 ± 0.23
No. of metatarsus ^b	8.09 ± 0.17	8.22 ± 0.34	8.25 ± 0.39	8.23 ± 0.37

a : Total number and mean incidence are shown.

b : Mean ± S.D. is shown.

2.4 胎児内部器官

化学物質等の催奇形性試験で多く採用されている試験限界量である 1000 mg/kg/day に近い 936 mg/kg/day 投与群においても、上記の胎児検査項目にモルホリン脂肪酸塩による毒性徴候が認められなかったため、対照群および 936 mg/kg/day 投与群について検査を実施した。その結果、対照群と 936 mg/kg/day 投与群のいずれの胎児にも小奇形が認められたが、発生率には群間で有意差は認められなかった (Table 5)。

Table 5. Visceral malformations in the fetuses from pregnant rats treated with morpholine salts of fatty acids

	Dose (mg/kg/day)	
	0 (control)	936
No. of litters	21	21
No. of fetuses examined	159	150
No. of litters with malformed fetus	8 (38.1%)	11 (52.4%)
No. of fetuses with malformations ^a	11 (6.72%)	17 (10.8%)
Thymic remnant in neck	8 (4.85%)	12 (7.45%)
Dilatation of cerebral ventricle	0 (0.00%)	1 (0.68%)
Diaphragmatic hernia	0 (0.00%)	2 (1.28%)
Hypoplasia of spleen	0 (0.00%)	1 (0.68%)
Dilatation of ureter	2 (1.19%)	1 (0.60%)
Left-sided umbilical artery	2 (1.28%)	2 (1.47%)

a : Total number and mean incidence are shown.

考 察

本試験においては、モルホリン脂肪酸塩の妊娠ラットへの経口投与により、妊娠動物に鼻汁および流涎等の毒性徴候が認められる投与量においても、胚・胎児には影響が認められなかった。この結果から、モルホリン脂肪酸塩には、経口投与においてはラットに対する催奇形性はないと考えられる。

本試験条件下ではモルホリン脂肪酸塩の妊娠ラットに対する無毒性量 (NOAEL) は 234 mg/kg/day 未満であると考えられる。これは低用量においても、妊娠ラットに鼻汁または鼻周囲の汚れが有意に観察され、モルホリン脂肪酸塩投与の影響が認められたからである。

モルホリン脂肪酸塩投与群で、外表または骨格または内部器官に異常のある胎児が認められたが、対照群と比較して発生頻度に有意な差は認められず、また用量依存的な影響もみられなかった。高用量においても被験物質投与による有意なこれらの変化が認められなかったことから、ラット胎児に対する無毒性量 (NOAEL) は 936 mg/kg/day であると考えられる。

文 献

- 1) 石館守三, 谷村顕雄監修: “第7版食品添加物公定書解説書”, 広川書店, 東京 (1999)
- 2) Lijinsky, W.: *Oncology*, **37**, 223-226 (1980)
- 3) 大西孝司: 日衛誌, **39**, 729-748 (1984)
- 4) Surjan, A., Kocsis, Z., Csik, M., Pinter, A., Torok, G., Borzsonyi, M. and Szabad, J.: *Mutat. Res.*, **144**, 177-181 (1985)
- 5) Shibata, M.A., Kurata, Y., Ogiso, T., Tamano, S., Fukushima, S. and Ito, N.: *Fd. Chem. Toxicol.*, **25**, 569-574 (1987)
- 6) Harbison, R. D., Marino, D. J., Conaway, C. C., Rubin, L. F. and Gandy, J.: *Fundam. Appl. Toxicol.*, **12**, 491-507 (1989)
- 7) Perez, A., Fernandez, S. I., Garcia, Roche, M. O., de las Cagigas, A., Castillo, A., Fonseca, G. and Herrera, M.: *Nahrung.*, **34**, 661-664 (1990)
- 8) Kitano, M., Takada, N., Chen, T., Ito, H., Nomura, T., Tsuda, H., Wild, C. P. and Fukushima, S.: *Jpn. J. Cancer Res.*, **88**, 797-806 (1997)
- 9) Dawson, A. B.: *Stain Technol.*, **1**, 123 (1926)
- 10) Wilson, J. G.: "Teratology principles and techniques" (eds. Wilson, J. G. and Warkany, J.) pp.262, The University of Chicago Press, Chicago (1965)
- 11) 西村耕一: 先天異常, **14**, 2-40 (1974)

F344 ラットにおけるアカネ色素の90日間反復投与毒性試験 —慢性毒性・発がん性予備試験—

梶富直哉#・渋谷 淳・豊田和弘・仁保直子・畝山智香子・広瀬雅雄

A 90-day Repeated Dose Toxicity Study of Madder Color in F344 Rats: A Preliminary Study for Chronic Toxicity and Carcinogenicity Studies

Naoya Masutomi#, Makoto Shibutani, Kazuhiro Toyoda, Naoko Niho, Chikako Uneyama and Masao Hirose

A 90-day toxicity study of madder color was performed in F344 rats by feeding the pellet diet containing 0, 0.6, 1.2, 2.5 and 5.0 % of test substance to clarify its toxic potential and to determine the dose levels for the following chronic toxicity/carcinogenicity studies. Body weight gain and food consumption were dose-dependently decreased at 1.2 % or more in males and at 2.5 % or more in females throughout the experimental period. All animals were survived until the end of experiment and subjected to autopsy. Hematologically, the following parameters were fluctuated in relation to the treatment: decreases in the red blood cells, hemoglobin, and hematocrit in females at 2.5 % or more; increase of platelets in males at 2.5 % or more, and in females at 5 %; increase in white blood cells in males at 5 %. Serum protein parameters were also affected by the treatment in males at 1.2 % or more and in females at all doses. Increase in the serum calcium level was observed in males at 2.5 % or more and in females at 5 %. Serum inorganic phosphorus level was also increased in males at 1.2 % or more and in females at 2.5 % or more. At autopsy, both absolute and relative kidney weights of females increased dose-dependently at 0.6 % or more. Relative liver weight in females also increased at 1.2 % or more. Histopathologically, microvesicular vacuolar degeneration of proximal tubules was observed in the kidney of both sexes (males at 1.2 % or more; females at 0.6 % or more). In addition, mononuclear cell infiltration (both sexes) and hyaline casts and tubular regeneration (male) appeared in the kidney at 5 %. In the female liver, focal liver cell necrosis associated with mononuclear cell infiltration was evident at 5%. The results demonstrate the toxic effects of madder color on the liver (in females at 5 %) and kidney (in males at 1.2 % or more; in females at 0.6 % or more) of F344 rats when treated orally for 90 days. In addition, toxicities in hematopoietic system and/or bone would probably be appeared when rats are treated with 1.2 % or more of madder color for long-term over 90 days. NOAEL was determined to be 0.6 % in males, but could not be determined in females under the condition of this study. Based on the results of this study, the dose levels for subsequent chronic toxicity and carcinogenicity studies were determined to be 0.2, 1.0 and 5.0%, and 2.5 and 5.0%, respectively.

Keywords: madder color, repeated dose toxicity study, rat

緒 言

アカネ色素 (Madder color) は、アカネ科セイヨウアカネ (*Rubia tinctorum* LINNE) の根から抽出される天然のアントラキノン系色素である。その色素成分は原料として用いるセイヨウアカネの種類や産地によって多少異なるが、Ruberthric acid や Lucidsin-3-O-primeveroside, Munjistin, Pseudopurpurin, Alizarin, Lucidin, Rubiadin,

Nordamnacnata 等が確認されている¹⁾。アカネ色素は熱や光に対して安定であり、水やエタノールに溶解し、酸性で黄色、中性で赤色を呈し、菓子やデザート、農産加工品、乳飲料、清涼飲料等の着色料として使用されている。

アカネ色素の毒性に関しては、SD系ラットにおける14日間反復経口投与試験のLD50値が雌雄とも5,000 mg/kg以上であり¹⁾、B6C3F1系マウスに5, 2.5, 1.25, 0.6, 0.3 %の割合で90日間混餌投与した結果、雌雄ともに毒性学的影響は認められない²⁾と報告されている。一方、変異原性に関しては細菌を用いた復帰変異試験では代謝活性化の有無に関わらず陽性^{3)~5)}、細菌を用いたDNA修復試験(Rec assay)では代謝活性化なしで弱陽性⁴⁾、ddyマウスを用いた小核試験では陰性⁶⁾であった。発がん性に関しては、長期

To whom correspondence should be addressed:
Naoya Masutomi; Division of Pathology, Kamiyoga 1-18-1,
Setagaya-ku, Tokyo, 158-8501, Japan; Tel:03-3700-9821;
Fax:03-3700-1425; E-mail: masutomi@nihs.go.jp

反復投与によるがん原性試験は実施されておらず、diethylnitrosamine, N-methylnitrosurea 及び dihydroxy-di-N-propylnitrosamine を処置した雄のF344系ラットに2種類のアカネ色素製品をそれぞれ5及び2.5%の用量で16週間混餌投与した多臓器中期発がん性試験において、いずれの臓器においても発がん促進作用が認められていない⁷⁾との報告があるのみである。変異原性試験の知見からアカネ色素が発がん性を有する可能性も推測されるが、その発がん性評価や許容一日摂取量 (ADI) 算出のための十分なデータがない。

我が国では合成添加物に比較して天然添加物についての規格の作成や安全性評価が立ち遅れている。今回、天然添加物の安全性再評価の一環として、アカネ色素の慢性毒性/発がん性併合試験を計画し、その用量設定のための予備試験として90日間の反復投与毒性試験を実施した。

試験材料及び方法

1. 動物

動物は4週齢のF344/DuCrj系ラット (SPF) 雌雄各50匹を日本チャールス・リバー株式会社 (神奈川) より購入し、基礎飼料 (CRF-1 固形飼料, オリエンタル酵母工業株式会社) と水道水で1週間馴化飼育した後、無作為に雌雄各5群 (各群10匹) に分け、試験に供した。動物の飼育はバリヤースシステムの飼育室にて、室温 24 ± 1 °C、湿度 55 ± 5 %、換気回数18回/時 (オールフレッシュ)、12時間蛍光灯照明、12時間消灯の条件下で行った。動物は透明なポリカーボネート製ケージ (幅26 cm, 長さ42 cm, 高さ17 cm) に5匹ずつ収容し、床敷きは三協ラボサービス株式会社 (東京) のソフトチップを用い、週2回交換を行った。飲料水として、水道水を試験期間中自由に摂取させた。

2. 被験物質及び飼料の調製

被験物質として、三色会より提供されたアカネ色素を用いた。本品は褐色の粉末で、セイヨウアカネ粉末品から50%エタノールにて抽出→濾過→濃縮→デキストリン添加→スプレードライ→混合→粉碎の過程を経て調製された。分析の結果、色素の主成分はRuberythric acid, Lucidin-3-O-primeveroside 及び Alizarin であり、色素含量はRuberythric acid換算で16.1%、色価 (10%E)は204であった。本被験物質中には、本品を粉末状に保つために30%の割合でデキストリンが添加されている。本試験では各群に与える飼料に被験物質に含まれるものと同一ロットのデキストリンを添加して、対照群を含む各用量の飼料中デキストリン含量が全て1.5%となるように調製した。実際に添加したデキストリンの濃度は、アカネ色素5%混入飼料では0%、2.5%混入飼料では0.75%、1.2%混入飼料では1.14%、0.6%混入飼料では1.32%、無添加飼料では1.5%であった。基礎飼料としてオリエンタル酵母工業株式会社のCRF-1を用

い、上記の割合でアカネ色素およびデキストリンを添加した固形飼料を日本農産工業株式会社 (神奈川) に依頼して製造した。混餌飼料中の色素含量を測定した結果、いずれの濃度においても表示値の75%以内であることが確認された。

3. 試験方法

雌雄各5群 (1群10匹) にそれぞれ5%、2.5%、1.2%及び0.6%の割合でアカネ色素を混入した固形飼料を13週間自由に摂取させた。その他に対照群として雌雄各1群にはアカネ色素を含まない飼料を同期間自由に摂取させた。試験期間中、全動物の一般状態を連日観察し、体重および摂餌量の測定を週1回行った。投与最終日に全動物を一晩絶食させた後、エーテル麻酔下に開腹、腹部大動脈より採血し、瀉血、屠殺、剖検した。諸臓器は肉眼的に観察した後摘出し、脳、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓及び精巣については重量測定の後、また鼻腔を含む頭蓋、眼球及びその付属器、下垂体、唾液腺、舌、気管、甲状腺、上皮小体、大動脈、食道、胃、小腸、大腸、膵臓、膀胱、前立腺、精囊腺、凝固腺、精巣上体、卵巣、卵管、子宮、膣、乳腺、リンパ節 (頸部及び腸間膜、胸骨、大腿骨、脊髄、坐骨神経、皮膚および骨格筋等) については摘出後直ちに10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。その後対照群と最高用量群の動物の各臓器および組織を常法に従い切り出し、通常の方法によりパラフィン包埋後、薄切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン (H.E.) 染色を施して、病理組織学的に検索を行った。なお、5%投与群の肝臓と腎臓に投与に起因すると思われる組織学的変化を認めため、残りの投与群の動物の肝および腎のH.E.標本を作製し、追加検索を行った。全例の血液については、多項目自動血球計数装置 (M-2000型, 東亜医用電子株式会社, 兵庫) にて白血球数 (WBC), 赤血球数 (RBC), ヘモグロビン量 (Hb), ヘマトクリット値 (Ht); 平均赤血球容積 (MCV), 平均赤血球血色素量 (MCH), 平均赤血球血色素濃度 (MCHC), 血小板数 (PLT) の測定を行ったほか、血液細胞自動分析装置 (MICROX HEG-120A型, 立石電機株式会社, 東京) にて桿状核好中球 (Neut-B), 分葉核好中球 (Neut-S), 好酸球 (Eosino), 好塩基球 (Baso), リンパ球 (Lymph), 単球 (Mono), 有核赤血球 (Eib) の分類を行った。また、血清を分離後、凍結し、株式会社エスアールエル (東京) に依頼して、総蛋白 (TP), アルブミン (Alb), アルブミン/グロブリン比 (A/G), 総コレステロール (TC), トリグリセライド (TG), 尿素窒素 (BUN), クレアチニン (CRE), カルシウム (Ca), 無機リン (IP), ナトリウム (Na), カリウム (K), クロール (Cl), 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), アルカリフォスファターゼ (ALP), 直接ビリルビン (DBIL) を測定した。

4. 統計学的処理方法

体重, 血液学的・血清生化学的検査結果および臓器の絶対重量と相対重量については, 各群の分散を Bartlett の方法で検定し, 等分散の場合は一元配置の分散分析を行い, 不等分散の場合は Kruskal-Wallis の方法により検定を行った。群間に有意差が認められた場合の多重比較は Dunnett の方法で対照群と各被験物質投与群との間で有意差検定を行った。肝臓および腎臓に認められたそれぞれの病理組織学的変化の発生頻度については対照群との間で Fisher の直接確率計算法による有意差検定を行った。また各群に現れた病理組織学的変化の程度の対照群との比較は Mann-Whitney 検定により行った。

結 果

1. 一般状態

試験期間中, 雌雄とも被験物質投与動物の尿が投与用量に相関して橙褐色調を示しており, 体内に吸収されたアカネ色素の色素成分が尿中に排泄されたものと考えられた。一般状態についてはこのほかに特記すべき変化は認められず, 全ての動物が試験終了時まで生存した。

2. 体重および摂餌量

投与期間中の各群の体重の推移を Fig.1 に示した。雌雄とも投与期間を通じて 2.5 % 以上の群で対照群に比べて有意な体重増加量の低値が認められた。また有意差は認められなかったが雄の 1.2 % 群でも体重増加量が低値を示した。

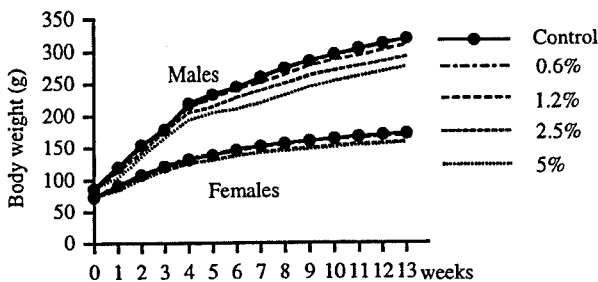


Fig. 1. Growth curves for male and female F344 rats treated with madder color for 13 weeks

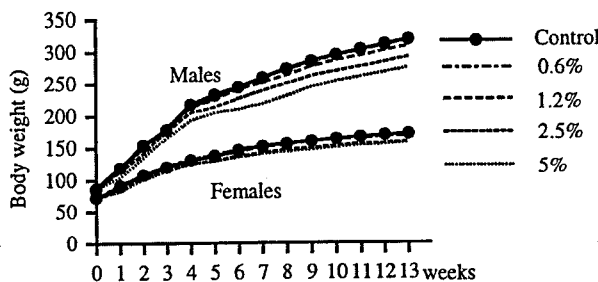


Fig. 2. Daily food intake for male and female F344 rats treated with madder color for 13 weeks

体重増加抑制の程度は試験期間を通じた平均として, 雄では 5% 群で 12.0%, 2.5% 群で 6.6%, 1.2% 群で 2.1% であり, 雌では 5% 群で 6.6%, 2.5% 群で 5.5% であった。

Table 1. Food consumption and intake of madder color

Group	Food consumption (g/rat/day)		Daily intake (g/rat)		Total intake (g/rat)	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
control	14.5	9.2	-	-	-	-
0.6%	14.6	9.5	0.09	0.06	8.0	5.2
1.2%	14.1	9.3	0.17	0.11	15.4	10.2
2.5%	13.5	8.8	0.34	0.22	30.7	20.0
5%	13.3	8.6	0.67	0.43	60.6	39.1

試験期間中の摂餌量の推移を Fig.2 に, 平均摂餌量及び被験物質摂取量を Table 1 に示した。雄では 1.2% 以上の群で, 雌では 2.5 % 以上の群で対照群に比べて摂餌量の減少が認められた。減少の程度は試験期間を通じた平均として, 雄では 5% 群で 8.2%, 2.5% 群で 6.9%, 1.2% 群で 2.5% であり, 雌では 5% 群で 7.0%, 2.5% 群で 4.8% であった。

3. 血液学および血清生化学的検査

血液学および血清生化学的検査の結果を Table 2 および 3 に示した。血液学的検査では雄で MCH, MCHC の低値および PLT の高値が 2.5% 以上の群で, WBC の高値が 5% 群で認められた。雌では RBC, Hb, Ht の低値が 2.5% 以上の群で, PLT の高値が 5% 群で認められた。なお白血球型別分類において, 雄の 1.2% 以上の群で桿状核好中球率の低値が認められたが, 本試験では対照群の桿状核好中球率がラットで通常認められる値⁸⁾よりも高値を示したことを反映したものであり, 毒性学的意義には乏しいと判断した。この他にも雌雄で統計学的有意差の認められる項目が散見されたが明らかな用量相関性を伴わない変化であった。

血清生化学的検査では雄で TP, Alb, BUN, IP, DBIL の高値及び A/G の低値が 1.2% 以上の群で, Ca, Na, K の高値が 2.5% 以上の群で, TG の低値が 5% 群で認められた。雌では TP の高値および A/G の低値が 0.6% 以上の群で, TC, TG, DBIL の高値が 1.2% 以上の群で, IP の高値および Cl の低値が 2.5% 以上の群で, Ca の高値が 5% 群で認められた。雌雄で認められた AST および ALT の低値, 雌のみで認められた ALP の低値は通常毒性指標とする変化と逆方向への変化であることから毒性学的意義の乏しい変化であると考えられた。これらの他にも雌雄で統計学的有意差の認められる項目が散見されたが明らかな用量相関性を伴わない変化であった。

4. 臓器重量

絶対重量および相対重量をそれぞれ Table 4, 5 に示した。雄では肺 (左右) の絶対重量の低値が認められたが, 相対重量には対照群との差は認められなかったことから, 体重の低値に連動した変化であると考えられた。雌では肝臓の

Table 2. Hematological and serum biochemical data of F344 male rats treated with madder color for 13 weeks

Items	Groups				
	Control	0.6%	1.2%	2.5%	5%
RBC ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	919.5 \pm 20.59 ^{a)}	938.6 \pm 20.27	915.3 \pm 22.33	924.8 \pm 27.98	912.9 \pm 22.55
Hb (g/dL)	15.1 \pm 0.24	15.4 \pm 0.37	15.0 \pm 0.34	15.0 \pm 0.40	14.8 \pm 0.37
Ht (%)	43.8 \pm 0.99	45.1 \pm 0.76*	43.7 \pm 1.14	44.7 \pm 1.23	43.7 \pm 1.09
MCV (fL)	47.6 \pm 0.50	48.1 \pm 0.44	47.8 \pm 0.43	48.3 \pm 0.28**	47.9 \pm 0.38
MCH (pg)	16.5 \pm 0.20	16.3 \pm 0.20	16.4 \pm 0.10	16.2 \pm 0.3*	16.2 \pm 0.20**
MCHC (g/dL)	34.6 \pm 0.42	34.0 \pm 0.56	34.4 \pm 0.44	33.6 \pm 0.48**	33.8 \pm 0.3**
PLT ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	78.8 \pm 1.66	76.9 \pm 4.08	77.9 \pm 3.15	82.9 \pm 4.31*	87.8 \pm 3.1**
WBC ($\times 10^2/\mu\text{L}$)	41.6 \pm 4.70	38.6 \pm 3.44	41.9 \pm 4.79	44.5 \pm 4.45	48.8 \pm 4.31*
Differential cell counts (%)					
Neut-B	1.3 \pm 0.92	0.4 \pm 0.57	0.3 \pm 0.35*	0.2 \pm 0.24*	0.1 \pm 0.16*
Neut-S	20.7 \pm 4.91	26.8 \pm 5.40*	24.3 \pm 3.36	20.8 \pm 2.45	23.9 \pm 5.55
Eosino	1.2 \pm 0.59	1.3 \pm 0.65	1.1 \pm 0.81	0.3 \pm 0.35**	0.9 \pm 0.66
Baso	0.0 \pm 0.00	0.1 \pm 0.16	0.0 \pm 0.00	0.0 \pm 0.00	0.1 \pm 0.16
Lymph	76.8 \pm 4.64	71.1 \pm 5.73*	74.3 \pm 3.49	78.4 \pm 2.67	75.1 \pm 5.42
Mono	0.1 \pm 0.16	0.4 \pm 0.63	0.1 \pm 0.21	0.4 \pm 0.57	0.1 \pm 0.16
Ebl	2.3 \pm 1.89	1.5 \pm 1.78	1.2 \pm 0.92	1.8 \pm 1.40	2.3 \pm 1.49
TP (g/dL)	6.6 \pm 0.17	6.8 \pm 0.17	6.9 \pm 0.11**	7.1 \pm 0.11**	7.3 \pm 0.11**
Alb (g/dL)	4.5 \pm 0.06	4.6 \pm 0.15	4.6 \pm 0.09**	4.7 \pm 0.08**	4.8 \pm 0.08**
A/G	2.1 \pm 0.15	2.1 \pm 0.09	2.0 \pm 0.09*	2.0 \pm 0.08	1.9 \pm 0.08**
TC (mg/dL)	76.3 \pm 2.36	74.4 \pm 5.19	76.8 \pm 4.57	72.7 \pm 7.99	78.9 \pm 4.25
TG (mg/dL)	94.6 \pm 15.90	95.2 \pm 19.90	102.7 \pm 20.76	75.6 \pm 15.70	70.0 \pm 19.37*
BUN (mg/dL)	19.5 \pm 1.08	20.1 \pm 1.49	22.4 \pm 1.71**	20.7 \pm 2.41	22.5 \pm 0.93**
CRE (mg/dL)	0.3 \pm 0.03	0.3 \pm 0.03	0.3 \pm 0.00	0.3 \pm 0.00	0.3 \pm 0.00
Ca (mg/dL)	10.4 \pm 0.17	10.2 \pm 0.13	10.5 \pm 0.15	10.6 \pm 0.13**	10.8 \pm 0.16**
IP (mg/dL)	5.7 \pm 0.31	6.1 \pm 0.30	6.8 \pm 0.36**	7.3 \pm 0.25**	7.6 \pm 0.24**
Na (mEq/dL)	144.5 \pm 0.52	145.4 \pm 0.96	144.5 \pm 0.70	145.7 \pm 0.95**	145.5 \pm 0.85*
K (mEq/dL)	4.2 \pm 0.24	4.4 \pm 0.29	4.4 \pm 0.17	4.6 \pm 0.19**	4.5 \pm 0.16*
Cl (mEq/dL)	104.4 \pm 0.69	104.5 \pm 0.85	103.9 \pm 0.88	103.6 \pm 0.84	103.7 \pm 1.16
AST (IU/L)	71.7 \pm 4.69	79.8 \pm 5.03**	72.8 \pm 6.03	75.3 \pm 6.57	66.6 \pm 3.60
ALT (IU/L)	52.6 \pm 2.37	55.8 \pm 4.98	53.2 \pm 3.68	43.4 \pm 5.06**	39.4 \pm 3.2**
ALP (IU/L)	353.1 \pm 18.00	349.0 \pm 20.64	347.6 \pm 16.67	332.5 \pm 23.29	350.4 \pm 4.24
DBIL (mg/dL)	0.1 \pm 0.00	0.2 \pm 0.03	0.3 \pm 0.03*	0.5 \pm 0.03*	0.9 \pm 0.04*

a) : Mean \pm SD*, **: Significantly different from control at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively

相対重量、腎臓（左右）の絶対重量および相対重量の高値が0.6%以上の群で、肝臓の絶対重量の高値が1.2%以上の群で認められた。なお雌の2.5%以上の群では心臓および脳の相対重量が高値を示したが、組織変化を伴わなかったことから体重の低値を反映した変化と考えられた。

5. 病理組織学的所見

病理組織学的検索の結果を Table 6 に示した。雄では腎臓に近位尿管上皮のびまん性の空胞変性が1.2%以上の群で、尿管再生、硝子円柱および間質への単核細胞浸潤が5%群で認められた (Fig.3A)。この他に好酸性小体の減少あるいは消失が0.6%以上の群で認められた (Fig.3A,B)。雌では腎臓に近位尿管上皮の空胞変性が0.6%以上の群で、間質への単核細胞浸潤が5%群で認められた。また雌の肝臓では限局性の肝細胞壊死および単核細胞浸潤が5%

群で認められた (Fig.4)。この他にも対照群を含む雌雄の各群で組織変化が認められたが、対照群と投与群との間に変化の程度及び発生率の差は認められなかった。

考 察

今回、F344 ラットを用いてアカネ色素の混餌投与による13週間の亜慢性毒性試験を実施した。一般状態観察では、アカネ色素の尿排泄を反映したと考えられる橙褐色尿が認められたが、被験物質投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。体重増加量及び摂餌量の低値が雄では1.2%以上の群で、雌では2.5%以上の群で認められた。体重の増加抑制の程度は摂餌量の減少の程度とよく相関しており、今回認められた体重増加抑制は主に摂餌量の減少に起因するものと考えられた。

Table 3. Hematological and serum biochemical data of F344 female rats treated with madder color for 13 weeks

Items	Groups				
	Control	0.6%	1.2%	2.5%	5%
RBC ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	906.2 \pm 21.51 ^{a)}	903.9 \pm 21.33	884.2 \pm 28.16	858.5 \pm 48.79**	825.3 \pm 31.29**
Hb (g/dL)	16.0 \pm 0.32	16.0 \pm 0.29	15.6 \pm 0.47	15.1 \pm 0.83*	14.6 \pm 0.53*
Ht (%)	46.1 \pm 1.23	46.0 \pm 1.14*	44.7 \pm 1.45	43.2 \pm 2.43**	42.3 \pm 1.47**
MCV (fL)	50.9 \pm 0.32	50.9 \pm 0.29	50.6 \pm 0.32	50.3 \pm 0.46**	51.3 \pm 0.33
MCH (pg)	17.6 \pm 0.13	17.7 \pm 0.20	17.6 \pm 0.18	17.6 \pm 0.09	17.6 \pm 0.13
MCHC (g/dL)	34.7 \pm 0.39	34.7 \pm 0.43	34.8 \pm 0.39	34.9 \pm 0.26	34.4 \pm 0.30
PLT ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	81.2 \pm 4.29	80.5 \pm 3.71	80.6 \pm 4.34	86.0 \pm 5.34	91.8 \pm 5.76**
WBC ($\times 10^2/\mu\text{L}$)	38.7 \pm 4.77	38.8 \pm 4.37	38.2 \pm 6.27	40.0 \pm 5.98	42.9 \pm 5.45
Differential cell counts (%)					
Neut-B	0.0 \pm 0.00	0.2 \pm 0.34	0.2 \pm 0.34	0.0 \pm 0.00	0.0 \pm 0.00
Neut-S	15.9 \pm 6.18	15.7 \pm 4.84	15.3 \pm 2.83	16.1 \pm 4.68	16.9 \pm 5.27
Eosino	1.4 \pm 1.13	0.9 \pm 0.34	1.6 \pm 1.15	1.4 \pm 0.94	0.9 \pm 0.66
Baso	0.0 \pm 0.00	0.0 \pm 0.00	0.0 \pm 0.00	1.0 \pm 0.16	0.0 \pm 0.00
Lymph	82.6 \pm 6.13	83.1 \pm 4.83	82.8 \pm 3.51	82.4 \pm 4.94	81.8 \pm 4.80
Mono	0.2 \pm 0.24	0.2 \pm 0.35	0.2 \pm 0.24	0.1 \pm 0.16	0.5 \pm 0.80
Ebl	2.7 \pm 1.42	3.8 \pm 2.57	1.6 \pm 1.65	1.5 \pm 1.35	2.6 \pm 2.46
TP (g/dL)	6.5 \pm 0.09	6.8 \pm 0.17*	6.8 \pm 0.21*	6.9 \pm 0.01*	7.1 \pm 0.17*
Alb (g/dL)	4.7 \pm 0.14	4.8 \pm 0.13	4.7 \pm 0.16	4.7 \pm 0.10	4.7 \pm 0.14
A/G	2.8 \pm 0.27	2.6 \pm 0.22*	2.3 \pm 0.16**	2.1 \pm 0.14**	2.0 \pm 0.16**
TC (mg/dL)	90.7 \pm 8.01	99.2 \pm 7.07	105.0 \pm 5.83**	108.6 \pm 9.01**	118.0 \pm 8.53**
TG (mg/dL)	31.8 \pm 7.45	42.7 \pm 12.49	48.2 \pm 15.92*	48.8 \pm 12.42**	46.9 \pm 8.09*
BUN (mg/dL)	19.3 \pm 1.74	19.2 \pm 0.65	19.1 \pm 2.40	19.9 \pm 1.51	20.0 \pm 1.74
CRE (mg/dL)	0.3 \pm 0.00	0.3 \pm 0.03	0.3 \pm 0.03	0.3 \pm 0.03	0.3 \pm 0.05
Ca (mg/dL)	10.4 \pm 0.24	10.5 \pm 0.23	10.3 \pm 0.23	10.3 \pm 0.06	10.9 \pm 0.19*
IP (mg/dL)	6.2 \pm 0.30	6.5 \pm 0.53	6.4 \pm 0.29	6.7 \pm 0.36*	7.1 \pm 0.34**
Na (mEq/dL)	145.3 \pm 0.67	146.4 \pm 0.69	145.7 \pm 0.82	145.8 \pm 1.03	145.4 \pm 1.07
K (mEq/dL)	4.1 \pm 0.24	4.1 \pm 0.27	4.2 \pm 0.20	4.2 \pm 0.21	4.2 \pm 0.12
Cl (mEq/dL)	106.8 \pm 1.23	107.1 \pm 0.99	105.9 \pm 0.57	104.6 \pm 1.17**	105.1 \pm 0.99**
AST (IU/L)	78.1 \pm 8.84	78.4 \pm 7.01	67.7 \pm 4.24**	73.0 \pm 4.81	69.4 \pm 3.95**
ALT (IU/L)	41.0 \pm 2.71	40.5 \pm 3.44	35.4 \pm 2.59**	34.5 \pm 2.92**	35.3 \pm 3.34**
ALP (IU/L)	258.9 \pm 47.44	229.3 \pm 19.29	210.5 \pm 11.46*	215.6 \pm 24.14*	246.8 \pm 20.09
DBIL (mg/dL)	0.1 \pm 0.03	0.2 \pm 0.03	0.4 \pm 0.05*	0.6 \pm 0.03*	1.1 \pm 0.07*

a): Mean \pm SD

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

血液学的検査の結果として、RBC、Hb、Htの低値が雌の2.5%以上の群で、PLTの高値が雄の2.5%以上および雌の5%群で、WBCの高値が雄の5%群で認められた。5%投与群での病理組織学的検査では骨髄などの造血器官に変化を検出できなかったが、雄では1.2%以上、雌では2.5%以上の群では造血器系への影響があることが示唆された。なお雄の2.5%以上の群ではMCH、MCHCの低値が認められたが、軽度な変化であり他の赤血球系パラメータに変動が認められないことから毒性学的意義は乏しいと考えられた。

血清生化学的検査から、血清蛋白への影響としてTPの高値、A/Gの低値が雄の1.2%以上の群および雌の0.6%以上の群で認められた。加えて雄ではAlbの高値が1.2%以上の群で認められた。雄ではAlbが高値を示し雌では変動しなかったにもかかわらず、雌雄でTPの高値とA/Gの低値

が認められたことから、グロブリン画分の蛋白質が増加していることが考えられた。雌では0.6%群より肝臓の絶対重量および相対重量が高値を示し、雄でも統計学的有意差は認められないものの0.6%以上の群で肝重量が高値を示す傾向が認められた。肝重量の高値は肝臓における蛋白合成の亢進を反映した変化である可能性が考えられるが、病理組織学的にはそれを裏付ける変化は認められず毒性学的意義には乏しい変化と考えられた。一方、血清生化学検査では肝毒性指標の変動は認められなかったものの、雌の5%投与群では限局性の肝細胞壊死およびその壊死巣への単核細胞浸潤が認められ、この用量では肝臓への障害作用があることが示された。その他にDBILの高値が雌雄の各投与群で認められたが、肝胆道系への傷害を示す変化は認められなかった。剖検時に投与動物の血清が尿の色調と同様に用量相関的に橙褐色調を示すことが確認されており、

Table 4. Absolute organ weights of F344 rats treated with madder color for 13 weeks (g)

		Groups				
		Control	0.6%	1.2%	2.5%	5%
Male	Body weight	310.9 ± 15.28 ^{a)}	307.1 ± 14.50	297.3 ± 16.50	288.9 ± 36.15*	261.7 ± 16.8*
	Brain	1.94 ± 0.045	1.92 ± 0.041	1.94 ± 0.050	1.89 ± 0.042	1.90 ± 0.052
	Thymus	0.21 ± 0.034	0.21 ± 0.030	0.20 ± 0.021	0.19 ± 0.037	0.18 ± 0.030
	Lung (R)	0.66 ± 0.048	0.65 ± 0.038	0.63 ± 0.057	0.59 ± 0.036**	0.61 ± 0.032*
	Lung (L)	0.35 ± 0.017	0.34 ± 0.012	0.34 ± 0.022	0.31 ± 0.018**	0.32 ± 0.019**
	Heart	0.88 ± 0.079	0.95 ± 0.082	0.88 ± 0.057	0.86 ± 0.069	0.81 ± 0.045
	Spleen	0.63 ± 0.051	0.64 ± 0.031	0.65 ± 0.038	0.65 ± 0.032	0.63 ± 0.048
	Liver	7.37 ± 0.474	7.57 ± 0.353	7.64 ± 0.489	7.47 ± 0.433	7.67 ± 0.614
	Adrenal (R)	0.017 ± 0.003	0.017 ± 0.002	0.018 ± 0.003	0.019 ± 0.002	0.017 ± 0.003
	Adrenal (L)	0.020 ± 0.002	0.020 ± 0.002	0.019 ± 0.004	0.021 ± 0.002	0.021 ± 0.002
	Kidney (R)	0.94 ± 0.090	0.97 ± 0.051	0.98 ± 0.045	0.96 ± 0.059	0.93 ± 0.045
	Kidney (L)	0.98 ± 0.056	1.00 ± 0.073	1.01 ± 0.058	0.97 ± 0.043	0.95 ± 0.075
	Testis (R)	1.46 ± 0.083	1.51 ± 0.068	1.49 ± 0.084	1.52 ± 0.088	1.51 ± 0.067
Testis (L)	1.49 ± 0.079	1.53 ± 0.069	1.52 ± 0.094	1.53 ± 0.048	1.52 ± 0.090	
Female	Body weight	162.6 ± 4.86	162.3 ± 7.17	159.1 ± 8.03	150.1 ± 6.02**	148.0 ± 6.5**
	Brain	1.76 ± 0.038	1.79 ± 0.054	1.78 ± 0.037	1.77 ± 0.048	1.76 ± 0.032
	Thymus	0.17 ± 0.024	0.17 ± 0.023	0.17 ± 0.019	0.15 ± 0.014	0.16 ± 0.042
	Lung (R)	0.44 ± 0.018	0.43 ± 0.038	0.45 ± 0.025	0.43 ± 0.026	0.43 ± 0.042
	Lung (L)	0.24 ± 0.026	0.24 ± 0.018	0.24 ± 0.022	0.24 ± 0.015	0.23 ± 0.021
	Heart	0.54 ± 0.035	0.53 ± 0.025	0.55 ± 0.026	0.52 ± 0.023	0.52 ± 0.027
	Spleen	0.38 ± 0.022	0.39 ± 0.026	0.39 ± 0.030	0.41 ± 0.057	0.41 ± 0.018
	Liver	3.48 ± 0.145	3.66 ± 0.226	3.78 ± 0.189**	3.71 ± 0.269	3.85 ± 0.185**
	Adrenal (R)	0.019 ± 0.002	0.021 ± 0.003	0.019 ± 0.002	0.020 ± 0.003	0.019 ± 0.003
	Adrenal (L)	0.020 ± 0.003	0.023 ± 0.003	0.021 ± 0.003	0.020 ± 0.003	0.018 ± 0.003
	Kidney (R)	0.51 ± 0.032	0.55 ± 0.026*	0.59 ± 0.037**	0.56 ± 0.036**	0.58 ± 0.027**
	Kidney (L)	0.52 ± 0.027	0.56 ± 0.025	0.59 ± 0.035**	0.57 ± 0.037**	0.57 ± 0.027**

a) : Mean ± SD

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

Table 5. Relative organ weights of F344 rats treated with madder color for 13 weeks (g%)

		Groups				
		Control	0.6%	1.2%	2.5%	5%
Male	Brain	0.63 ± 0.028 ^{a)}	0.63 ± 0.030	0.65 ± 0.023	0.66 ± 0.064	0.73 ± 0.042
	Thymus	0.07 ± 0.010	0.07 ± 0.009	0.07 ± 0.007	0.07 ± 0.015	0.07 ± 0.013
	Lung (R)	0.21 ± 0.015	0.21 ± 0.016	0.21 ± 0.020	0.21 ± 0.023	0.23 ± 0.012
	Lung (L)	0.11 ± 0.007	0.11 ± 0.006	0.11 ± 0.009	0.11 ± 0.011	0.12 ± 0.006
	Heart	0.28 ± 0.021	0.31 ± 0.025	0.30 ± 0.015	0.30 ± 0.034	0.31 ± 0.015
	Spleen	0.20 ± 0.012	0.21 ± 0.007	0.22 ± 0.009	0.23 ± 0.019	0.24 ± 0.014
	Liver	2.37 ± 0.067	2.47 ± 0.053	2.57 ± 0.067	2.60 ± 0.185	2.93 ± 0.106
	Adrenal (R)	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.000	0.006 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001
	Adrenal (L)	0.006 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.008 ± 0.000
	Kidney (R)	0.30 ± 0.017	0.32 ± 0.009	0.33 ± 0.011	0.33 ± 0.034	0.36 ± 0.018
	Kidney (L)	0.31 ± 0.012	0.32 ± 0.016	0.34 ± 0.001	0.34 ± 0.030	0.36 ± 0.009
	Testis (R)	0.47 ± 0.025	0.49 ± 0.022	0.50 ± 0.018	0.53 ± 0.061	0.58 ± 0.026
	Testis (L)	0.48 ± 0.023	0.50 ± 0.022	0.51 ± 0.027	0.54 ± 0.057	0.58 ± 0.018
Female	Brain	1.08 ± 0.043	1.10 ± 0.039	1.12 ± 0.050	1.18 ± 0.032**	1.19 ± 0.038**
	Thymus	0.10 ± 0.015	0.10 ± 0.011	0.11 ± 0.014	0.10 ± 0.009	0.11 ± 0.028
	Lung (R)	0.27 ± 0.011	0.27 ± 0.018	0.28 ± 0.019	0.29 ± 0.020	0.29 ± 0.026
	Lung (L)	0.15 ± 0.014	0.15 ± 0.010	0.15 ± 0.010	0.16 ± 0.009	0.16 ± 0.015
	Heart	0.33 ± 0.013	0.33 ± 0.009	0.35 ± 0.017	0.35 ± 0.013*	0.35 ± 0.018**
	Spleen	0.23 ± 0.010	0.24 ± 0.011	0.24 ± 0.011	0.28 ± 0.048	0.28 ± 0.010
	Liver	2.13 ± 0.059	2.25 ± 0.081*	2.37 ± 0.066**	2.47 ± 0.121**	2.61 ± 0.077**
	Adrenal (R)	0.011 ± 0.001	0.013 ± 0.002	0.012 ± 0.001	0.013 ± 0.002	0.013 ± 0.002
	Adrenal (L)	0.013 ± 0.001	0.014 ± 0.002	0.013 ± 0.002	0.013 ± 0.002	0.012 ± 0.002
	Kidney (R)	0.31 ± 0.016	0.34 ± 0.012**	0.37 ± 0.018**	0.37 ± 0.014**	0.39 ± 0.009**
	Kidney (L)	0.32 ± 0.011	0.34 ± 0.014*	0.37 ± 0.018**	0.38 ± 0.018**	0.39 ± 0.013**

a) : Mean ± SD

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

Table 6. Histological findings in male and female rats treated with madder color for 13 week

Sex Group	No. of animals examined	Male					Female				
		control_0.6%		1.2%	2.5%	5%	control_0.6%		1.2%	2.5%	5%
		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Liver											
Focal necrosis, hepatocytes	Total incidence	10	- ^{a)}	-	-	10	9	10	8	9	10##
	Grade ±	10				10	6	8	7	3	0
	+	0				0	3	1	1	5	2
	++	0				0	0	0	0	1	8
Mononuclear cell infiltration	Total incidence	10	-	-	-	10	10	10	10	10	10##
	Grade ±	10				10	7	8	7	4	0
	+	0				0	3	1	3	5	2
	++	0				0	0	1	0	1	8
Kidney											
Tubular regeneration	Total incidence	10	10##	9##	10##	10#	3	1	1	2	4
	Grade ±	1	8	7	7	0	3	1	1	2	4
	+	8	1	2	3	4	0	0	0	0	0
	++	1	1	0	0	6	0	0	0	0	0
Hyaline cast	Total incidence	8	3	5	2*	9	5	5	6	5	7
	Grade ±	8	3	5	2	4	5	5	6	4	7
	+	0	0	0	0	5	0	0	0	1	0
	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Microvesicular vacuolar degeneration, proximal tubules	Total incidence	10	10	10##	10##	10##	10	10##	10##	10##	10##
	Grade ±	10	10	4	0	0	10	0	0	0	0
	+	0	0	6	10	4	0	10	5	0	0
	++	0	0	0	0	6	0	0	5	10	10
Mononuclear cell infiltration	Total incidence	6	6	8	9	10##	4	2	1	5	10*##
	Grade ±	6	6	7	8	3	4	2	1	4	7
	+	0	0	1	1	7	0	0	0	1	3
	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eosinophilic body	Total incidence	10	10##	10##	4**##	0**##	0	0	0	0	0
	Grade ±	0	0	8	4	0	0	0	0	0	0
	+	0	4	2	0	0	0	0	0	0	0
	++	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0
+++	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

a) : Not examined
 ± : very slight, + : slight, ++ : moderate, +++ : severe
 *, ** : Significantly different from control at p < 0.05 and p < 0.01, respectively (Fisher's test)
 #, ## : Significantly different from control at p < 0.05 and p < 0.01, respectively (Mann-Whitney test)

血中に移行したアカネ色素の影響によりDBILの測定値が高値を示した可能性が高いと考えられた。

血清電解質の変動としてはCaの高値が雄の2.5%以上の群、雌の5%群で認められ、IPの高値が雄の1.2%以上、雌の2.5%以上の群で認められた。本試験では骨に病理組織学的変化は検出されなかったが、CaおよびIPの変動からは骨代謝への影響が示唆され、今後実施予定の慢性毒性試験において骨への影響を精査することが必要であると考えられた。上記の他にBUN, Na, K, Clの増減が認められたが、正常なF344ラットにおいて認められる範囲内での変動であり^{9)~14)}、毒性学的意義の乏しい変化と判断した。また雌雄でTGの増減が認められたが、雌雄で変化の方向性が逆であり、バラツキも大きかったことから偶発的变化と判断した。

肝臓以外に認められた病理組織変化として、腎臓に近位尿細管上皮のびまん性の空胞変性が雄の1.2%以上の群と雌の0.6%以上の群で認められ、腎臓の絶対重量および相対重量の高値が雌の0.6%以上の群で認められた。本試験では尿の生化学検査を実施していないことから尿細管障害としての空胞変性の意義を評価することは困難であるが、28日間の反復投与試験などの対照群を含む動物で通常認められる自然発生性変化であることから、障害性変化として

は軽度なものであると考えられた。一方5%群の雌雄の腎臓で単核細胞浸潤が認められ、雄では硝子円柱および尿細管の再生が認められたことから、この用量では明らかな腎臓障害作用があると考えられた。なお雄では各投与群で腎臓の好酸性小体の減少あるいは消失が認められた。好酸性小体の本体と考えられているα2uグロブリンは主に肝臓で生合成され、血流を介して腎尿細管に蓄積される。肝細胞毒性物質等の投与によりその生合成が低下し、腎臓への蓄積が低下することが考えられる¹⁵⁾が、本試験の雄の投与群では肝毒性を示唆するパラメータの変動を認めていない。またこの蛋白質は性ホルモンを含むステロイドホルモンによる転写調節を受けることが知られているが¹⁶⁾、本試験では内分泌器や生殖器にステロイドホルモンの変動に関連すると考えられる変化は認められなかった。従って本変化の原因は明らかではなかったが、変化の質を考慮すると毒性学的には意義の乏しい変化であると考えられた。

以上のように、アカネ色素を雌雄のラットに13週間混餌投与した際には、雌では0.6%群、雄では1.2%群から腎臓に軽度な毒性変化が認められ、雌雄の5%群では腎臓に、雌の5%群では肝臓に障害を示す病理組織学的変化が認められた。また組織変化は伴わないものの、造血管系および骨代謝への影響を示唆する血液学的あるいは血清生化学パ

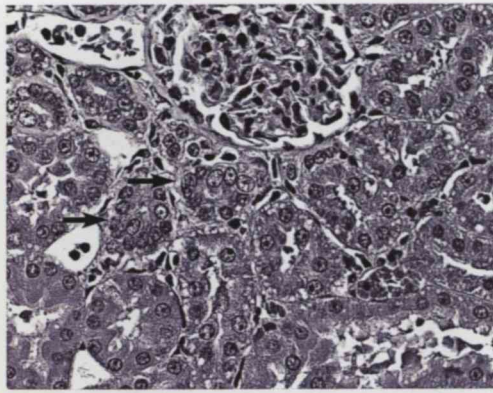


Fig. 3A. Microvesicular vacuolar degeneration of proximal tubules in the kidney of a male rat treated with 5% of madder color. Focus of tubular regeneration (arrow) and lack of eosinophilic bodies are shown as well. (H.E., x1320 magnification)

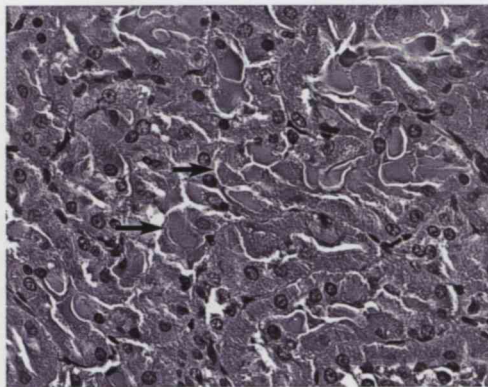


Fig. 3B Eosinophilic bodies in the proximal tubular epithelia (arrow) in the kidney of an untreated male rat (H.E., x1320 magnification)

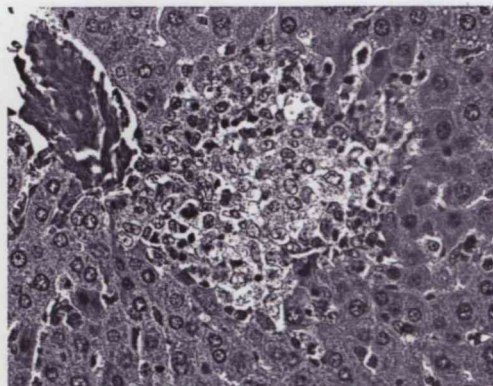


Fig. 4 Focal liver cell necrosis associated with infiltration of mononuclear cells in a rat treated with 5% of madder color (H.E., x1320 magnification)

ラメータの変動が雌雄の1.2%以上の群で散見された。本試験条件下における無毒性量 (NOAEL) は、雄では0.6%, 雌では0.6%未満と結論された。5%群では体重増加量も対

照群に比較して10%前後の低値を示したことから本用量は今後実施されるアカネ色素の慢性毒性試験および発がん性試験の最高用量として十分な用量であると考えられ、現在0.2, 1, 5%の用量段階で慢性毒性試験を、2.5, 5%の用量段階で発がん性試験を実施している。

文 献

- 1) 藤井正美監修：概説・食品天然色素，光琳，東京，pp.67-70 (1993)
- 2) T. Tanaka, N. Ino, A. Okumura, H. Makita and H. Mori: *Jpn. J. Food. Chem.*, **1**, 17-21 (1994)
- 3) M. Asanoma, M. Miyabe and Y. Sakabe: *Nagoyashi Eisei Kenkyushohou*, **30**, 53-57 (1984)
- 4) 蜂谷紀之，滝澤行雄，河村太郎，館野周之，坂部美雄，麻野間正晴，野田正男，石崎睦雄，石橋武二，黒田孝一：トキシコロジーフォーラム，**8**，91-105 (1985)
- 5) Y. Kawasaki, Y. Goda, and K. Yoshihira: *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 1504-1509 (1992)
- 6) 石館 基，滝澤行雄，坂部美雄，石崎睦雄，伊藤和敏，館 正知：トキシコロジーフォーラム，**9**，628-633 (1986)
- 7) A. Hagiwara, et.al.: *Jpn. J. Food. Chem.*, **4**, 99-106 (1997)
- 8) A. Ono, K. Sekita, M. Saitoh, T. Umemura, Y. Ogawa, T. Furuya, T. Kaneko, and T. Inoue: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 91-98 (1999)
- 9) L. Yun, H. Onodera, H. Takagi, T. Koujitani, K. Yasuhara, K. Mitsumori, and M. Hirose: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 104-107 (1999)
- 10) H. Takagi, H. Onodera, L. Yun, K. Yasuhara, T. Koujitani, K. Mitsumori, and M. Hirose: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 108-114 (1999)
- 11) T. Imazawa, A. Nishihara, F. Furukawa, T. Ikeda, H. Nakamura, M. Miyauchi, and M. Hirose: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 115-118 (1999)
- 12) H. Nakamura, T. Imazawa, A. Nishikawa, F. Furukawa, T. Ikeda, M. Miyauchi, and M. Hirose: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 119-122 (1999)
- 13) M. Miyauchi, F. Furukawa, A. Nishikawa, H. Nakamura, T. Imazawa, and M. Hirose: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 123-128 (1999)
- 14) N. Niho, T. Tamura, K. Toyoda, C. Uneyama, M. Shibutani, and M. Hirose: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 129-134 (1999)
- 15) K. Alvares, V. Subbarao, M. S. Rao and J.K. Reddy: *Carcinogenesis*, **17**, 311-316 (1996)
- 16) K. S. Wang, R. B. Hodgetts and W. R. Addison: *J. Mol. Endocrinol.*, **20**, 141-150 (1998)

塩化マグネシウムのF344ラットにおける90日間反復経口投与毒性試験

瀧澤 保・安原加壽雄#・三森国敏・小野寺博志・
 糀谷高敏・田村 啓・高木久宜・広瀬雅雄

A 90-day Repeated Dose Oral Toxicity Study of Magnesium Chloride in F344 Rats

Tamotsu Takizawa, Kazuo Yasuhara #, Kunitoshi Mitsumori,
 Hiroshi Onodera, Takatoshi Koujitani, Toru Tamura,
 Hisayoshi Takagi, and Masao Hirose

In order to examine the toxicity of magnesium chloride hexahydrate, four groups of 10 male and 10 female F344 rats received the compound by dietary supplementation at 2.5, 0.5, 0.1 or 0% for 90 days. No treatment-related death was observed during the study. Transient soft stool and sustained increase in water consumption were observed both in males and females of the 2.5% group and slight reduction in body weight gain was noted in the high-dose males. There were no toxic changes in food consumption, organ weights, hematology and biochemistry, and histopathological examinations in any treated-groups. Based on these results, the no-observed-adverse-effect-level was estimated to be 0.5%, and 2.5% is considered to be appropriate as highest dose for a 2-year carcinogenicity study.

Keywords: Magnesium chloride, F344 rat, Dietary supplementation

はじめに

塩化マグネシウムは、海水より塩化ナトリウムを精製する際の副産物である苦汁の主成分であり、単独あるいは硫酸カルシウム等と共に豆腐用凝固剤として使用されている¹⁾。また、硫酸マグネシウム、酸化マグネシウム等の一部のマグネシウム化合物は塩類下剤として使用されており、塩化マグネシウムも以前は同様の目的で使用されていた^{2,3)}。従来の安全性報告では、塩化マグネシウムの経口投与による致死量は、マウスで1,050 mg/kg、ラットで2,800 mg/kgとされている。また、B6C3F1系マウスにおいては、5%混合飼料の13週間投与により腎尿細管の空胞化が認められているが⁴⁾、2%混合飼料の96週間経口投与では各種臨床検査、病理組織学的検索等による異常所見は認められず、発癌性も示さないことが確認されており⁵⁾、妊娠ラットでは、800 mg/kgの経口投与で催奇形性を示さないことが報告されている⁶⁾。しかし、食品添加物を含む化学物質の安全性評価に繁用されているラットでの長期投与による毒性報告はない。そこで、慢性毒性および発癌性試

験における投与量設定の参考にすると共に安全性評価の目的から、F344系ラットに90日間反復投与した際の塩化マグネシウムの毒性について検討したので報告する。

実験材料および方法

1. 被験物質および投与量

塩化マグネシウムは、潮解性を有する無色～白色の結晶性粉末であり、温度により結晶水量が変化するが常温では6水塩として存在する。本試験では、赤穂化成(株)より供与された塩化マグネシウム6水塩をオリエンタル酵母工業(株)において基礎飼料(CRF-1)に混合し、ペレット状に成型した固型の混合飼料を使用した。本混合飼料は、冷蔵、遮光下で3ヶ月間密閉保存後、室温、室内散乱光下で2週間開封保存した際の安定性が確認されていることから、使用時まで冷蔵の飼料貯蔵庫で保管し、動物に与えた飼料は、安定性が確保されている期間内に適宜交換した。本試験における混合飼料中の被験物質濃度は、本試験に先だって実施した2週間の予備試験の結果から決定した。すなわち、動物の混合飼料忌避および予備的毒性を確認する目的で、通常食品添加物の混餌投与試験における最高濃度の上限とされている5%およびその1/2量の2.5%に混じた粉末の混合飼料をF344系ラットに2週間与えた結果、5および2.5%群共に摂餌量の減少はみられなかった。しかし、両

To whom correspondence should be addressed:

Kazuo Yasuhara; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501,
 Japan; Tel: 03-3700-9845 Fax: 03-3700-1425
 E-mail address: yasuhara@nihs.go.jp

濃度群において、下痢と共に飲水量の増加および体重の増加抑制傾向が認められた。また、剖検において盲腸・大腸内容物の泥状化が認められた。これらの成績から、本試験における最高濃度を被験物質の影響が現れると予想された2.5%に設定し、以下公比5で減じ0.5および0.1%に設定した。

2. 動物および方法

5週齢のF344/DuCrjラット (SPF) 雌雄各40匹を日本チャールス・リバー(株)より購入し、8日間馴化させた後、6週齢で実験に供した。動物は、投与開始前日の最新体重に基づいて、各群の平均体重が近似するように雌雄それぞれ1群10匹の4群に配した。動物は、温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、換気回数18回/時 (オールフレッシュ)、12時間の明暗サイクル (7~19時点灯) に制御されたバリアーシステムの飼育室で、ソフトチップ (三協ラボサービス) の床敷を敷いたプラスチックケージに1ケージあたり3~4匹ずつ収容して飼育し、ケージを適宜交換した。被験物質群の動物には、2.5、0.5あるいは0.1%の塩化マグネシウム混合飼料を、対照群の動物には基礎飼料 (CRF-1, オリエンタル酵母工業(株)) をそれぞれ自由摂取させ、飲料水として水道水を自由摂取させた。

試験期間中、一般状態および生死の確認を毎日行い、体重、摂餌量および摂水量を週1回測定した。投与期間終了後、全生存動物を一夜絶食させた後、エーテル麻酔下で開腹し、腹部大動脈より採血した。血液学的検査として赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、白血球数 (WBC) および血小板数 (Plt) を多項目自動血球計数装置 (M-2000型, 東亜医用電子) を用いて測定すると共に、Wright染色した塗抹標本を作製し、桿状核好中球 (Band)、分葉核好中球 (Seg)、好酸球 (Eosino)、好塩基球 (Baso)、リンパ球 (Lympho)、単球 (Mono) および有核赤血球 (Ebl) について血液細胞自動分析装置 (MICROX HEG-120A型, 立石電気) を用いて計測した。また、血清について総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、アルブミン/グロブリン比 (A/G)、総コレステロール (T-Cho)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ GTP)、コリンエステラーゼ (ChE)、アラニントランスアミナーゼ (AIT)、アスパラギン酸トランスアミナーゼ (AsT)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、アルカリホスファターゼ (ALP)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cre)、カルシウム (Ca)、無機リン (IP)、ナトリウム (Na)、カリウム (K) およびクロール (Cl) の各項目を(株)エスアールエル (東京) で測定した。採血終了後、動物を放血死させ、剖検を実施すると共に、脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓および精巣の重量を測定した。また、リンパ節 (頸部・腸間膜)、唾

液腺、骨および骨髄 (胸骨、大腿骨)、胸腺、気管、肺、心臓、甲状腺および上皮小体、舌、食道、前胃、腺胃、十二指腸、小腸 (空腸、回腸)、大腸 (盲腸、結腸、直腸)、肝臓、脾臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精囊、前立腺、精巣、精巣上体、卵巣および卵管、子宮、陰、脳、下垂体、坐骨神経、骨格筋、脊髄、眼球およびその附属器を10%中性緩衝ホルマリン液で、精巣 (対照群と最高用量群の各5例) を Bouin 液でそれぞれ固定後、常法に従って薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して、対照群と最高用量群の動物について病理組織学検索を行った。

3. 統計学的処理

投与期間中の体重、血液学的検査、血清生化学的検査および器官重量の各成績は一元配置分散分析により群間比較を行い、有意水準5%で有意な項目については、さらに対照群との比較を、Dunnettの検定を用いて両側検定にて有意水準5%および1%で実施した。

結 果

1. 一般状態および死亡動物

対照群の雄1例で投与5週から左側臀部における直径3~4 cm大の腫瘤に加え、耳介と眼球の褪色 (貧血) がみられ、体重が減少したため、投与10週に同個体を切迫屠殺した。切迫例の剖検では、脾臓の腫大および肝臓の褪色がみられた。生存例では、2.5%群で投与2週から軟便によると思われる被毛の汚れが雌雄で認められたが、投与期間中に消失した。

2. 体重、摂餌量および摂水量

2.5%群の雄で、対照群と比べ体重の低値が投与5週以降認められ、投与最終週の体重では有意であった (Fig 1)。

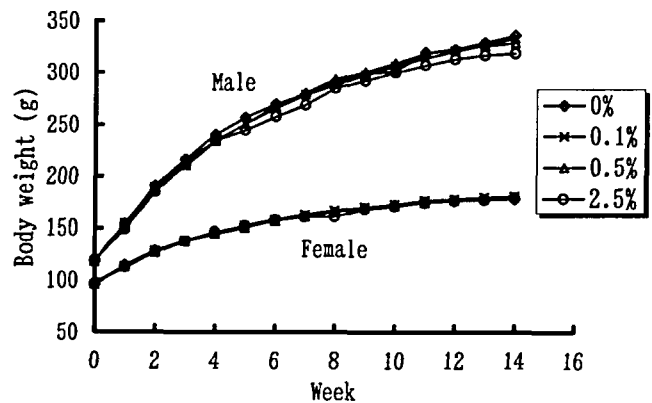


Fig. 1 Body weight change of rats fed diet containing magnesium chloride for 90 days

摂餌量に関しては対照群と被験物質群との間に明らかな差は認められず、1日当たりの被験物質平均摂取量は0.1%群の雄で62 mg/kg、雌で59 mg/kg、0.5%群の雄で308 mg/kg、雌で299 mg/kg、2.5%群の雄で1,600 mg/kg、雌で1,531 mg/kgと被験物質濃度に相関して増加した (Table 1)。2.5%群の雌雄で投与1週より投与期間中継続して摂水量の増加が認められた (Fig 2)。

Table 1 Food consumption and the amount of magnesium chloride consumed in rats fed diet containing the substance for 90 days

	Dose level (%)	Food consumption (g/rat/day)	Intakes of MgCl ₂ (mg/kg/day)
Male	0	13.4	—
	0.1	13.6	62
	0.5	13.4	308
	2.5	13.7	1600
Female	0	8.1	—
	0.1	8.3	59
	0.5	8.3	299
	2.5	8.5	1531

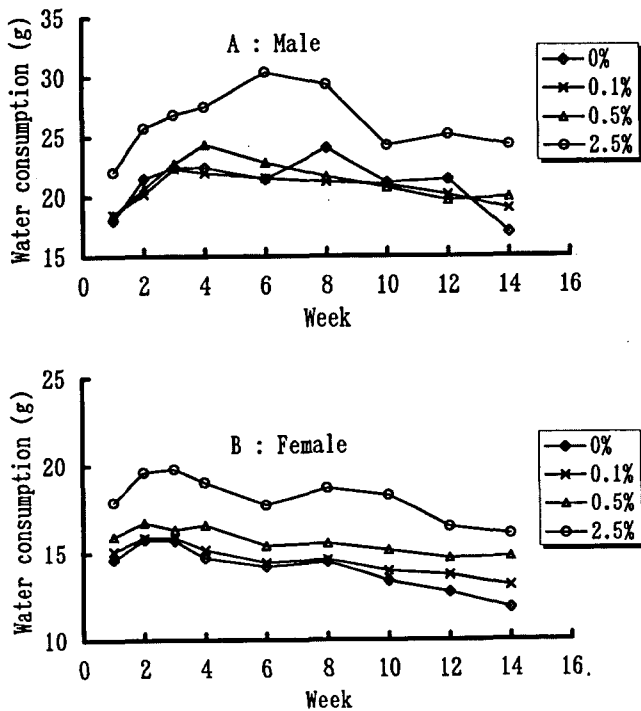


Fig.2 Water consumption in rats fed diet containing magnesium chloride for 90 days

3. 血液学的検査および血清生化学的検査

血液学的検査において、雄では2.5%群で赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値および白血球分類における好酸球比が対照群に比して低値となり、0.5%群でも赤

血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値が低値であったが、その値は2.5%群よりも低く、投与量に相関した変化ではなかった (Table 2)。雌では2.5%群でヘモグロビン量およびMCHが高値であった (Table 3)。血清生化学的検査においては、雄の2.5%群で総コレステロール、コリンエステラーゼ、乳酸脱水素酵素およびアルカリホスファターゼの低下と無機リンの増加がみられ、コリンエステラーゼ、アルカリホスファターゼおよび無機リンについては0.5%群でも同様の変化がみられた (Table 4)。雌では2.5%群で乳酸脱水素酵素の低下がみられた (Table 5)。その他、血液学的検査あるいは血清生化学的検査の幾つかの項目で統計学的有意差が認められたが、いずれも投与量との相関に乏しい変化であった。

4. 器官重量

雄では2.5%群で剖検時体重がわずかに低値であり、脾臓の実重量、肝臓の実重量および相対重量が低値であった (Table 6)。肝臓相対重量の低値は0.5および0.1%群でも認められたが、0.1%群における変化が最も大きく、投与量に相関した変化ではなかった。雌では2.5%群で肝臓の実および相対重量が低値を示した (Table 7)。

5. 病理組織学的検査

腎臓で尿細管の好塩基化、尿細管上皮内の好酸性小体が対照群を含み散見されたが、投与群と対照群との間に変化の差はみられなかった。なお、対照群の切迫屠殺例における左側腎部の腫瘍は、病理組織学的には広範な壊死を伴った上皮性の悪性腫瘍であった。

考 察

塩化マグネシウムや硫酸マグネシウム等のマグネシウム無機塩は瀉下作用を示すことが知られており^{2,3)}、我々の検討でも2週間予備試験では5および2.5%群で下痢が認められ、90日間試験では2.5%群で軟便が投与初期に一過性に認められた。90日間試験で投与期間中に症状が消失した一因として、体重増加により被験薬の体重当たりの負荷量が減少したことが考えられた。2.5%群の雌雄でみられた摂水量の増加も被験物質の影響と考えられたが、90日間の投与期間中継続して認められており、軟便・下痢による水分喪失に伴った変化とは断定できず、その原因を特定することはできなかった。しかし、水分貯留を示唆する浮腫や血液希釈あるいは排泄器官である腎に負荷が加わったことによると考えられる障害は認められていないことから、摂取された水は通常の過程により処理排泄されているものと考えられ、毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。2.5%群では、さらに雄で体重の増加抑制が認められた。Tanakaらの報告⁴⁾によると、B6C3F1マウスに塩化マグネ

Table 2 Hematological changes in male rats fed diet containing magnesium chloride for 90 days

Dose level (%)		0	0.1	0.5	2.5
No. of animals		9	10	10	10
RBC	10 ¹⁰ /L	919 ± 28	899 ± 14 ^a	867 ± 29 ^{b**}	877 ± 39 [*]
Hb	g/dL	15.2 ± 0.4	14.7 ± 0.2 ^a	14.2 ± 0.4 ^{b**}	14.6 ± 0.6 [*]
Ht	%	44.0 ± 1.4	43.3 ± 0.3 ^a	41.7 ± 1.2 ^{b**}	42.5 ± 1.8 [*]
MCV	fL	47.9 ± 0.4	48.2 ± 0.6 ^a	48.1 ± 0.7 ^b	48.4 ± 0.5
MCH	pg	16.5 ± 0.1	16.3 ± 0.3 ^a	16.4 ± 0.2 ^b	16.6 ± 0.2
MCHC	g/dL	34.5 ± 0.3	33.9 ± 0.5 ^{a*}	34.1 ± 0.5 ^b	34.3 ± 0.4
Plt	10 ¹⁰ /L	71.1 ± 7.0	83.6 ± 9.7 ^{a**}	89.9 ± 8.6 ^{b**}	73.5 ± 4.6
Ebl	count/200 WBC	1.9 ± 1.3	2.4 ± 1.8	1.9 ± 1.5	1.7 ± 1.7
WBC	10 ⁸ /L	39.8 ± 4.4	41.6 ± 8.6 ^a	34.7 ± 3.5 ^b	39.6 ± 5.2
Differential cell count (%)					
	Band	0.1 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Seg	20.0 ± 5.5	25.0 ± 6.0	24.6 ± 2.2	24.0 ± 5.0
	Eosino	1.8 ± 1.0	0.9 ± 0.5 [*]	1.1 ± 0.5	0.8 ± 0.6 ^{**}
	Baso	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Lympho	77.7 ± 5.9	73.8 ± 6.1	74.0 ± 2.2	74.8 ± 5.1
	Mono	0.5 ± 0.5	0.3 ± 0.5	0.3 ± 0.4	0.5 ± 0.3

Each value represents the mean±S.D. (a: 8 animals, b: 9 animals).

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

Table 3 Hematological changes in female rats fed diet containing magnesium chloride for 90 days

Dose level (%)		0	0.1	0.5	2.5
No. of animals		10	10	10	10
RBC	10 ¹⁰ /L	850 ± 37 ^a	842 ± 26	844 ± 24	877 ± 34
Hb	g/dL	14.9 ± 0.5 ^a	14.9 ± 0.4	15.0 ± 0.3	15.6 ± 0.5 ^{**}
Ht	%	42.6 ± 2.0 ^a	42.4 ± 1.1	42.4 ± 1.2	44.3 ± 1.8
MCV	fL	50.1 ± 0.1 ^a	50.3 ± 0.5	50.2 ± 0.2	50.5 ± 0.3
MCH	pg	17.5 ± 0.2 ^a	17.8 ± 0.3	17.7 ± 0.2	17.8 ± 0.2 [*]
MCHC	g/dL	34.9 ± 0.6 ^a	35.3 ± 0.5	35.4 ± 0.3	35.3 ± 0.6
Plt	10 ¹⁰ /L	75.7 ± 2.7 ^a	75.7 ± 4.0	76.9 ± 3.1	76.4 ± 2.4
Ebl	count/200 WBC	3.6 ± 2.0	5.3 ± 2.3	4.2 ± 2.5	5.1 ± 2.7
WBC	10 ⁸ /L	28.7 ± 5.8 ^a	30.5 ± 7.8	30.4 ± 3.7	34.8 ± 5.0
Differential cell count (%)					
	Band	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Seg	19.5 ± 4.8	20.4 ± 6.1	18.8 ± 4.3	18.6 ± 4.8
	Eosino	1.4 ± 1.0	1.7 ± 0.6	1.2 ± 0.9	1.4 ± 1.0
	Baso	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Lympho	78.6 ± 4.9	77.4 ± 6.2	79.6 ± 4.1	79.6 ± 5.5
	Mono	0.5 ± 0.3	0.5 ± 0.5	0.4 ± 0.3	0.4 ± 0.3

Each value represents the mean±S.D. (a: 9 animals).

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

Table 4 Serum biochemistry in male rats fed diet containing magnesium chloride for 90 days

Dose level (%)		0	0.1	0.5	2.5
No. of animals		9	10	10	10
TP	g/dL	6.6 ± 0.2	6.6 ± 0.1	6.5 ± 0.2	6.5 ± 0.2
Alb	g/dL	4.5 ± 0.1	4.5 ± 0.1	4.5 ± 0.1	4.5 ± 0.1
A/G		2.1 ± 0.1	2.2 ± 0.1	2.3 ± 0.1*	2.2 ± 0.1
T-Cho	mg/dL	74.9 ± 5.5	68.4 ± 3.9*	70.7 ± 4.6	65.2 ± 4.9**
γGTP	IU/L	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0
ChE	IU/L	5.9 ± 0.6	5.2 ± 1.0	4.6 ± 0.7**	4.7 ± 0.7**
ALT	IU/L	57.7 ± 6.2	57.5 ± 5.0	58.8 ± 8.4	58.3 ± 4.6
AsT	IU/L	86.2 ± 12.3	82.6 ± 10.0	85.4 ± 10.1	79.6 ± 9.4
LDH	IU/L	880.3 ± 151.0	759.9 ± 330.4	607.0 ± 269.3	371.8 ± 226.9**
ALP	IU/L	395.9 ± 23.8	382.7 ± 24.0	346.2 ± 19.2**	360.6 ± 18.7**
BUN	mg/dL	21.0 ± 2.6	22.4 ± 1.5	21.7 ± 1.2	22.1 ± 1.2
Cre	mg/dL	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.2 ± 0.1
Ca	mg/dL	10.0 ± 0.2	10.1 ± 0.1	10.2 ± 0.2*	10.2 ± 0.2
IP	mg/dL	5.1 ± 0.4	5.2 ± 0.3	5.9 ± 0.3**	6.1 ± 0.4**
Na	mEQ/L	143.4 ± 0.9	142.8 ± 0.8	142.8 ± 0.8	142.6 ± 1.1
K	mEQ/L	4.5 ± 0.2	4.5 ± 0.2	4.7 ± 0.3	4.5 ± 0.2
Cl	mEQ/L	103.8 ± 1.4	104.5 ± 0.9	104.9 ± 0.7*	103.8 ± 0.9

Each value represents the mean±S.D.

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

Table 5 Serum biochemistry in female rats fed diet containing magnesium chloride for 90 days

Dose level (%)		0	0.1	0.5	2.5
No. of animals		10	10	10	9
TP	g/dL	6.7 ± 0.3	6.5 ± 0.2	6.4 ± 0.2*	6.4 ± 0.2
Alb	g/dL	4.8 ± 0.2	4.7 ± 0.2	4.6 ± 0.1**	4.7 ± 0.1
A/G		2.7 ± 0.2	2.7 ± 0.2	2.6 ± 0.2	2.7 ± 0.2
T-Cho	mg/dL	91.6 ± 7.3	90.8 ± 5.3	90.8 ± 6.6	94.7 ± 5.3
γGTP	IU/L	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0
ChE	IU/L	9.0 ± 0.8	8.4 ± 0.7	8.6 ± 0.8	9.1 ± 1.2
ALT	IU/L	46.9 ± 4.5	42.1 ± 4.0*	44.3 ± 5.4	43.6 ± 2.9
AsT	IU/L	75.2 ± 6.7	71.4 ± 5.0	72.7 ± 7.6	72.4 ± 6.7
LDH	IU/L	591.5 ± 234.1	407.5 ± 240.6	391.0 ± 257.4	315.4 ± 155.9*
ALP	IU/L	212.7 ± 26.2	217.6 ± 25.0	227.6 ± 29.2	223.1 ± 24.7
BUN	mg/dL	20.0 ± 1.7	19.0 ± 0.8	19.1 ± 3.8	19.5 ± 2.5
Cre	mg/dL	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0
Ca	mg/dL	10.3 ± 0.4	10.2 ± 0.3	10.1 ± 0.1	10.1 ± 0.1
IP	mg/dL	6.1 ± 0.8	5.4 ± 0.5*	5.7 ± 0.5	5.6 ± 0.3
Na	mEQ/L	144.1 ± 1.1	143.6 ± 1.0	143.6 ± 0.7	143.4 ± 0.7
K	mEQ/L	4.4 ± 0.7	4.1 ± 0.5	4.0 ± 0.3	4.1 ± 0.2
Cl	mEQ/L	105.9 ± 1.7	105.9 ± 1.2	105.3 ± 3.5	105.7 ± 0.9

Each value represents the mean±S.D.

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

Table 6 Organ weight of male rats fed diet containing magnesium chloride for 90 days

Dose level (%)	0	0.1	0.5	2.5
No. of animals	9	10	10	10
Body weight (g)	324.1 ± 16.44	322.0 ± 14.53	319.9 ± 9.08	307.3 ± 19.65
Absolute (g)				
Brain	1.927 ± 0.031	1.933 ± 0.039	1.942 ± 0.031	1.907 ± 0.050
Thymus	0.197 ± 0.033	0.200 ± 0.035	0.192 ± 0.029	0.174 ± 0.033
Lung	1.006 ± 0.068	1.027 ± 0.072	1.060 ± 0.136	0.929 ± 0.076
Heart	0.945 ± 0.065	0.956 ± 0.098	0.950 ± 0.047	0.901 ± 0.057
Spleen	0.606 ± 0.027	0.619 ± 0.018	0.601 ± 0.017	0.552 ± 0.045**
Liver	7.871 ± 0.494	7.506 ± 0.467	7.467 ± 0.283	7.192 ± 0.553**
Adrenal	0.039 ± 0.006	0.038 ± 0.009	0.034 ± 0.003	0.038 ± 0.005
Kidney	1.958 ± 0.128	1.901 ± 0.167	1.909 ± 0.060	1.908 ± 0.152
Testis	3.161 ± 0.110	3.073 ± 0.168	3.136 ± 0.104	3.071 ± 0.181
Relative (g/100g B.W.)				
Brain	0.596 ± 0.028	0.601 ± 0.024	0.608 ± 0.022	0.622 ± 0.028
Thymus	0.061 ± 0.010	0.062 ± 0.012	0.060 ± 0.009	0.057 ± 0.010
Lung	0.310 ± 0.012	0.319 ± 0.011	0.332 ± 0.045	0.302 ± 0.020
Heart	0.291 ± 0.015	0.296 ± 0.019	0.297 ± 0.015	0.294 ± 0.016
Spleen	0.187 ± 0.004	0.193 ± 0.010	0.188 ± 0.007	0.180 ± 0.008
Liver	2.428 ± 0.078	2.330 ± 0.061**	2.335 ± 0.069*	2.339 ± 0.062*
Adrenal	0.012 ± 0.002	0.012 ± 0.003	0.011 ± 0.001	0.012 ± 0.002
Kidney	0.605 ± 0.041	0.590 ± 0.030	0.597 ± 0.014	0.621 ± 0.022
Testis	0.976 ± 0.033	0.955 ± 0.044	0.981 ± 0.040	1.001 ± 0.042

Each value represents the mean±S.D.

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

Table 7 Organ weight of female rats fed diet containing magnesium chloride for 90 days

Dose level (%)	0	0.1	0.5	2.5
No. of animals	10	10	10	10
Body weight (g)	170.8 ± 6.76	171.8 ± 5.45	171.1 ± 12.82	170.3 ± 6.81
Absolute (g)				
Brain	1.762 ± 0.047	1.748 ± 0.032	1.738 ± 0.036	1.737 ± 0.065
Thymus	0.169 ± 0.021	0.158 ± 0.014	0.163 ± 0.023	0.156 ± 0.007
Lung	0.729 ± 0.028	0.696 ± 0.034	0.724 ± 0.089	0.664 ± 0.056
Heart	0.575 ± 0.037	0.565 ± 0.032	0.562 ± 0.053	0.595 ± 0.025
Spleen	0.384 ± 0.031	0.369 ± 0.030	0.362 ± 0.024	0.358 ± 0.024
Liver	3.766 ± 0.195	3.581 ± 0.121	3.607 ± 0.238	3.508 ± 0.184*
Adrenal	0.040 ± 0.008	0.035 ± 0.007	0.039 ± 0.007	0.036 ± 0.006
Kidney	1.069 ± 0.051	1.059 ± 0.065	1.065 ± 0.085	1.077 ± 0.060
Relative (g/100g B.W.)				
Brain	1.033 ± 0.051	1.018 ± 0.031	1.021 ± 0.085	1.021 ± 0.035
Thymus	0.099 ± 0.013	0.092 ± 0.008	0.095 ± 0.011	0.092 ± 0.004
Lung	0.427 ± 0.026	0.405 ± 0.021	0.430 ± 0.098	0.390 ± 0.025
Heart	0.337 ± 0.024	0.329 ± 0.022	0.329 ± 0.019	0.349 ± 0.012
Spleen	0.225 ± 0.016	0.215 ± 0.019	0.212 ± 0.014	0.211 ± 0.014
Liver	2.207 ± 0.119	2.087 ± 0.108	2.113 ± 0.112	2.060 ± 0.057*
Adrenal	0.023 ± 0.004	0.020 ± 0.004	0.023 ± 0.006	0.021 ± 0.004
Kidney	0.626 ± 0.019	0.617 ± 0.043	0.622 ± 0.025	0.633 ± 0.024

Each value represents the mean±S.D.

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

シウムを混餌投与した際にも、5%では明らかな体重増加の抑制が認められており、本試験における成績も、体重に対する軽微な影響を示唆する変化と考えられた。

血液学的検査では、2.5および0.5%群の雄で赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値が低値となり、2.5%群の雌では逆にヘモグロビン量およびMCHが高値であった。Akagiらは、硫酸マグネシウムをビーグル犬に2あるいは4週間静脈内投与することにより、軽度の貧血が網赤血球の増加および骨髓と脾臓における造血亢進を伴って起こることを報告している^{7,8)}。ヒトに早産治療を目的として硫酸マグネシウムを処置した場合、その血管拡張作用により血液希釈効果が発現しヘマトクリット値が低下することが報告されているが⁹⁾、Akagiらの試験^{7,8)}では、血中の高マグネシウムに起因すると考えられる心刺激誘導遅延や血清カルシウムの低下が認められているにもかかわらず、貧血は投与期間の経過に伴って発現し、貧血以外に血液希釈を示唆する所見は認められないなど血液希釈では説明できない点も多く、ヒトにおける場合とは異なる機序であるとの推測がなされている。一方、Tanakaらの報告⁴⁾では、B6C3F1マウスに塩化マグネシウムを5%まで混餌投与しても、赤血球関連項目の変化は認められていない。今回の試験でみられた赤血球関連項目の減少は、いずれも対照群の動物でも示しうる程度¹⁰⁻¹²⁾の変化であり、血液中の有核赤血球の増減や造血器系に組織学的異常もみられていない。さらに本試験において高マグネシウム血症時に認められる麻痺や中枢抑制症状等は観察されず、血清カルシウムにも変化がみられないことからマグネシウムが高度に蓄積したとは考えがたい。以上の観点から本試験でみられた赤血球項目の減少は毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。血清生化学的検査では、2.5%群の雌雄で乳酸脱水素酵素活性が低下し、2.5%群の雄で総コレステロール、コリンエステラーゼおよびアルカリホスファターゼの低下が、0.5%群の雄でコリンエステラーゼおよびアルカリホスファターゼの低下がみられた。乳酸脱水素酵素は、細胞毒性により細胞から漏出するため、組織障害のマーカーの一つとして測定されているが、血清中の活性値は血液凝固過程で遊出される血球由来の酵素を含んだ値であり、中でも血小板の影響は無視できないとされている¹³⁾。マグネシウムは過剰状態では、血小板の凝集抑制、血清コレステロールの低下を招くことが報告されているが^{14,15)}、先に述べたごとく本試験においてマグネシウムが高度に蓄積したとは考えがたい。また、いずれの項目とも対照群の動物が示しうる程度¹⁰⁻¹²⁾の変化であり、乳酸脱水素酵素およびアルカリホスファターゼは、通常、障害時には上昇するマーカーであるが、本試験では逆に低下しており、測定方法の特性から測定系への干渉もないと考えられた。さらに他の肝臓関連の生化学マーカーに変化がなく、組織学的検索でも肝臓に異常は認められなかった。同様に、無機リン値の上

昇も高マグネシウム血症時に認められることのある変化とされており¹⁶⁾、硫酸マグネシウムのビーグル犬における4週間静脈内投与試験⁸⁾では、マグネシウム負荷による変化として血清カルシウムの低下と共に認められているが、本試験において2.5および0.5%群の雄で認められた変化は、血清カルシウムの変動を伴っておらず、腎、骨等の異常所見も伴わない軽微な変化であった。従って、これらの変化は毒性学的に問題とはならないものと考えられた。

2.5%群の雄でみられた肝臓および脾臓の実重量の減少は、対照群との体重差を反映していると考えられた。肝臓の変化については相対重量の減少を伴っており、2.5%群の雌でも同様の変化がみられたが、肝臓に組織学的異常所見はみられないことから、毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。肝臓相対重量の低値は0.5および0.1%群の雄でもみられたが、投与量との相関性を欠き、実重量の変化もないことから、被験物質の影響とは判断しなかった。

TanakaらによるB6C3F1マウスを用いた塩化マグネシウムの毒性試験⁴⁾では、5%の混餌投与により腎近位尿細管上皮の空胞化がみられている。しかし、本試験ではその様な変化がみられなかったことから、この変化は2.5%より高用量においてのみ発現する変化と考えられた。

以上の結果より、塩化マグネシウムを混じた固型飼料をラットに90日間投与した際には、2.5%投与群で軟便が認められ、2.5%群の雄で体重の増加抑制が認められたことから、無毒性量は0.5% (雄308 mg/kg, 雌299 mg/kg) と推察された。しかし、2.5%投与での軟便は投与を継続しても回復したことから、2年間の発癌性試験の最高用量としては2.5%が適切であると考えられた。

文 献

- 1) 鈴木 郁生, 野島 庄七, 谷村 顕雄 監修: 第7版 食品添加物公定書解説書, 廣川書店, 東京, D208-D211 (1999).
- 2) 熊谷 洋 監修: 臨床薬理学大系 第14巻 無機化合物 消毒薬・殺虫薬 局所に作用する薬物, (株)中山書店, 東京, 18-21 (1966).
- 3) 大阪府病院薬剤師会 編集: 医薬品要覧 (中巻), (株)薬業時報社, 東京, pp.392 (1972).
- 4) Tanaka, H., Hagiwara, A., Kurata, Y., Ogiso, T., Futakuchi, M. and Ito, N.: *Toxicol. Lett.* **73**, 25-32 (1994).
- 5) Kurata, Y., Tamano, S., Shibata, M.-A., Hagiwara, A., Fukushima, S. and Ito, N.: *Fd. Chem. Toxic.* **27**, 559-563 (1989).
- 6) Usami, M., Sakemi, K., Tsuda, M. and Ohno, Y.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, 114, 16-20 (1996).
- 7) Akagi, K., Ide, M., Mizuno, H., Ishii, T., Tamura, K., Inoue, K. and Shimamura, K.: *J. Toxicol. Sci.* **23**, suppl.I, 34-49 (1998).
- 8) Akagi, K., Ide, M., Mizuno, H., Ishii, T., Tamura, K., Inoue, K. and Shimamura, K.: *J. Toxicol. Sci.* **23**, suppl.I, 51-65

- (1998).
- 9) Ferguson, J.E.II., Holbrook, Jr.R.H., Stevenson, D.K., Hensleigh, P.A.and Kredentser, D.: *Am. J. Obstet. Gynecol.* **156**, 103-107 (1987).
 - 10) Imazawa, T., Nishikawa, A., Furukawa, F., Ikeda, T., Nakamura, H., Miyauchi, M.and Horose, M.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 115-118 (1999).
 - 11) Nakamura, H., Imazawa, T., Nishikawa, A., Furukawa, F., Ikeda, T., Miyauchi, M.and Horose, M.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 119-122 (1999).
 - 12) Miyauchi, M., Furukawa, F., Nishikawa, A., Nakamura, H., Imazawa, T.and Horose, M.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 123-128 (1999).
 - 13) 谷本 義文：実験動物の臨床化学，清至書院，東京，pp.17-22 (1981).
 - 14) Gawaz, M., Ott, I., Reininger, A.J.and Neumann, F.J.: *Thromb. Haemost.***72**, 912-918 (1994).
 - 15) Altura, B.T., Brust M., Bloom, S., Barbour, R.L., Stempark, J.G.and Altura, B.M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 1840-1844 (1990).
 - 16) Massry, S.G., Brautbar, N.: *Adv. Exp. Med. Biol.*, **128**, 51-66 (1980).

Curcuma 属植物の特性に関する研究 伊豆薬用植物栽培試験場保存系統について

飯田 修[#]・高上馬希重・香月茂樹
坂元 (佐々木) 史歩・米谷民雄・渡辺高志*

Study on the characterizations of genus *Curcuma* plants
On the strains of *C. longa* L. and *C. aromatica* Salisb preserved at Izu station of NIHS

Osamu Iida[#], Mareshige Kohjyouma, Shigeki Katsuki,
Shiho Sakamoto (nee Sasaki), Tamio Maitani, Takashi Watanabe*

To clarify the characteristics of genus *Curcuma* plants, we studied the properties of six strains of *Curcuma longa* L. and two strains of *C. aromatica* Salisb. preserved at Izu Experimental Station for Medicinal Plants of National Institute of Health Sciences. Six strains of *C. longa* were classified into three types according to morphological characteristics, rhizome production, and differences in curcuminoid content of rhizome. The curcuminoid content of the rhizomes in each strain ranged from 2.20mg/g to 55.23mg/g. Strains showing a high curcuminoid content had a low rhizome yield. No difference was observed between two strains of *C. aromatica* in terms of morphological characteristics. *C. longa* can be easily distinguished by differences in the development of tuberous roots and the color of the rhizome cross section.

Keywords: *Curcuma longa* L., *Curcuma aromatica* Salisb., curcuminoid content, strain, characterization

Curcuma 属植物は熱帯アジアを中心に、ヒマラヤの低地帯、オーストラリア北部に自生¹⁾し、薬用、食用、香辛料さらには観賞用として広く利用されている。薬用として、わが国では第十三改正日本薬局方²⁾にガジュツ (*Curcuma zedoaria* Rosc.) が、また日本薬局方外生薬規格³⁾にウコン (*Curcuma longa* L.) がそれぞれ収載されている。ガジュツ、ウコンの国内栽培は、古くから鹿児島県や沖縄県で主として行われてきた^{4a, b)}が、近年の健康志向に伴い、ウコンは関東地方まで栽培が広がってきている⁵⁾。

Curcuma 属は、50種⁶⁾とも70種¹⁾ともいわれているが、実態は不明と思われる。本属植物は本邦には自生種がなく、分類を初めとする植物学的な研究を行うには困難を伴うが、小島ら^{7,8)}は根茎の成分的見地から、曹ら⁹⁾は分子生物学的手法により、植物種の特性及び類縁性を追求している。

著者らもまた *Curcuma* 属植物の特性を明らかにしようとしており、本属植物の有効活用を図るため、種苗としての

特性及び根茎の生産性を考慮し、研究を行うこととした。先に、著者らは、ガジュツ¹⁰⁾及びウコン¹¹⁾の外部形質に基づく種苗特性表を作成した。また、種子島薬用植物栽培試験場で保存されているウコンについては、既に報告されている¹²⁾。今回、伊豆薬用植物栽培試験場で保存しているウコン及びハルウコンについて、外部形質、生産性及び根茎色素成分含量を調査し、類縁性を検討した。

実験材料及び方法

1. 材 料

伊豆薬用植物栽培試験場で保存しているウコン (*C. longa* L.) 6系統及びハルウコン (*C. aromatica* Salisb.) 2系統を用いた。系統名及び来歴を Table 1 に示す。

2. 根茎部位の名称

根茎各部位の、統一された詳細な名称が見られないため、ここでは以下のように区分した。

種根茎 (種イモ; seed rhizome) : 栄養繁殖のため、通常の栽培では、下記の主根茎が種イモとして用いられる。

主根茎 (bulbous rhizome) : 生育初期に種イモから生長した、葉鞘を持つ卵形の根茎。

一次側根茎 (fingered rhizome) : 主根茎から生長した、

[#] To whom correspondence should be addressed:
Osamu Iida; 155 Shimogamo, Minanizu-cho, Kamogun, Shizuoka 415-0303, Japan; Tel: 0558-62-0044; Fax: 0558-62-0063; E-mail: iidao@nihs.go.jp

* 北里大学薬学部

葉鞘を持たない根茎。

二次側根茎 (second fingered rhizome) : 一次側根茎の各先端部の若い根茎。

Table 1. Introduction records of investigated strains of *Curcuma longa* L. and *C. aromatica* Salisb.

Strain	Source	Introduced date
C. longa L.		
Tanegashima (TN)	Japan	Apr.1960
Takeda (TK)	Japan	Jan.1948
Java No.1 (JV1)	Indonesia	Mar.1962
Java No.2 (JV2)	Indonesia	Mar.1962
India (IN)	India	Jan.1959
Sumatra (SM)	Indonesia	Apr.1971
C. aromatica Salisb.		
Takeda No.1 (Ta1)	Japan	Mar.1968
Takeda No.2 (Ta2)	Japan	Mar.1968

3. 栽培概要

1997年5月13日に種イモを、条間80cm, 株間25cmの栽植距離で、当场圃場に植え付けた。施肥量 (10a当たり) は、基肥として堆肥2,000kg, IB化成肥料 (窒素, 燐酸及び加里の各成分量10%) 62.5kg, 追肥として7月1日にIB化成肥料30kg, 9月11日に同肥料60kgを施用した。

4. 方 法

種イモは、主根茎、一次側根茎及び二次側根茎の3部位から調製され、SM系統を除く各系統ともにそれぞれ25個, 30個, 25個を植え付けた。SM系統は個体数が少なかったため、主根茎のみを20個用いた。種イモとした根茎の部位別生体重をTable 2に示した。

Table 2. Fresh weight of the seed rhizomes

Strain	Seed rhizome (g fresh weight)		
	Bulbous rhizome	Fingered rhizome	Second fingered rhizome
TN	57~113	33~65	23~33
TK	53~104	29~47	18~29
JV1	82~151	35~55	23~32
JV2	75~126	33~68	21~31
IN	45~68	30~65	16~26
SM	Not measured		
Ta1	31~109	39~67	16~25
Ta2	36~111	41~77	20~29

特性調査は、特性分類表¹¹⁾ に準じて適宜行った。地上部調査は、11月10~12日に、種イモが一次側根茎の20株について行い、根茎収穫調査は11月17~26日に、種イモ

が主根茎と二次側根茎の区から各10株及び一次側根茎の区から20株の合計40株について行った。SM系統は地上部及び根茎の重量調査を行わなかった。

収穫した根茎は水洗し、数ミリの厚さに輪切りして、屋外で約一ヶ月間自然乾燥した後、40℃で24時間強制乾燥を行い、乾燥重量を測定した。成分分析用根茎は収穫量調査とは別に、12月10日に各系統3~4株を収穫し、水洗、輪切りの後、約2ヶ月間屋外で陰干しし、その後40℃で24時間強制乾燥を行った。

5. 成分定量

(1) 試料

分析は、ウコン6系統 (TN,TK,JV1,JV2,IN,SM) それぞれの種イモ、主根茎及び側根茎について行った。クルクミン curcumin, デメトキシクルクミン demethoxycurcumin, ビスデメトキシクルクミン bisdemethoxycurcumin の単離に用いたウコン粉末は、日本食品添加物協会を通じて入手した。

(2) 試薬

アセトニトリル：片山化学工業製 (高速液体クロマトグラフ用)。メタノール：和光純薬工業製 (試薬特級)。その他の試薬は、いずれも試薬特級 (片山化学工業製あるいは和光純薬工業製) を、水はミリQ SP (ミリポア製) で精製した18.3M Ω・cm以上のものを用いた。また、フィルターはサンプレップ4-FH (孔径0.5μm, ミリポア製) を用いた。

(3) 装置

HPLC装置：島津製作所製 LC-6A system (ポンプ：LC-6A 2台, システムコントローラー：SCL-6A, 紫外可視検出器：SPD-6AV, カラムオープン：CTO-6A, オートインジェクター：SIL-6A)。紫外可視多波長検出器 (PDA)：島津製作所製 SPD-M10A。データ処理装置：島津製作所製 C-R4A。超音波抽出：SHARP製 ULTRASONIC CLEANER UT-51N。

(4) HPLC条件

カラム：Inertsil ODS-3 (4.6mm i.d. x 250mm, ジーエルサイエンス製)。カラム温度：40℃。移動相：A液=アセトニトリル/水/トリフルオロ酢酸=550/450/1, B液=アセトニトリルを用いた以下のグラジエント条件；0~10分, 0% B；10~40分, 0~100% B (直線グラジエント)；40~55分, 100% B。流速：1.0ml/min。検出波長：420nmあるいは254nmまたは200~600nm。注入量：20μl。

(5) 色素成分

ウコン粉末 (約25g) を、ヘキサン100mlで2回洗浄した後、残さを酢酸エチル100mlで3回抽出し、酢酸エチル抽出液を得た。その残さをさらにメタノール100mlで3回抽出した。得られたメタノール抽出液について減圧下溶媒

を留去し、これに水50mlを加え懸濁したものを、酢酸エチル50mlで3回抽出した。得られた酢酸エチル層を、先の酢酸エチル抽出液と合わせ減圧下溶媒を留去し、酢酸エチル画分(約1g)を得た。酢酸エチル画分について、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶離液、酢酸エチル)及びシウ酸処理シリカゲルクロマトグラフィー(溶離液、クロロホルム：メタノール=30：1)による分離を行い、I, II, IIIの粗画分を得た。各画分から再結晶により、I (120mg), II (42mg), III (36mg)を得た。これらは、既報¹³⁾のHPLCの保持時間から、それぞれクルクミン (I), デメトキシクルクミン (II), ビスデメトキシクルクミン (III) と同定された。

(6) 検量線の作成

上記(5)で単離したI, II, IIIをそれぞれ5mgずつ正確に量り、メタノールで正確に10mlとし、それぞれ0.5mg/mlの標準溶液とした。各標準溶液をメタノールで順次希釈し、0.1, 0.05, 0.01, 0.005, 0.001mg/mlの溶液を調製した。各溶液20 μ lについて上記(4)に従いHPLCを行い、得られたピーク面積から検量線を作成した。

(7) ウコン根茎中のI, II, IIIの分析

1) 試験溶液の調製

各サンプル25mgをネジ蓋付きPyrex製試験管に正確に量り取り、メタノール10mlを正確に加えた。10分間超音波抽出を行った後、フィルターを通したものをHPLC用試験溶液とした。

2) I, II, IIIの定量

1)で調製した各試験溶液を、上記(4)の条件でHPLC分析を行い、得られたI, II, IIIの各ピーク面積から、上記(6)に従いあらかじめ作成した検量線を用い定量した。

結果及び考察

1. 種苗特性

供試8系統の形質をTable 3に示した。地上部形質(草高、葉の大きさ及び地上部生体重)はTN, TK, JV1及びJV2が大きく、IN系統は小さかった。ハルウコン(Ta1, Ta2)はその中間であった。地下部形質では、根茎切断面の色が黄橙色(TN, TK, JV1, JV2), 黄橙色～橙色(IN), 淡橙色～橙色(SM), 明黄色(Ta1, Ta2)に分けられた。塊根(紡錘根)の形成は、ウコンでは少なく、ハルウコンには多い。生産された根茎の主根茎：側根茎の生体重比は、INが高かった。また、SMは、INに似た矮小タイプであるが、根茎の大部分は葉鞘を伴う主根茎となり、INとは異なる形質を示した。

以上のように植物体の形質から、ウコンはTN, TK, JV1及びJV2の各系統がほぼ類似し、INとSM系統はいずれとも異なる3タイプに分けられた。ハルウコンの2系統は双方類似していた。また、上記特徴の他、ハルウコンは葉の裏面に繊毛を有し、根茎の内部は樟脳臭があることなどが観察され、ウコンと区別することが可能であった。

Table 3. Characteristics of six strains of *Curcuma longa* L. and two strains of *C. aromatica* Salisb.

Character	Strain							
	TN	TK	JV1	JV2	IN	SM	Ta1	Ta2
Plant type	erect	erect	erect	erect	erect	erect	erect	erect
Plant height (cm)	131 \pm 12	129 \pm 12	130 \pm 10	125 \pm 10	99 \pm 10	—	117 \pm 13	105 \pm 13
Leaf length (cm)	95 \pm 8	95 \pm 7	95 \pm 6	91 \pm 7	75 \pm 7	—	85 \pm 6	81 \pm 4
Leaf width (cm)	21 \pm 1	21 \pm 1	21 \pm 2	21 \pm 2	19 \pm 1	—	22 \pm 2	21 \pm 3
Leaf color (Upper surface)	green	green	green	green	green	green	green	green
Leaf color (Lower surface)	yellowish green	yellowish green	yellowish green	yellowish green	yellowish green	yellowish green	yellowish green	yellowish green
Fresh weight of aerial part per plant (g)	837 \pm 177	833 \pm 199	937 \pm 319	799 \pm 181	415 \pm 99	—	673 \pm 204	541 \pm 119
Number of bulbous rhizomes per plant	3.0 \pm 0.6	3.6 \pm 0.9	3.2 \pm 0.8	3.2 \pm 0.8	3.7 \pm 1.2	4.7 \pm 1.5	4.1 \pm 0.7	4.2 \pm 1.2
Color of rhizome surface	yellowish orange	yellowish orange	yellowish orange	yellowish orange	yellowish brown	pale orange	pale yellow	pale yellow
Color of rhizome cross section	yellowish orange	yellowish orange	yellowish orange	yellowish orange	yellowish orange ~orange	pale orange ~orange	bright yellow	bright yellow
Tuberous root	few	few	few	few	few	few	a few	a few
F.W.* of bulbous rhizomes/ F.W. of fingered rhizomes	0.57	0.47	0.51	0.52	0.96	—	0.45	0.40

Each value represents the mean \pm S.D. of 20 plants.

*Fresh weight

Table 4. Effect of the seed rhizome on the rhizome yield per plant and the rate of increase of yield to the seed

Strain	Bulbous rhizome	Yield	Rate of	Fingered rhizome	Yield	Rate of	Second fingered	Yield	Rate of
	as seed (g fresh wt.)	(g fresh wt./plant)	increase	as seed (g fresh wt.)	(g fresh wt./plant)	increase	rhizome as seed (g fresh wt.)	(g fresh wt./plant)	increase
TN	77.1±2.9	576.2±178.3 (36.7)	7.47	48.6±7.3	440.7±90.2 (36.4)	9.07	23.7±0.5	392.1±100.0 (37.9)	16.54
TK	77.2±6.3	553.2±130.3 (35.7)	7.17	38.9±4.4	497.7±112.6 (32.1)	12.79	23.9±1.0	486.2±90.5 (32.2)	20.34
JV1	88.6±4.6	756.6±176.5 (34.0)	8.54	47.2±4.6	507.2±139.1 (33.8)	10.75	26.0±1.7	396.7±100.8 (38.2)	15.26
JV2	83.0±5.2	601.1±143.8 (38.5)	7.24	47.1±5.7	468.3±130.6 (34.3)	9.94	24.3±1.1	358.6±79.7 (35.7)	14.76
IN	61.3±3.6	344.7±76.6 (48.5)	5.62	43.6±7.7	304.6±61.3 (49.0)	6.99	23.4±1.5	264.2±52.3 (53.4)	11.29
Ta1	50.9±13.3	694.9±306.5 (28.2)	13.65	50.3±6.2	606.0±179.0 (31.2)	12.05	20.1±2.4	540.7±105.4 (23.4)	26.90
Ta2	58.1±11.3	614.1±145.1 (32.1)	10.57	53.3±5.9	675.9±189.7 (28.6)	12.68	23.1±2.0	519.8±127.0 (27.9)	22.50

Each value represents the mean ± S.D. of 10 and 20 plants.

Values in parentheses are percentage of the bulbous rhizomes.

2. 根茎の生産性

種イモ部位別の、1株当たり根茎生産量を Table 4 に示した。全体的に根茎生産量は、ハルウコンがウコンに比べ大きく、ウコン系統間では IN が小さかった。また、SM は IN 同様、根茎生産量は小さいことが観察された。

根茎生産量は、種イモが主根茎の時に最も大きく、以下一次側根茎、二次側根茎の順であった。これらの差異には、種イモとしての根茎重量¹⁴⁾と充実度の違いの両方が影響していると思われる。

一方、種イモ重量に対する生産物の増加率は、種イモが二次側根茎の時に最も高く、以下一次側根茎、主根茎の順であった。上記増加率の傾向は各系統に共通してみられ、またハルウコンの増加率はウコンに比べ高く、ウコン系統間では IN が低かった。

3. 成分特性

ウコン6系統は、3つの色素成分の比率から2つに分類できることが明らかとなった (Table 5)。すなわち、(A) 3つの色素成分のうち I の比率が圧倒的に高いもの (TN, TK, JV1 及び JV2 の各系統) 及び (B) 3つの色素成分の比率が非常に近いもの (IN と SM 系統) である。Fig. 1 に代表例として TN 系統と IN 系統の 420nm 及び 254nm で得られたクロマトグラムを示した。さらに (B) の試料では (A) に比べ I と II と III の総量も非常に多く、(A) に区分される試料の種イモの約 5 倍 [(A):7.62~12.79 mg/g, (B):25.14~55.23 mg/g]、主根茎及び側根茎の約 10 倍近い量 [(A):2.20~4.98 mg/g, (B):25.90~49.60 mg/g] が含まれていた。

各系統の試料について、I, II, III の含量を部位別に比較したところ、SM を除きいずれも種イモ中の含量が最も高く、主根茎と側根茎中の含量はほぼ同程度であった。SM

では主根茎での含量が最も高く、種イモと側根茎の含量がほぼ同程度であった。また、いずれの試料についても、I,

Table 1. Curcuminoid content (mg · g⁻¹ dry weight) in the rhizomes of six strains of *Curcuma longa* L.

Strain	Part	I ^a	II ^b	III ^c	I + II + III
		mg/g	mg/g	mg/g	mg/g
TN	Seed rhizome	7.92	1.99	0.84	10.75
	New bulbous rhi.s ^d	1.53	0.50	0.17	2.20
	New fingered rhi.s ^e	1.64	0.43	0.17	2.24
TK	Seed rhizome	9.55	2.31	0.93	12.79
	New bulbous rhi.s	2.22	0.69	0.27	3.18
	New fingered rhi.s	2.33	0.60	0.23	3.16
JV1	Seed rhizome	5.84	1.83	0.57	8.24
	New bulbous rhi.s	3.12	0.94	0.37	4.44
	New fingered rhi.s	2.83	0.72	0.30	3.85
JV2	Seed rhizome	5.33	1.86	0.43	7.62
	New bulbous rhi.s	3.52	1.08	0.38	4.98
	New fingered rhi.s	2.52	0.65	0.28	3.45
IN	Seed rhizome	24.64	14.18	16.41	55.23
	New bulbous rhi.s	15.75	9.41	12.26	37.42
	New fingered rhi.s	11.00	6.74	8.88	26.62
SM	Seed rhizome	14.61	5.50	5.03	25.14
	New bulbous rhi.s	27.25	12.15	10.21	49.60
	New fingered rhi.s	14.01	6.86	5.03	25.90

^aI : curcumin, ^bII : demethoxycurcumin, ^cIII : bisdemethoxycurcumin,

^dNew bulbous rhizomes, ^eNew fingered rhizomes

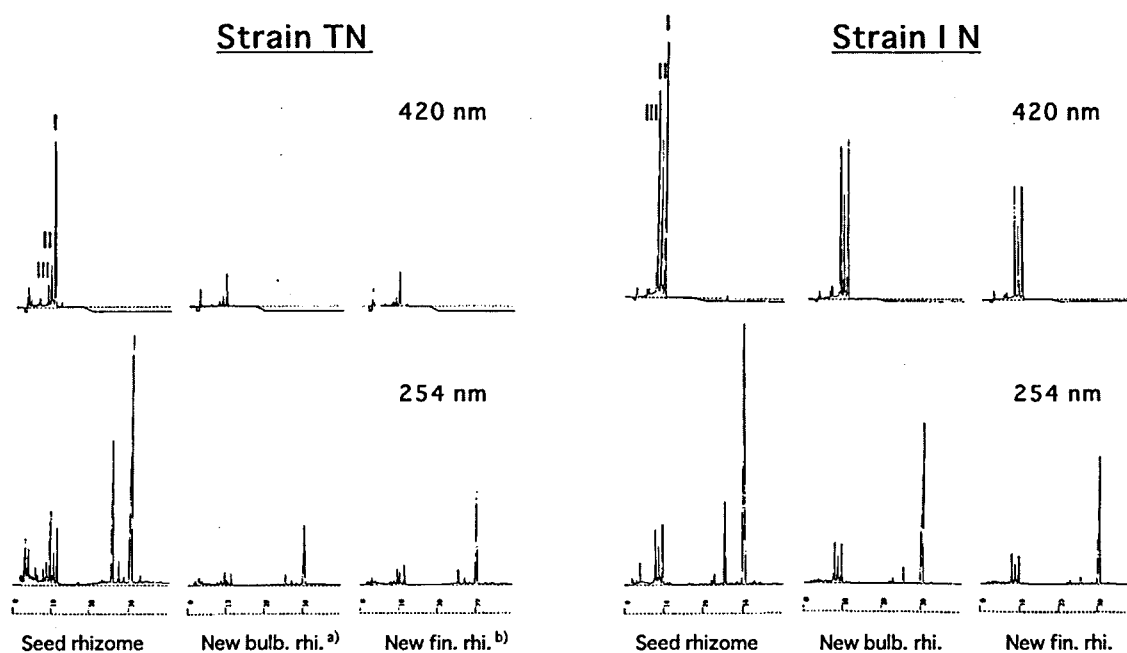


Fig. 1 HPLC chromatograms of curcuminoid in the rhizomes of strain TN (left) and IN (right) of *Curcuma longa* L. monitored at 420nm (upper) and 254 nm (lower)

I, II and III in the figures show curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin, respectively.

a) New burbous rhizome, b) New fingered rhizome

II, IIIの比率に部位による大きな差異はみられなかった。

ウコン根茎における色素成分の組成比や含量は、産地あるいは系統により顕著な差異がみられ^{8,12,15)}、本種の変異の大きさがうかがわれる。

根茎中のクルクミン類含量は、生育期間の長さ依存して高くなると思われ、種イモにおける高クルクミン類含量は、生育期間が2年間と長かった結果と推察される。実際栽培においても、ウコンの収穫は出来るだけ遅く行われ、西南暖地では地上部が枯死した後の2~3月に行われる¹¹⁾。

254nmで非色素成分を分析したクロマトグラムを見ると、(A)の試料ではIのピークのすぐ後ろに大きなピークが2本見られるのに対し、(B)の試料ではこれらのピークは非常に小さい。さらに、20分以降のピークを比較すると、わずかにピークのパターンが異なっており、系統上の差異があると考えられる。

今回と同一の手法により分析された市販ウコン色素は、2種類に分類される¹³⁾ことが確認されており、本研究の結果から、その差異は、原植物の違いに基づく可能性が高いことが推察される。上記のピークの詳細及び植物種あるいは系統との関係については、今後の検討課題である。

まとめ

ウコン6系統及びハルウコン2系統における植物体の形質、根茎の生産性及び色素成分に関する特性調査を行った。

その結果、ウコン各系統は形質、根茎の生産性の違いから3タイプに、色素成分の組成と色素成分以外の成分の有無から2タイプに分けられた。葵¹²⁾は、種子島試験場保存のウコンを、植物体が大きく、根茎クルクミン含量が低い群と植物体が小さく、根茎クルクミン含量が高い群の大別2群に分類したが、当场保存系統も同様の区分に分けられた。ハルウコンの2系統間には、植物体の形質による差異はみられなかった。また、ウコンとハルウコンの識別は、根茎切断面の色あるいは紡錘根の多少などから可能であった。

本研究の限られた範囲のウコン系統においても変異が確認され、ウコンの変異の多様性が示唆された。本研究を基に、新たな手法及び植物種を用い、種内変異の確認及び種内・種間の類縁性についてさらに検討したい。

Curcuma属植物は、国内では全く結実することなく、植物種の変異は、母本の変異に依存する。そのため、植物種の変異を調べるには、多くの母本、母株となる根茎を収集する必要があるが、近年国外からの種苗の導入が困難となっており、多種多様な種苗の収集も今後の大きな課題である。また、生薬としてのウコンの品質は色素成分のみならず、精油成分を含む評価が必要と思われるが、これらの成分を精査し、さらに多様な系統を探索し、成分特性を利用した用途別系統の育成を図ることも今後一考の価値があると考えられる。

文 献

- 1) Sastri, B. N. Chief Edit.: "The wealth of India II", pp. 401-406, Delhi (1950)
- 2) 第十三改正日本薬局方, 厚生省, pp. 1129 (1996)
- 3) 厚生省薬務局審査第二課監修: "日本薬局方外生薬規格1989", pp. 6, 薬事日報社, 東京 (1989)
- 4) a) 葵 一八, 山本秀雄, 名越哲朗, 楠 忠久: 農業及園芸, **63**, 87-92 (1988); b) 葵 一八: 農業及園芸, **62**, 263-270 (1989)
- 5) 財団法人日本特殊農産物協会: 薬用作物 (生薬) 関係資料, pp. 17 (1999)
- 6) 塚本洋太郎総監修: "園芸植物大事典", pp. 760, 小学館, 東京 (1994)
- 7) Kojima, H., Yanai, T. and Toyota, A.: *Planta medica*, **64**, 380-381 (1998)
- 8) 小島 脩, 小菅まゆみ, 豊田祥広, E. Hanani, 斎木保久: 日本生薬学会第46回年会講演要旨集, pp.237 (1999)
- 9) 曹 暉, 伏見裕利, 小松かつ子: 日本生薬学会第46回年会講演要旨集, pp. 241 (1999)
- 10) 厚生省薬務局監修: "薬用植物栽培・品質評価指針2", pp. 3-12, 薬事日報社, 東京 (1993)
- 11) 厚生省薬務局監修: "薬用植物栽培・品質評価指針4", pp. 3-12, 薬事日報社, 東京 (1995)
- 12) 葵 一八, 鎗木紘一, 関寅一郎, 戸畑トモ子, 佐竹元吉, 黒柳正典: 衛試報告, **104**, 124-128 (1986)
- 13) 坂元 (佐々木) 史歩, 佐藤恭子, 阿部雅美, 杉本直樹, 米谷民雄: 日食化誌, **5**, 57-63 (1998)
- 14) 葵 一八: 農業及園芸, **63**, 85-90 (1988)
- 15) 夏文娟, 肖小河, 刘峰群, 苏中武, 乔传卓: 中国中薬雑誌, **24**, 423-424, 434 (1999)

伊豆で栽培されたケシの生育とあへん生産

飯田 修[#]・関根 勉・井上 修・吉松嘉代・下村講一郎Characteristics of *Papaver somniferum* L. cv. Ikkanshu cultivated in IzuOsamu Iida[#], Tsutomu Sekine, Osamu Inoue, Kayo Yoshimatsu and Koichiro Shimomura

The seeds of *Papaver somniferum* L. cv. Ikkanshu were sown in November (Autumn sowing: AS) and March (Spring sowing: SS) in a field at Izu Experimental Station for Medicinal Plants of National Institute of Health Sciences, and both AS and SS plants were cultivated to investigate their growth, opium yield and alkaloid content in the opium. Growing periods from the sowing to the opium harvest were approximately six months for AS plants and three months for SS plants. Sizes of plants and capsules in AS were bigger than those in SS, reflecting their growth period. Opium yields per an are in AS and SS were 212.09g and 142.03g, respectively. The opium was able to be collected four times in the AS plants though the SS plants ceased to exude opium after the second incision. Therefore higher yield of opium in AS plants seems to be attributed to an amount of opium in the third and fourth incision. Average morphine content in the total opium was 15.61% in AS plants and 15.04% in SS plants, and the estimated amounts of morphine per an are in AS and SS plants were 33.16g and 21.38g, respectively.

Keywords: *Papaver somniferum* L., autumn sowing, spring sowing, opium yield, opium alkaloid content

ケシ未熟果実を切傷し得られるあへんは、医療上重要なあへんアルカロイド系麻薬の原料であり、安定確保が国策として求められている。

あへんアルカロイド系麻薬のうち、あへん換算にして95%以上がリン酸コデイン及びリン酸ジヒドロコデインとして、鎮咳剤、鎮咳去痰剤、総合感冒剤に配合され消費されている¹⁾。近年、モルヒネの消費量が増加してきており、1998年の消費量は塩酸塩と硫酸塩を合わせて954kgであった。これはがん患者に対する疼痛緩和目的の普及に起因すると考えられ¹⁾、今後も消費量の増加が予想される。

あへんは国内需要量のほぼ全量をインドに依存し、毎年100トン超が輸入されているが、国際的な需要の増加とインドの天候不順による減産のため、1998年の輸入量は78トンにとどまり¹⁾、供給は不安定な状況にある。

国内のケシ栽培は *Papaver somniferum* L. が用いられ、1937年には品種「一貫種」が報告され²⁾、今日まで優良種として引き継がれている。戦後、栽培面積は急減し、一部を残すのみとなり、1998年におけるあへんの国内生産量は3.6kgであった¹⁾。

わが国におけるケシの研究は、国立衛生試験所（現国立医薬品食品衛生研究所）が主体となり、和歌山及び春日部

（現筑波）両薬用植物栽培試験場で栽培研究が進められ^{3a,b)}、現在、北海道、筑波、伊豆及び種子島の各薬用植物栽培試験場で継続されている。伊豆薬用植物栽培試験場では、1982年よりケシ栽培を開始し、冬季の温暖な気候を利用し、当初から秋まき栽培を行っており、1アール当たり乾燥あへん収量の過去最高値は322gを記録している⁴⁾。

ケシの秋まき栽培はあへん収量が多い一方、厳冬季の凍害による花芽損傷や春先の強風による倒伏等不慮の障害が、あへん収量に大きな影響をもたらす危険性がある。そこで上記気象上の障害回避と生育期間の短縮化を目的にした、伊豆における春まき栽培の可能性を調べるため、ケシの秋まき及び春まき栽培における、生育、あへん収量及びあへん中のあへんアルカロイド含量の特性について検討した。

実験材料及び方法

1. 材 料

筑波薬用植物栽培試験場から導入し、伊豆薬用植物栽培試験場で継代栽培している「一貫種」から、1993年5月に採種し、その後4℃で保存した種子を用いた。

2. 栽培概要

播種は、秋まき栽培（秋まき区）が1995年11月17日、春まき栽培（春まき区）は1996年3月4日に行い、それぞれ当該圃場に種子を条播した。栽培条件は、秋まき区及び春まき区ともに同一で行い、間引き後の栽植距離は条間

[#] To whom correspondence should be addressed:
Osamu Iida; 155 Shimogamo, Minamiizu-cho, Kamogun, Shizuoka 415-0303, Japan; Tel: 0558-62-0044; Fax: 0558-62-0063; E-mail: iidao@nihs.go.jp

60cm, 株間20cmに設定した。

肥料は10アール当たり, 基肥として, 秋まき区では1995年11月16日に, 春まき区では翌年2月28日に, アルカリ性土壌改良材3,000kg, 緩効性化成肥料(窒素, 磷酸, 加里の各成分量10%)35kgをそれぞれ全層に施した。追肥は, 秋まき区では1996年2月20日に, 春まき区では同年5月22日に, 同化成肥料を35kg施用した。

栽培面積は, 秋まき区及び春まき区ともに25m²とし, 秋まき区では24m²を, 春まき区では10.8m²を試験区に供した。試験区における供試個体数は, 1アール換算で, 秋まき区, 春まき区でそれぞれ841株, 861株であった。

3. あへん採取

植物体は芽かきを行い, 主茎頂生果1本仕立とした。未熟果実の切傷は隔日とし, 慣行法に従い3筋切傷刀を用い, 3山ずつ行った。秋まき区では1996年5月20, 22, 24, 27日に, 春まき区では6月10, 12, 17日に切傷し, あへん採取は各回ともに切傷直後(切取法)と翌朝(追掻法)の2回行った。

あへん収量調査は, 上記試験区面積の全株を対象にあへんを採取し収量を求め, 反復は設けなかった。

採取したあへんの乾燥は, 循環式恒温乾燥器内60℃, 6~8週間行った。植物体の特性調査は, 秋まき区5月30日, 春まき区6月18日に各20株を掘り取り行い, 乾燥重量は, 自然乾燥1~2週間の後, 循環式恒温乾燥器内50℃, 3日間行い測定した。

4. あへんアルカロイドの定量⁵⁾

粉末にしたあへん約5mgを精密に秤量し, 5mlのメタノールを加え超音波洗浄器で20分間抽出を行った。遠心分離(18,000g, 10min.)後, 上清10μlを高速液体クロマトグラフィー(HPLC)に注入した。

HPLC分析条件は以下のとおり。

カラム: TSKgelODS120A(5μm, 4.6mm i.d. x 250mm), 流速: 1ml/分, 温度: 35℃, 検出: UV200-400nm(化合物の同定), 284nm(定量)。

移動相: 10mM 1-ヘプタンスルホン酸ナトリウム(リン酸を用いてpH3.5に調整)・アセトニトリル濃度を順次25%(0分), 43%(10分から15分間は保持), 50%(22分), 80%(26分から30分は保持)に高めた。

結果及び考察

1. 気温及び生育概要

ケシ生育期間中の最高気温, 平均気温, 最低気温の旬別平均値をFig. 1に示した。生育期間中の最高及び最低気温の極値は, それぞれ28.5℃(6月16日), -6.3℃(12月27日)であった。

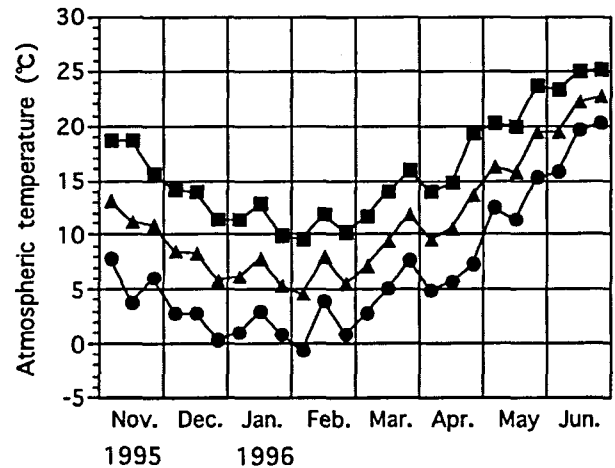


Fig. 1. Mean 10 days' maximum(■), mean(▲) and minimum(●) atmospheric temperature during growing period

秋まき区の生育, 開花は, 例年に比べ1週間程遅れ, 開花始めが5月5日, 開花盛期が5月10日であった。これは, 試験年における低温と出蕾期の小雨の影響と推察された。当該季は, 11月から翌春に渡り低温で推移し, 特に出蕾期の4月の平均気温は, 過去10年間の平均気温より4.0℃低く, また同月の降水量も例年の20%程であった。春まき区の開花始めは5月27日, 開花盛期は6月1日であった。

なお, 両区の植物体は, 開花の遅延の他は, 凍害, 強風及び病虫害による大きな損傷もなく, 収穫期まで順調に生育した。

2. 植物体の生育特性

秋まき区及び春まき区における, 植物体の生育特性の結果をTable 1に示した。

草丈をはじめとする植物体の生長量は, 明らかに秋まき区が大きく, 生育期間の差を反映した。さく果柱頭片の数及び稔実種子数には両区の差はなかった。しかし, 秋まき区の種子数に大きな個体間変動が認められた。

春まき区のみは, 秋まき区に比べ一回り小さく, 広楕円形状のものが多かった。一貫種の特徴である下方が膨れた卵形ものは少なく, 形態的特徴を十分発揮するほど生長していないように思われた。

3. あへん収量

秋まき区及び春まき区における, 1アール当たりのあへん乾燥収量及びあへん分泌株(果)数を, Fig. 2及びTable 2にそれぞれ示す。

あへん収量は, 秋まき区が212.09g, 春まき区が142.1gで, 春まき区収量は秋まき区の67%であった。秋まき区は4回のあへん採取が行えたが, 春まき区は切傷3回目には, あへんはほとんど分泌されず, 採取は2回で終了した。秋まき区における2回目までのあへん収穫量は118.67gで

Table 1. Characteristics of *Papaver somniferum* L. sown in autumn and spring

Sowing season	Plant height cm	No. of leaves on stem	Maximum leaf		Diameter of stem		Capsule	
			Length cm	Width cm	Bottom cm	Top cm	Height cm	Width cm
Autumn ^{a)}	138.9±5.1	9.6±1.8	31.7±2.9	22.9±2.1	2.6±0.4	1.1±0.1	9.5±0.5	6.4±0.4
Spring ^{a)}	104.5±4.2	10.2±1.2	24.6±2.4	15.4±1.7	1.5±0.1	0.9±0.1	8.4±0.5	5.6±0.5

Values are the mean of 20 plants ± S.D. .

^{a)} Seeds were sown on November 17, 1995 and March 4, 1996.

Table 1. (continued)

Sowing season	No. of ray on capsule	Seeds/capsule		Dry weight/plant			
		Number	Dry weight g	Leaves g	Stem g	Capsule ^{b)} g	Root g
Autumn	12.0±0.9	6815±4011	2.04±1.20	26.99±6.03	36.38±7.68	11.53±1.64	13.09±3.24
Spring	12.4±0.9	6853±2410	1.97±0.69	12.18±3.35	13.83±2.46	7.86±1.11	5.58±1.65

^{b)} Capsule with seeds.

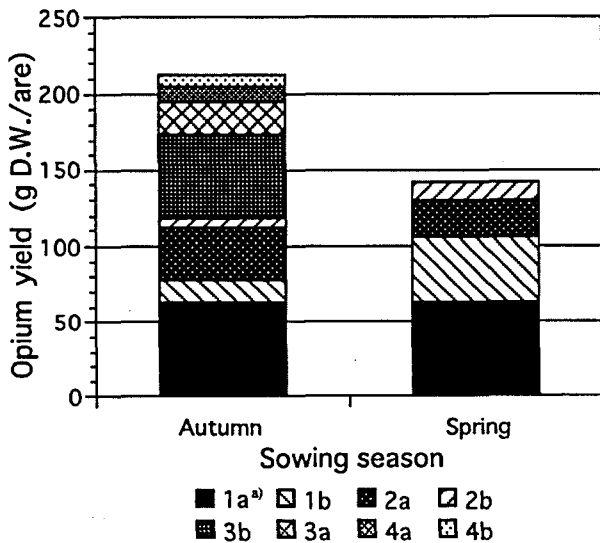


Fig. 2. Opium yield (g dry weight / are) of *Papaver somniferum* L. sown in autumn and spring

^{a)} Number represents incision order. a:immediate collection, b:continuative collection.

Table 2. Number of total capsules and productive capsules per an are of *Papaver somniferum* L. sown in autumn and spring

Sowing season	Total No. of capsules	No. of productive capsules			
		1st	2nd	3rd	4th
Autumn ^{a)}	841	816 (97.0)	770 (91.6)	670 (79.7)	387 (46.0)
Spring ^{a)}	861	824 (95.7)	592 (68.8)	0 (0)	0 (0)

Numbers in the parentheses indicate percentage of productive capsules to total number of capsules.

^{a)} is the same as Table 1.

あり、むしろ春まき区の方が多く、収量差は3、4回目の分泌量の差に起因した。

あへん収量(1アール当たり)は、秋まき栽培では、和歌山試験場における1965～1973年の9年間の平均値が244gを示し⁶⁾、350g以上のこともあったことが報告されている⁷⁾。春まき栽培では、北海道試験場における1993～1995年の3年間の成績が82～157g⁴⁾を示し、栽培法によっては240gに達した。また、北海道では3回の採取が可能であった。当場の成績は、秋まき栽培では和歌山より少なく、春まき栽培では北海道と同等に位置づけされる。

当場における春まき栽培では、切傷後の果実及び植物体の急激な疲弊が観察された。5月下旬以降の気温の上昇が植物体の疲弊を促進し、あへんの早期分泌停止の一因になったと推察される。

供試総株数に対するあへんを分泌した有効株(果)の割合は、秋まき区では切傷1回目、2回目、3回目及び4回目でそれぞれ97%、92%、80%、46%であった。一方、春まき区では1回目96%、2回目69%であり、春まき区での減少が顕著であった。また、あへん収量を1回目あへん分泌株数で除して得られた、1株(果)当たりのアヘン乾燥重量は、秋まき区が0.260g、春まき区が0.173gであった。

4. あへんアルカロイド含量

あへん採取回数別のあへんアルカロイド含量をFig.3に示す。

モルヒネ、コデイン、テバイン、パバベリン及びノスカピンの総含量は1回目採取時に最も高く、切傷・採取回数が進むにつれて減少した。春まき区では、秋まき区に比べ、全体的に含量は低かった。なお、培養系及び環境ストレス

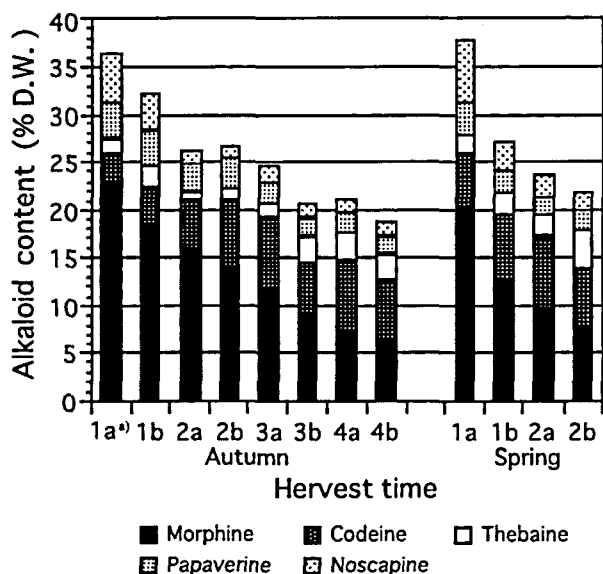


Fig. 3. Opium alkaloid content (% dry weight / are) of *Papaver somniferum* L. sown in autumn and spring
^{a)} is the same as Fig.2.

下で生成されるサンギナリン^{8a,b)}は検出されなかった。

5種類のアヘンアルカロイド含量のうち、モルヒネ、パパベリン及びノスカピンは初期に高く、切傷・採取回数が進むにつれて減少したが、コデイン及びテバインは回数が進むにつれて高くなった^{9a,b)}。組成比の変化は、春まき区でより顕著であった。

春まき区における組成比の推移は、秋まき区の後期に似ており、また、分泌アヘン量の変化と併せ、さく果のアヘン分泌能力とアヘンアルカロイド生合成酵素¹⁰⁾活性間に何らかの関連があり、切傷による植物体の疲弊あるいは老化がこれらに関連している可能性があるとして推察された。

各回ごとに採取したアヘン中のモルヒネ含量の平均値は、秋まき区が15.64%、春まき区が15.04%であり、また1アール当たりのモルヒネ生産量は、それぞれ33.16g、21.38gであった。

ま と め

伊豆薬用植物栽培試験場で、ケシー貫種の秋まき及び春まき栽培における、生育、アヘン収量及びアヘン中のアヘンアルカロイド含量を調査し、以下の結果を得た。

1. 播種からアヘン収穫までの生育期間は、秋まき栽培では約6ヶ月、春まき栽培では約3ヶ月であった。植物体の生長量及びさく果の大きさは、いずれも秋まき区が大きく、生育期間の差異を反映した。さく果柱頭片数及び稔実種子粒数には差が見られなかった。

2. 1アール当たりアヘン乾燥収量は、秋まき区が212.09g、春まき区が142.13gであった。秋まき区は切傷4回目までアヘン採取が可能であったが、春まき区は2回で停止し、収量差は3、4回目の分泌量の差に起因した。

3. モルヒネ、コデイン、テバイン、パパベリン及びノスカピンの総含量は1回目採取時に最も高く、切傷・採取回数が進むにつれて減少した。春まき区では、秋まき区に比べ、全体的に含量は低かった。5種類のアヘンアルカロイド含量のうちモルヒネ、パパベリン及びノスカピンは初期に高く、切傷・採取回数が進むにつれて減少したが、コデイン及びテバインは回数が進むにつれて高くなった。成分組成比の変化は、春まき区で顕著であった。

4. 各回ごとに採取したアヘン中のモルヒネ含量の平均値は、秋まき区が15.64%、春まき区が15.04%であり、また1アール当たりモルヒネ生産量はそれぞれ33.16g、21.38gであった。

以上のように、伊豆におけるケシーの秋まき栽培は、厳冬季の凍害や春先の強風による倒伏の危険性はあるものの、植物体は大きく生長し、収量が高く、種子は充実し、品種の特性を發揮しうるなどの特長があった。一方、春まき栽培では、上記気象による植物の損傷は回避され、栽培期間が短縮されるが、アヘン収量が低いことなどが明らかとなった。また、両栽培法におけるアヘン中のモルヒネ含量には、大きな差は認められなかった。

春まき栽培における大きな問題点は、アヘン収穫期が梅雨期間中となることであった。今後、伊豆における春まき栽培が、安定した作型となるためには、播種期の移動等、アヘン収穫が梅雨入り前の6月上旬までに終了するような栽培法の検討が必要であろう。

文 献

- 1) 厚生省医薬安全局麻薬課：麻薬・覚せい剤行政報告，pp.15-22 (1999)
- 2) 厚生省薬務局麻薬課監修：“けし植物図譜”，第一法規，東京，pp.105-106 (1989)
- 3) a) 木下孝三：衛試報告，74，69-71 (1956)；b) 川谷豊彦，藤田早苗之助，大野忠郎：衛試報告，75，151-155 (1957)
- 4) 厚生科学研究費「生態系農業に基づくケシ栽培法の確立に関する研究」報告書，平成3年度～8年度
- 5) Yoshimatsu, K. and Shimomura, K.: *Plant Cell Reports*, 11, 132-136 (1992)
- 6) 大野忠郎，木下孝三，小峰常行：衛試報告，93，106-108 (1975)
- 7) 木下孝三：衛試報告，75，189-198 (1957)
- 8) a) Furuya, T., Ikuta, A. and Syono, K.: *Phytochemistry*, 11, 3041-3044 (1972)；b) Yoshimatsu, K. and Shimomura, K.: “Biotechnology in agriculture and forestry, vol. 45 Transgenic Medicinal Plants”, eds. by Bajaj, Y. P. S., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. pp. 178-192 (1999)
- 9) a) 佐竹元吉，栗原孝吾，畠山好雄，堀越 司，高橋一徳，鳥峯望彦，大野昌子：衛試報告，102，117-120 (1984)；b) Tookey, H. L., Spencer, G. F., Grove, M. D. and Kwolek, W. F.: *Planta medica*, 30, 340-348 (1976)
- 10) ツェンク, M. H., 田端 守: *Natural Medicines*, 50, 86-102 (1996)

分野に特化したインターネットの専用検索エンジンの開発

高井貴子, 徳永雅彦*¹, 前田 憲*², 神沼二真[#]

Development of Domain Specific Search Engines

Takako Takai, Masahiko Tokunaga*¹, Ken Maeda*² and Tsuguchika Kaminuma[#]

As cyber space exploding in a pace that nobody has ever imagined, it becomes very important to search cyber space efficiently and effectively. One solution to this problem is search engines. Already a lot of commercial search engines have been put on the market. However these search engines respond with such cumbersome results that domain specific experts can not tolerate. Using a dedicate hardware and a commercial software called OpenText, we have tried to develop several domain specific search engines. These engines are for our institute's Web contents, drugs, chemical safety, endocrine disruptors, and emergent response for chemical hazard. These engines have been on our Web site for testing.

Keywords: full-text search engine, information retrieval, domain specific information

はじめに

我々の部は、インターネットに接続される所内LAN環境, NICIを開発, 整備する一環として, 自らも情報を発信するWeb環境を整備してきた。これによって我々の部だけでなく, 多くの部がWebページによる情報提供をはじめた。現在のところ, こうした情報提供は, 各部門で自由に行われており, 全体的な体系化, 規制, 統制はない。その結果, 外部から見ると, どこにどのような情報があるかを知ることが難しくなってきた。そこで我々は, インターネットの検索エンジンと呼ばれるシステムを用いて, NICIの管理下にあるサーバー上におかれたすべての情報を一元的に検索するシステムを自ら開発し, 1998年より試験的な利用に呈した。

その後このシステムを拡張して, インターネット上に提供されている多量の外部情報を自動的に収集し, インデックス化して, 検索するシステムを試作した。だが使用実験でこのシステムは, ハードウェアもソフトウェアも十分でないことが判明した。そこで, 1999年10月のNICI第3次システム整備において専用のマシンと商品ソフトを用意するとともに, 平行して各種の専用検索エンジンを開発して

きた。現在までに開発されているのは, 内分泌かく乱物質関連情報用, 医薬品関連情報全般用, 医薬品緊急安全性情報用, GINC (Global Information Networks on Chemicals) 用, 健康危機管理関連情報用である。専用検索エンジンとは, 専門分野の情報に特定した検索エンジンである。

本稿では, 我々が行った検索エンジンのシステム開発について解説し, その有用性について述べる。

システム

最初に, 検索エンジンについて簡単に説明する。検索エンジンは, 指定されたサイト群から自動的にテキストを収集する「情報収集」と, 集められたテキストをキーワードで検索する「全文検索」という, 2つの基本的な機能を持っている。すなわち検索エンジンが持つ, インターネット空間に存在するWebコンテンツを自動的に収集する機能と, 収集したテキストをインデックス化する機能を利用して, Webコンテンツを網羅的に検索するシステムを構築できる。今日インターネット上で著名なYahoo, Goo, InfoSeekなどの検索サイトは, こうした検索エンジンを利用している。

専用検索エンジンの特徴は, コンテンツを収集するサイトを専門家が選別しているため, 収集される情報の信頼性が一様に高いことである。こうして作成された専用検索エンジンは, 専門分野に特徴的な情報を検索する際に, 威力を発する。実際に, 我々の研究部門では, 医薬品や一般化学物質の安全性情報を収集する目的で, 日常的に専門エンジンを用いており, 業務の効率化に大きく貢献している。

*¹ (株) アドイン研究所

*² (株) インターネットアトラス

[#] To whom correspondence should be addressed:

Tsuguchika Kaminuma; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-9540, Fax: 03-3700-7592; e-mail: kaminuma@nihs.go.jp

我々の場合、検索エンジンプログラムは、OpenText社のOpenTextを用いた。インターネット上のコンテンツ収集ロボットプログラムは、フリーソフトウェアのWget (GNU Archive)を用いた。マシンはSun Workstation UltraSPARC (Solaris 5.7, memory 512MB, HDD 100GB)を用いた。

つぎに、一般の検索エンジンの仕組みについて多少説明しておく。全文検索は、テキストの内容を構造化することなしに、テキスト全文に対して、そこに含まれるキーワードやフレーズが検索できる仕組みである。全文検索エンジンは、対象となるテキストに対して、その中に含まれる全部の単語をあらかじめ選び出し、単語をキーとしてテキストをインデックス化する。このインデックスによって全文の検索が可能となる。インデックスの作成方法はエンジンの種類によって異なる。OpenTextの特徴は、単語を取り出さずに、テキスト中の全バイトストリームをそのままインデックス化することにある。この方式は、マルチバイト言語を含めてあらゆる言語での検索が可能であることと、形態素解析により不十分な単語区切りがあった場合の、インデックス漏れの心配が無いという利点を持つ。逆に欠点は、インデックスが大きくなり、インデックス化の処理時間も長いことである。Wgetはコンテンツ収集ロボットとして広く用いられているプログラムで、収集する階層の指定、ファイルの種類の指定、階層の深さの指定など、きめ細かい設定が可能である。専門分野に特化した検索エンジンを作成する際には、このような細かい収集オプションの指定ができる機能が重要である。

本システムは、オペレーティングシステムのスケジューリング機能に組み込まれており、定期的なコンテンツ収集とインデックス更新が自動的に行われるように設定されている。

結 果

国立医薬品食品衛生研究所のWebコンテンツのための検索エンジンを開発した。この検索エンジンは当研究所で発信している全Webコンテンツを対象としている。本検索エンジンは当研究所のホームページ (<http://www.nihs.go.jp/index.html> または <http://www.nihs.go.jp/index-j.html>) にリンクされており、国立医薬品食品衛生研究所が発信する情報の、道案内の役割を果たしている。インデックスは毎週、最新の情報に自動的に更新されている。

さらに専門エンジンとして、内分泌かく乱物質関連情報用、医薬品関連情報全般用、医薬品緊急安全性情報用、GINC (Global Information Networks on Chemicals) 用、健康危機管理関連情報用の検索エンジンを開発した。これらの開発においては、化学物質情報部の研究員がそれぞれ専門の分野について、信頼できる情報発信源を調査し選別した。それぞれの検索エンジンでコンテンツ収集の対象としてい

るサイト数を、他の特徴とともに表1にまとめてある。

Table 1. Domain specific search engines developed in this research.

専用検索エンジンの対象	収集サイト数	インデックスサイズ	更新間隔
NICIのWebコンテンツ	17	8M byte	毎週
内分泌かく乱物質関連情報	18	1.0G byte	毎月
医薬品関連情報全般	82	700M byte	毎月
医薬品緊急安全性情報	42	1.1G byte	隔日
GINC (Global Information Networks on Chemicals)	170	2.0G byte	隔週
健康危機管理関連情報	122	1.7G byte	隔週

信頼できる情報発信源として選別されたサイトは、(1) 公的機関およびそれに準ずる機関、(2) 雑誌、(3) 民間機関で評価データを提供しているサイト、であった。選別の判定基準として、(1) 定評のある印刷物として出版されている内容がWWW上にも掲載されている場合は採用する、(2) 総説を多く掲載している雑誌は優先して採用する、(3) 5-6年連続して調査している間に、途中で消滅することなしに、継続的に情報が更新されているサイトを優先して採用する、(4) 他の機関によって、優れたサイトであると評価された場合は、その結果を十分参考にする、といった事項を考慮した。

表2、3には、我々が開発した専門エンジンが、いかに専門分野の情報の検索に有効であるかを、商用の検索エンジンの検索結果と比較して示す。例として検索文字列「バイアグラ」と「副作用」を用い、バイアグラの副作用情報を検索することを試みた。比較した検索エンジンは、我々が開発した医薬品関連情報用検索エンジンと、商用の検索エンジンであるYahoo Japanである。表2はYahoo Japanの検索結果である。Yahoo Japanの場合、ヒット率1位は医薬品の安全性情報であるが、それに続く上位2位から5位まではすべて、バイアグラの輸入仲介業者が提供している情報であった。2位から5位までは、バイアグラの副作用情

Table 2. Comparison between domain specific and commercial search engines. Retrievals from Yahoo Japan (<http://www.yahoo.co.jp/>).

順位	タイトル	情報発信源	内容例
1	バイアグラ 医薬情報	ファイザー製 薬	この度承認された勃起不全治療薬バイアグラに関する情報を公開する公式サイトです。
2	バイアグラを 電話かFAX で注文	輸入仲介業 者	バイアグラをアメリカより格安に輸入代行。 約1週間でお届けできます。
3	バイアグラ 薬	輸入仲介業 者	こちらでは医師がオンライン診断後処方しま すから安心して飲めるのです。
4	漢方バイア グラ	輸入仲介業 者	中国漢方界、総力を挙げて開発した、漢方 バイアグラを輸入出来るようになりました。
5	マカとバイア グラの比較 表	輸入仲介業 者	マカとバイアグラの比較表、効果発現速度、 効果持続期間

報を調べる目的には全く役立たないサイトである。この例は、商用の検索エンジンを用いると、検索結果に無駄が多く、そのために、検索結果から有用な情報を選別する労力が増えることを示している。こういった傾向は、社会的に話題性の高い医薬品や一般化学物質に、特徴的である。表3は、我々が開発した医薬品関連情報用検索エンジンの検索結果である。ヒット率上位1位から5位まですべてが、バイアグラの副作用情報であり、検索の目的と一致している。

Table 3. Comparison between domain specific and commercial search engines. Retrievals from the drug information specific search engine (<http://search.nih.gov:8010/drug-search/>).

順位	タイトル	情報発信源	内容例
1	No title	UMIN (大学病院医療情報ネット)	クエン酸シルデナフィル(バイアグラ)と硝酸薬の併用による重篤な副作用について。
2	医薬品等安全性情報155号	UMIN (大学病院医療情報ネット)	バイアグラ錠 25mg(ファイザー)他[慎重投与] カルベリチドを投与中の患者
3	医薬品等安全性情報149号(概要)	UMIN (大学病院医療情報ネット)	米国等において「バイアグラ」の商品名で勃起障害治療薬として発売されている。米国に於いて本剤は硝酸薬との併用が禁忌になっているが
4	topics	国衛研	FDA 認可薬バイアグラ情報、バイアグラに関するドクターレター、日本語訳(一部)(日本薬剤師会)
5	99/08/30 医薬品等安全性情報156号(概要)	UMIN (大学病院医療情報ネット)	クエン酸シルデナフィルは、勃起不全治療薬として本年1月に承認され、これまでに心筋梗塞10例を含む33例の報告があった。

専門家が選別した信頼できるサイトの例として、内分泌かく乱物質関連情報用検索エンジンの対象となっているサイト群の一部を表4に示してある。国際機関や国、地方自治体の研究機関が選別されている。

Table 4. Examples of information sites selected by specialists, in the case of the endocrine disruptor information specific search engine.

厚生省
環境庁
国立環境研究所
東京都環境衛生局
東京都立衛生研究所
東京都環境科学研究所
神奈川県環境科学センター
OECD
IPCS/WHO
EPA
NAS (National Academy of Sciences)
英国環境庁
英国農水省
WWF Canada など

考 察

我々の部が最初に注目した検索エンジンはHarvestであり、つぎにしらべたのがGlimpseであった。HarvestはGlimpseより高機能であったが、日本語に対応していなかった。一方、Glimpseには日本語対応機能があったので、最初自作したNICIのウェブコンテンツの検索エンジンには、Glimpseを用いた。ハードウェアはSun SPARC station20であった。しかし、このシステムをGINC関連サイト専用の検索エンジンに適用してみると、応答速度があまりに遅いことが判明した。今回開発したシステムは、これとは桁違いに強力であり、十分な実用性をもっていることが実証された。

検索エンジンを開発するには、

- (1) 強力なハードウェアと高機能のソフトウェアが揃えられること、
- (2) 対象となる情報領域に関し、適切なWebサイトを知っており、しかもそれを常時更新していけるその分野の専門家がいて、
- (3) 検索エンジンを実際に使っているユーザの声を反映して、システムを改良していける体制がとれていることが条件である。

我々の研究部には、領域ごとのWebマスターを兼任している専門家が揃っていたことが、専用検索エンジンの開発に幸いした。このようにわれわれの開発基盤は十分に強力なので、他の分野に特化した同様な専用検索エンジンを、情報部の協力のもとで、他の部門が開発することも可能である。

表2、3の例が示すように、今回開発した4種の専門エンジンは、その専門分野の情報を検索するのに、たいへん有用であることが分かった。こういった専用検索エンジンには、2種類の有用な利用法があると考えられる。ひとつは、専門分野の情報を信頼して検索できるシステムとして、一般に公開する利用法である。これは医薬品や一般化学物質の安全性に特定した、情報のポータルサイトとしての利用法である。今日、医薬品や一般化学物質の安全性問題について社会全体の関心が高まっているが、「どこに信頼できる情報があるのか分からない」という疑問に多く接する。この意味で、医薬品や一般化学物質の安全性問題に関する専門家が、信頼できる情報源を選別し、それらの情報について検索できるシステムを提供することは、国研の必要な業務であると位置付けられよう。

もうひとつの有用性は、専門家が、インターネット上の情報を検索する際に発揮される。今日、インターネットは情報の収集源として欠かせないものとなっている。最新の情報を時間差なく獲得できるという意味では、むしろ紙媒体の情報源より有用性が高い場合が多い。実際我々の研究部でも日常的に、インターネットを情報の収集源として利

用している。検索の際に、頻繁に参照する複数サイトを同時にクロス検索することができれば、たいへん効率が良い。これは、頻繁に参照するサイトをまとめて、検索エンジンを作成することにより実現できる。我々の研究部では、今回作成した検索エンジンを、部内でこの目的にも利用しており、日常の業務の効率化に役立っている。

将来課題

インターネットではある関心領域への玄関口となるサイトをポータル(サイト)と呼んでいる。我々の部は、国立衛研がCEOであろうとしている分野におけるわが国のベストポータルの構築をめざしている。関心領域ごとの専用検索エンジンは、その重要な要素技術である。インターネットの世界ではポータルの重要性、さらに検索エンジンの重要性が次第に認識され始めており、技術も激しく進歩している。

我々が課題の一つとして考えているのは、検索の枠に入力する文字列の柔軟性である。例えば、英語と日本語との対応、類似語や上位、下位概念による検索、文字列の柔軟なマッチングなどである。もう一つの改良点は、情報コンテンツをカテゴリーごとに整理して配列することである。現在、開発したシステムを利用してもらいながら、これらの改良を検討している。

謝 辞

東京都臨床研(現、東京都立衛生研究所)の灘岡陽子氏にはHarvestとGlimpseの機能を分析し、検索エンジンへの

適用を検討して頂き、数々の有用な助言を頂いた。また石川恵司氏(現石川電機)には、最初の検索エンジンを試作して頂き、今回のシステム開発においても、その初期段階で協力して頂いた。国立医薬品食品衛生研究所の山本都氏と山本美智子氏には、専門エンジンのための情報収集サイトを選別して頂いた。日商岩井インフォコム(株)の安井剛氏には、OpenTextの利用について、技術的なアドバイスを頂いた。また化学物質情報部第2室の中野達也氏、小峰啓氏、中田琴子氏には、システムの環境整備で協力して頂いた。ここに感謝する。

英文要旨和訳

電算機空間は誰も想像すらできなかったような速度で広がり続けており、その空間内を効率良く効果的に探索する技術が重要となっている。検索エンジンは、この問題のひとつの解決方法である。すでに多くの商用検索エンジンが利用可能となっているが、専門家による専門分野の利用においては、重装備であり過ぎて、扱いにくい。そこで我々は、いくつかの専門分野に特定した検索エンジンの開発を試みた。マシンは専用ものを用意し、プログラムは市販のソフトウェアであるOpenTextを用いた。本研究では、NICIのWebコンテンツ用、内分泌かく乱物質関連情報用、医薬品関連情報全般用、医薬品緊急安全性情報用、GINC(Global Information Networks on Chemicals)用、健康危機管理関連情報用の専用検索エンジンを開発した。これらの検索エンジンは、すべてNICIのWebページから、試用に呈している。

多様な環境健康デジタル地図を管理するインターネット対応システム

神沼二真[#]・燕山典子・早川光春^{*}・二木靖仁^{*}

Archives of Environmental Health Digital Maps and Their Delivery by the Internet

Tsuguchika Kaminuma[#], Noriko Kabuyama,
Mitsuharu Hayakawa^{*} and Yasuhito Futatsuki^{*}

Geographic Information System is becoming a very important tool for environmental health research. We have produced various digital maps for different scales for different purposes. The burst of E.Coli O-157, distribution of hazardous chemicals in East Asia, and coastal resin pellets are some examples. It now becomes a problem how to archive these digital maps and how to retrieve these maps according to user's request. We have developed a computer system that can store various types of digital maps and can retrieve them from WWW client machines. The key concept of this archive system is to classify every digital maps according to their region of interest.

Keywords: GIS, Digital Map, Internet, Environmental Health

1. はじめに

われわれは1997年の夏、病原性大腸菌O-157の流行時に行政支援の一環としてコンピュータを用いて発生地図を作成し、インターネットで提供する実験を行った¹⁾が、それ以後健康と環境に関わる研究支援の立場から多数のデジタル地図を作成し、その多くをインターネットで提供してきた。

しかし、このような地図が多くなると、バックグラウンドでそれらを管理することも、インターネットのユーザが自分たちの見たい地図を探すことも次第に困難になってきた。そこで、われわれ自身が作成したり、入手したり、あるいは他の研究グループから寄託された多様なデジタル地図をどう管理し、インターネットでどう提供するかが新たな課題となった。

近年、コンピュータによる地図作成システム（地理情報システム Geographic Information System, GIS）が様々な分野で多く利用されている。それらの商品の中にはインターネットに対応したものもあるが、既に広く使われている ArcView（販売元：（株）パスコ）や MapInfo（販売元：三井造船システム技研（株））のような GIS は、インター

ネット、World Wide Web (WWW) が急速に普及する以前のコンセプトで開発されたものであり、インターネットによる配信、管理の機能をもっていない（註1）。

また、最近では画像データの検索も可能となってきたが、一般に広く使われている検索エンジン（Yahoo!や Infoseek など）では入力した文字を探し出すため、地図のように文字として現れない様々な情報が含まれているものは検索できない。

そこでわれわれは、複数の GIS ユーザが作成した地図を一括管理し、インターネットで検索できるシステムを開発した。

2. 地図管理システム

2.1 これまでに作成された地図の例

地図管理の問題を理解してもらうために、これまで作成した地図の中から、地球環境費による研究との関係で力を入れた、東アジアの環境汚染物質の分布や漂着レジンペレットの事例を紹介する。

1) 東アジアの環境汚染物質分布図

この地域の環境汚染物質に関する分析、調査はしばしば行われ、時に結果が地図に表示されることがある。この中には、1つの国だけでなく、複数の国にまたがる結果を表示しているものと、1つの国だけに限定して地図を作成しているものがほとんどである。いずれの場合も、表示に用いられる地図は、緯度経度を用いたデジタル地図でなく、Microsoft EXCEL などでも描ける絵であることが多い。こ

^{*} 株式会社アドイン研究所

[#] To whom correspondence should be addressed:

Tsuguchika Kaminuma, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-0098, Japan; Tel:03-3700-9540, Fax:03-3700-7592; e-mail:kaminuma@nihs.go.jp

のような地図は、地図同士を結合してさらに広い地域を表示したり、新たなデータを地図上に表示することが難しいなどという、科学データの表示方法としては致命的な欠陥がある。

この問題を解決するためには、グローバルな統合が可能な緯度経度を持つデジタル地図を用いること、データの属性にも同じ位置情報を持たせることが必要である。

われわれは東アジア地域についてこの種の基盤デジタル地図を作成し、それに環境汚染関連データをマッピングすることを試みた。

2) 漂着レジンペレットの分布図

われわれの漂着レジンペレットの調査では、海岸ごとに調査結果をまとめているため、分布を示す地図も少なくとも2,500メートル、できれば500メートルのスケールである必要がある。

さらに、こうした詳細地図が海流などを示した大域的な地図から辿れる必要がある。これらの点を考慮して、500以上の採集地点をカバーする漂着分布マップを作成した。

Fig.1に、江の島付近のペレット漂着地図を示す。

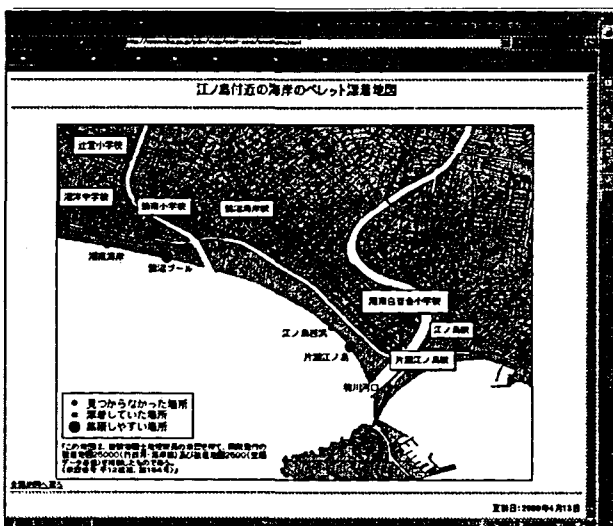


Fig.1. Distribution Map of Resin Pellets at Enoshima Beach Area

2.2 システム概要

検索のためのWWWサーバにはMicrosoft Windows NT 4.0を用いた。地図の様々な属性情報はRelational Database管理システム (Microsoft Access2000) に蓄積されている。Microsoft Access とWWWサーバとの連携にはWindows NT WWWサーバ用のInternet Information Server (IIS) を用いている。

Fig.2に地図検索の流れを示す。例えば、MAPIを作成したユーザは、WWWブラウザからMAPIの属性情報を国立医薬品食品衛生研究所 (NIHS) のWWWサーバに入力する。この時、地図本体の方はユーザのサーバ上に置いておく。地図を検索するユーザは、WWWブラウザから検索対

象の地域やキーワードを入力し、NIHS WWWサーバに検索を実行する。検索結果はブラウザ上で、地図のUniform Resource Locator(URL)にリンクを張ったタイトル名で表示される。ここでユーザは地図のタイトルをクリックして実際の地図を表示させる。

2.3 機能

本システムの主な機能は以下のようなものである。

(1) 初期メニュー

メニュー画面から「地図による検索」「キーワードによる検索」「新規地図の登録」を選択する。

(2) 地図による検索

初期画面として世界地図が表示される (レベル1)。全世界を対象として地図を検索したければ、ここで「検索」ボタンを押し、検索を行う。キーワードによる絞り込みも可能である (Fig.3)。

検索のための地図は、レベル1~5までの階層構造となっており、レベル数が多くなるに従って対象領域が狭くなる (レベル1:全世界→レベル2:東アジア→レベル3:日本→レベル4:都道府県→レベル5:ローカルな地域)。Fig.4にレベルごとに分類した様々な地図を示す。

(3) キーワードによる検索

対象領域を選ばずに、キーワードだけで検索を行う。そのため、検索された地図の領域は様々である。

(4) 新規地図の登録

検索の基となるデータベースの管理を行う。

新たに地図を作成した場合、作者はWWWブラウザに登録のための画面を呼び出し、作成した地図の属性データを入力する。データはデータベースに蓄積される。

地図の属性データには、

- ・ 地図のタイトル
- ・ 領域のレベル・地域名
- ・ 作成者
- ・ 作成日
- ・ キーワード
- ・ 地図の縮尺
- ・ 地図のURL
- ・ 備考

がある。アンダーラインを引いたものは必須入力項目である。地図の検索は、ここに入力されたデータによって行われるので、正しい検索のためには、正しいデータを入力するような注意が必要である。一旦登録されたデータの修正や削除は可能である。

また地図はわれわれのWWWサーバにある必要はなく、全世界のどのサーバにあってもかまわない。そのため、世界中に広がるGISユーザがこの検索システムを用いて地図を登録してくれるならば、検索の幅が広がり、ユーザが求める1枚の地図を必ず探し出すことができる。

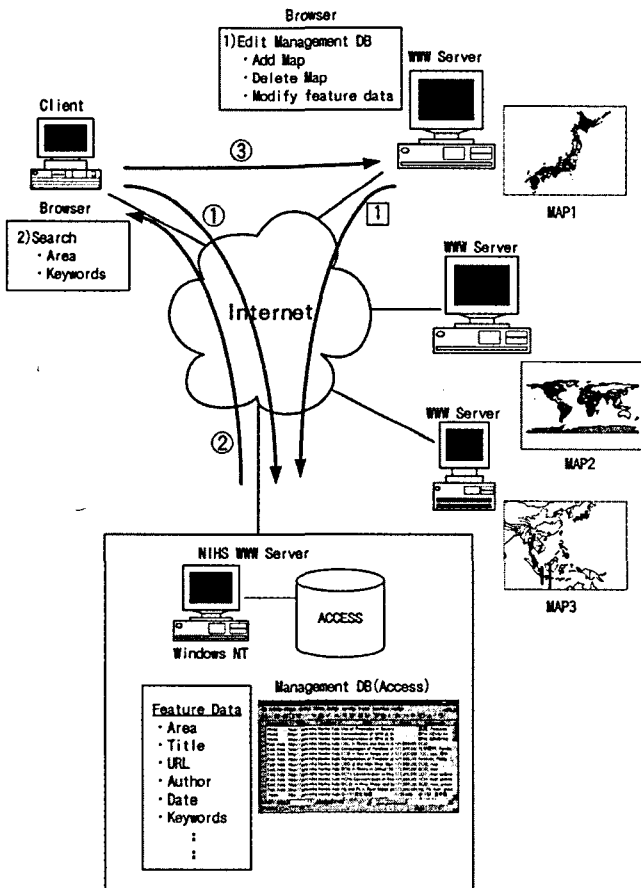


Fig.2. Concept of Our Map Archive System

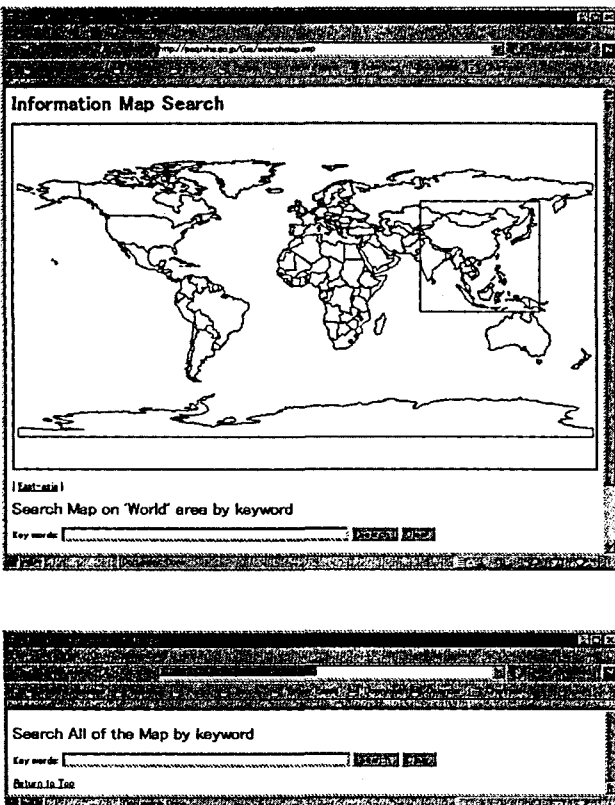


Fig.3. Search by Interested Region and Keyword Search Menu

3. 結果

われわれはこれまでに200枚以上の地図を作成してきたが、現在これらの大部分を新しいシステムで管理し、インターネットで発信する準備をしておき、既に実際のサーバでの稼働を確認している。ただ、現在はテストの段階なのでサーバは非公開であり、外のユーザからは閲覧できない。動作の確認が終わり次第、公開のサーバに移行する予定である。それ以降、これらの地図は世界中のコンピュータから使われる目的に応じてキーワードや地域から検索され、閲覧されることになる。

4. 考察

われわれはO-157の発生分布地図の作成以来、健康と環境に関わる多くのシステムを開発してきた。そうした多様な地図を如何に扱うかが一時間題となっていたが、このシステムによって、一応解決している。

この種のシステムを構築する際、大きな問題となるのは、GISとデジタル地図を揃えるのにかなりの金額がかかることである。ただしデジタル地図に関しては、最大の供給源である国土地理院が配布メディアをFloppy Disk(FD)からCD-ROMに変え、費用を安くしているなど改善が見られるが、地方公共団体などが作成している地図は公共の財産であるにも関わらず、互換性に乏しく、入手も難しい。GISはそれぞれのシステムごとに扱うデータの形式が違っており、異なるGISでデータのやりとりを行おうとすれば、データ形式を変換しなければならない。複数の領域の地図を統合しようとするGISが同一であった方がよく、例えばアジア地域での研究ネットワークを構築するようなためには、安く、どこでも使え、多言語に対応するGISがあれば便利である。

GISをインターネットへ対応させる動きが急であり、われわれが作業を始めた後でいくつかのシステムが売られるようになっていく。例えばArcViewの拡張機能であるArcView IMS (販売元：(株)パスコ)や、他にもCADの流れをくむAutoCADのMapGuide (販売元：オートデスク(株))などである。いずれにしろ、インターネットでの対応機能を向上させることが、次の課題である。

GISの利用は健康医療行政の中で、次第に重要性を増してきている。しかし、まだ地図を作成するところに重点があり、これを継続的に更新追加、維持していくことはあまり理解されていない。これはやがて理解されるようになるであろう。われわれの開発してきたシステムには汎用性がある。問い合わせをもらうことにより行政対応も可能と考える。

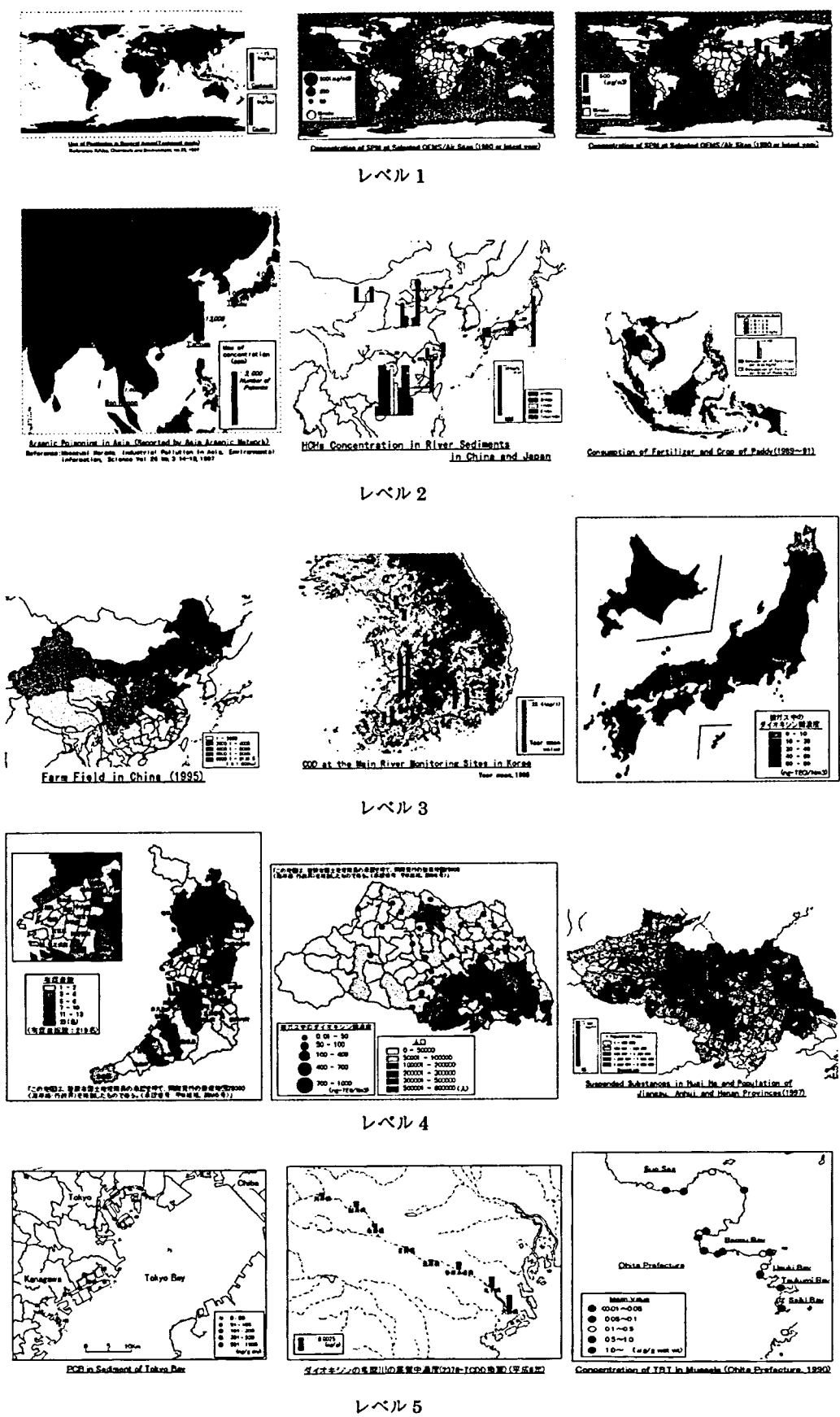


Fig.4. Classification of Maps According to Region Levels

謝 辞

このシステムを開発するにあたり、(株)パスコ、東京カートグラフィック(株)の方々には多くの助言を戴いた。ここに感謝する。

註 記

註1：ただしこのことは、この仕事が始まった1997年当時

のことである。最近では、ArcView, MapInfo共にインターネットで配信機能を持つシステムが発売され始めている。しかし、まだ非常に高価である。

文 献

- 1) Kaminuma, T., Kabuyama, N. and Ishikawa K.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **115**, 155-160 (1997)

漂着レジンペレットの研究

神沼二眞[#]・大竹千代子[#]・燕山典子[#]

Distribution and Origin of Plastic Resin Pellets as Environmental Pollutants at the East China Sea Area

Tsuguchika Kaminuma[#], Chiyoko Ohtake[#], Noriko Kabuyama[#]

Plastic debris are important marine pollutants. Plastic debris consist of resin pellets and waste plastics. We are particularly interested in resin pellets. We made field survey of resin pellets at nearly 400 sites in 200 beaches in Japan and neighboring countries. The pellets were found at all most all Japan coasts we surveyed and at some beaches of Macao, Hong Kong, Xiamen, the north of Taipei, and Cheju Island in Korea. The number of pellets was more than 1000 pieces per m² on the most abundant beach in Japan. Through further analysis using GC/ECD, endocrine disrupting chemicals, PCBs, DDTs, HCHs and Nonylphenol were detected in selected samples. Biota such as Bryozoa were observed on the surface of pellets washed up on the beaches in subtropical areas. Pellets has been suspected to affect wildlife and human health, but we have no report on affection to human.

Keywords: resin pellets, marine pollution, PCB, DDT

1. はじめに

海岸の砂浜や海洋、河川や岸辺にプラスチックの中間材料であるレジンペレットが漂着したり、浮遊したりしていることは、1970年代から世界的に観察されるようになった^{1), 2), 3)}。われわれはこうしたPlastic Debrisと呼ばれるレジンペレットやプラスチック片には内分泌攪乱物質が含まれていたり、あるいは汚染物が表面に吸着している可能性があると考え、特に海岸漂着レジンペレットの分布状況と汚染物質の有無、野生生物への影響について調査することにした。

2. 方法

この研究には、分析化学、野生生物、海洋学、海洋漁業資材や廃棄物などの分野を異にする専門家や、ビーチクリーンアップやビーチコーミングのボランティア団体、その他多数の多様な人々が参加し、情報の収集や調査の参加依頼にはインターネットが利用された^{4), 5)}。

漂着レジンペレット調査は1997年から2000年にかけて行った。

漂着レジンペレット調査の組織としては、われわれ自身が直接現地を調査するだけでなく、研究班の共同研究者や、海岸クリーンアップを目的とする民間組織（クリーンアップ全国事務局）に組織的な調査を依頼し、また我々が開設したインターネットホームページ⁴⁾を利用して試料や情報の提供を呼びかけることも試みた。また、インターネットは、調査の呼びかけや地図の掲載だけでなく、環境中のレジンペレットやプラスチック片の問題の解説、調査や研究成果の公開、研究組織など、この問題全体に関わる総合的なホームページとなるようにデザインした。

情報の集約は、レジンペレットの漂着の地理的分布を明らかにするために、収集した試料や観察データをもとにコンピュータによる地図作成システムを独自に開発した^{6), 7)}。このシステムは国土地理院などから出されているデジタル地図データと、市販の地図情報システム、ArcView III, を組み合わせたものである。さらに作成されたデジタル地図をインターネットで配信するシステムを開発した。

2.1 分布状況の把握の方法

採集に際しては、ペレットの分布状況の把握のために、調査する砂浜では、砂浜全体を観察し、最も多いと思われる場所を探し、1m²当たりの数を計測した。また、片手の手のひらを広げた範囲（およそ10cm×10cm）の範囲のペレットを計測し、1m²当たり換算する方法も採用した。1m²当たり150個を超える場合、あるいは手のひらサイズ

[#] To whom correspondence should be addressed:

Tsuguchika Kaminuma, Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo, 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext452; Fax: 03-3700-7592; E-mail: kaminuma@nihs.go.jp

で、2, 3個以上の場合は集積地点と判断した。さらに1m²当たり500個以上の場合や手のひらサイズ4, 5個以上の場合は高集積地点と判定した。また、これ以上の場合を異常高集積地点とよぶことにした。

2.2 試料の採集方法

漂着ペレットの採集方法は、手またはピンセットで採集し、ポリプロピレンの袋に収納し、常温で保存した。特に分析する試料については、慎重に取り扱った。

2.3 分類方法

肉眼によって（あるいは虫眼鏡を利用して）、形状、色、透明感、硬さ、素材などの製造時の属性、および新しさ、劣化の度合い、汚れ、生物の付着などの製造時以降の属性に分類した。素材の分類は目視による判別を行い、部分的に機器で確認したり、顕微鏡による観察も行った。

2.4 素材の判別方法

・赤外吸光分析 (IR)

ペレットの一部を削ってダイヤモンドセルを用いる顕微フーリエ変換IR (FT-IR)、ペレットをフィルム状にしセルに固定して行う顕微FT-IR、さらに、ペレット表面を熱で溶融するプローブ熱分解FT-IR、およびKBrセルを使用するIRを用いて分析した^{8) 9)}。吸収スペクトルからプラスチックの素材を判定する。

・近赤外分光分析法 (プラスキャン, オプト技研社)

プラスキャンがIRと異なる点は、照射に近赤外線を利用することであり、携帯できるアタッチメントを一粒のペレットに近づけ、光を当てるのみで簡単に判別可能であり、非破壊分析でもある^{10) 11)}。この測定器は近赤外線を照射した時の吸収スペクトル強度と波長のデータから多次元空間を作り出し、蓄積している辞書に照らし、測定対象となるプラスチックの組成名を表示する。

採集ペレットと鳥の胃袋の中のペレットをこの方法で分析した。鳥の胃袋の中のペレットは、日本獣医畜産大学の羽山伸一氏に提供していただいた。1995年に羽田沖で採集された鳥類の胃袋から抽出されたプラスチック類と共に、ペレットが試験管の中に、水中で保存されていたものである¹²⁾。

2.5 抽出成分の分析方法

分析試料は、1997～2000年の間に採集した中から、中国、台湾、韓国を含む20箇所から採集したペレットを分析用とした。

採集ペレットからポリプロピレン製ペレットを選択し、抽出成分の分析を行った。1採集地点で十分な数に達しない場合は、近くの複数採集地点から選んだサンプルをあわせて試料とした。

これらの試料から、*n*-ヘキサンによるソックスレー抽出後、抽出液をGC/ECD（電子捕獲検出器/ガスクロマトグラフィ）によって分析した。分析法は高田が開発した方法によった¹³⁾。分析項目は、HCHs (α -, β -, γ -, δ -), DDTs (DDT, DDD, DDE) およびPCBs (同族体を含む) である。分析は日本冷凍食品検査協会(財)に依頼した。

2.6 表面分析方法

二次イオン質量分析法 (Secondary Ion Mass Spectrometry, SIMS) は、一次イオンとしてGaイオンビーム (照射量 $1 \times 10^{12}/\text{m}^2$ で照射) を試料表面に照射して、そこから放出される二次イオンの量を質量分析器で分析する方法である¹³⁾。分析はアルバックファイ(株)に依頼した。

3. 結果および考察

3.1 分布状況の把握

3.1.1 海岸における漂着状況

海岸は湘南海岸のように平地の数キロにおよぶ長い砂浜から、1キロメートル未満の岩礁と岩礁の間に点在するポケットビーチ、入り江、岩礁など様々であり、漂着レジンペレットの分布も様々である。

まず、発見が容易な海岸は、細かい砂でできた砂浜であり、かつ、波打ち際ではなく、満潮線 (最高潮線) より陸側に位置するところが多い。さらに、海水によって砂浜に運ばれて残った後、風でさらに上方に運ばれ、草等に引っかかるなどのため、草地にもよく見られる。このように、漂着するレジンペレットは、比重が海水 (1.03) より軽いことを裏付けている。

次のポイントは、他の漂着ゴミ、海藻や木屑、枯れ草や陸上由来の軽い人工ゴミ (プラスチック片やペットボトル、ストロー、たばこの吸い殻など) と一緒に見つかることが多いことである。海藻の中に成長の過程で取り込まれていることもある。大量の海面の浮遊ゴミに交じっている場合は、岩場や人工的な護岸 (消波ブロック) の間に見つかることもある。岩礁や砂利、石ころ、粗い砂で出来た浜辺では残留しにくい。

3.1.2 広域的な漂着状況

今回の研究では、直接、間接に、調査地点は国内国外を含め、211海岸、のべ433地点 (繰り返し調査も含む) に及んだ (Table1) (Fig.1)⁴⁾。ここから得られる第一の結論は、日本列島すべての海岸で漂着ペレットが見つかるということである。注意すべきことは「レジンペレットが見つかった」という報告は正しいが、「レジンペレットが無かった」という報告は正確さに欠ける。

正しくは「見つからなかった」、あるいは「見つけれなかった」というべきで、存在している可能性は否定できないのである。繰り返し調査を行った、三宅島の三池浜で

Table1 Number of Beaches and Sites Surveyed

Number	Pacific Side	JapanSea Side	Islands in Tokyo	Nansei Islands	Other Countries	Total
Beaches	49	58	4	52	48	211
Sites(include repetition)	70	132	109	74	48	433

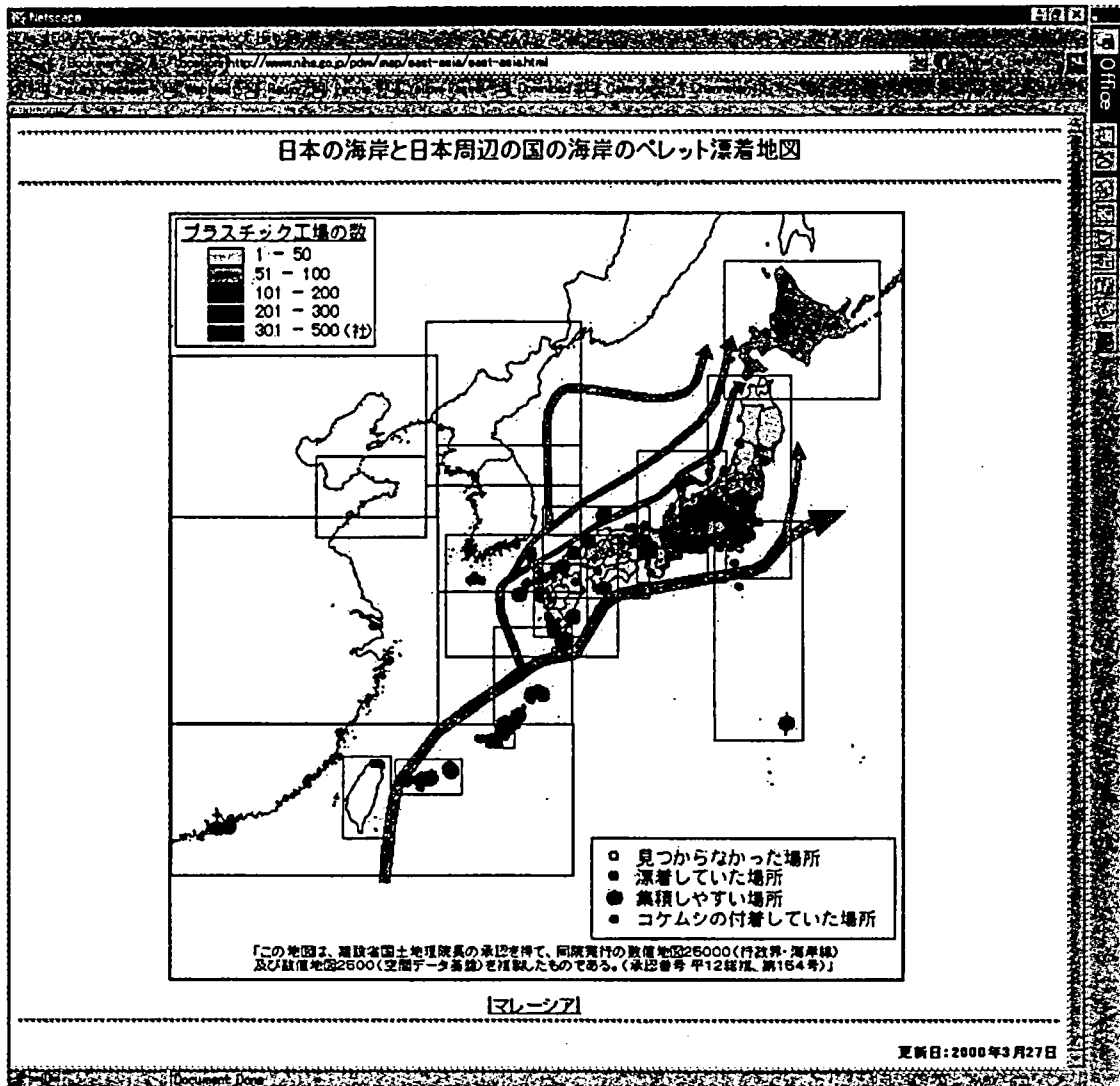


Fig. 1 Distribution map of pellets washed up on the beaches of Japan and neighboring countries
Pellets were found on most beaches in Japan and neighboring countries.
The number of pellets was more than 1000 per m^2 on the highest beach with the concentration of pellets in Japan. Only a few beaches have no pellets.

● : Abundant, ◦ : Found, ○ : Not found

は2回とも「見つからなかった」と報告があるので、存在するとしても、きわめて数が少ないと考えられる。同様に、太平洋側に5箇所見つかっていない場所があり、福岡市和白干潟では1997, 1999年とも1個/ m^2 程度しか見つかっていない(プラスチック片は多数見つかると報告がある)。日本海側の小樽市銭函海岸で1997年秋には20個/ m^2 ほどあったが1998, 1999年には見つかっていない。

漂着状況は時間とともに変化するため、継続した調査が必要となるが、これまでの結果から、日本列島のほとんどの海岸で漂着レジンペレットが観察される可能性があるといえるであろう。

その中には、レジンペレットを扱う工場や輸送拠点の港や、運搬経路の道路から遠く隔たっている場所も含まれている。このことは漂着前の漂流が長距離におよぶこともあ

ることを示唆している。

韓国、中国大陸、台湾については多少事情が異なる。まず、我々が調査した限りでは、韓国の砂浜は少なく、この地域でレジンペレットはあまり漂着していなかった。中国に関して、上海周辺で通常の海水浴は行われておらず、3箇所の海水浴場と呼ばれるところも砂浜ではなく、泥質であった。また、著名な海水浴場として知られる青島には、長い砂浜があるが、レジンペレットはほとんど見つからなかった。砂浜のないところではペレットが確認しにくい、他のゴミが漂着しているため、ペレットが漂流していれば泥質上にも存在していてもよい。つまり、中国の上海以北では、ペレットの漂着はあまりないと考えられる。福建省のアモイの周辺には石の産地があり、コロンス島やアモイ本島にも粗目の砂浜ではあるが、ここではペレットも見つかった。香港、マカオ海域および台湾の台北の北西および北海岸では、日本と同様に奥行きが深い砂浜があり、ペレットも多く見つかった。

香港、マカオの背景にある珠江デルタや深淵は中国の一大電子工業地域である。台北もプラスチックを扱う工場が多く、それが淡水海岸を経て海に出るか、あるいはさらに工業の盛んな台中辺りで放出されたペレットが、海流に乗って台北海岸に到達する可能性も大きい。

3.1.3 異常集積および高集積地点

慣れた研究者が多いと判断した場合、あるいは2.方法で述べたように、集積、高集積(異常集積含む)に分類した結果はFig.1に示した。れわれが直接観察した限りでは、沖縄本島本部半島崎山、奄美大島大浜海岸、種子島熊野海岸、神奈川県藤沢湘南鶴沼海岸、横浜市野島公園前浜、東京都荒川河口の葛西臨海公園、品川区お台場海浜公園などは異常集積地点である。前出の沖縄本島本部半島の古宇利島付近では、現地の人々の報告によれば、幅数十メートルで、100メートル以上の長さで帯状にペレットが流れていたという。屋久島の湾では大量に浮遊していた、あるいは、島根県の塩田海岸でも多量に見られた、という報告がある。長崎県ではペレットの25kgの袋が流れ着き、ポリプロピレンという英文字とともに、ハングル語による標記があったという。これらを総合すると、海上輸送の途中で、何らかの原因で荷ごと流出したことが考えられる。

3.1.4 その他の集積地点

その他の集積地点として観察されたのは、太平洋側では東京都江戸川区葛西臨海公園、品川区お台場海浜公園、神奈川県湘南鶴沼海岸、同県横浜市野島公園前浜、同県江ノ島東浜、同県材木座海岸、名古屋市城下海岸、同市藤前千潟、兵庫県須磨海岸であった。日本海側では、島根県江津市塩田海岸(1997は200個/m²以上、1998は20個に減少、取り尽くしたため減少と報告)、山口県阿武町清が浜海水浴場、同県が浜、下関市汐入浜、同市武久浜であった。南西諸島は、奄美大島大浜海浜公園、同土盛海岸、鹿児島県

種子島西之表市浜脇浜、同美浜海岸、同能野浜、同蒲田海水浴場、同熊野浦、沖縄県沖之永良部島湾、および沖泊海岸、喜界島、与論島、伊平屋島であり、沖縄本島では、本部町瀬底および備瀬、新里、今泊、また宮古島、石垣島、西表島、与那国島にも集積していた。

また、東京都小笠原父島扇浦も非常に多数集積していると報告がある。

海外の調査で、集積していたのは、マカオ・ハクサビーチ、香港ラマ島、同ランタオ島である。マレーシアにも集積していることが報告されている。

3.1.5 レジンペレットの流出経路について

モノマーからポリマーへと大手メーカーで合成されたペレットは、100kgコンテナ、あるいは25kgの紙容器に梱包され、輸送される。顧客の要望に応じ、次の工場では、様々な添加剤が投入される。酸化防止剤、紫外線吸収剤、安定剤、帯電防止剤、滑剤、抗菌剤、可塑剤などである。その際、ペレットは溶かされ、添加剤が投入され、また、ペレットの形状に成形される。さらにそれが次のメーカーに販売され、そこで、着色のために染料や顔料、さらに添加剤が追加される。その際も、ペレットは溶かされ、種々の物質が添加され、また、ペレット状にされる。最後に製品になる過程で、ペレットは溶かされ、成形され、ペレットの形状が失われる。

この一連の過程で、工場の中では、入荷、機械への投入、製造工程、さらに、梱包、輸送の過程で、ペレットは床、機械の隅、あるいは、敷地内、一般道路にこぼれる。大手メーカーでは概して、それらのペレットは清掃後、廃棄される。中小メーカーでは、床掃除の際に、水で流し、下水に投入されることがある。

海岸に漂着しているレジンペレットは、このようにして流出してきた、原材料であって、廃棄されたプラスチック類が摩耗してペレット状になったのではない。

流出経路をまとめた結果、次のようなことが明らかになった。

- ① 工場、貯蔵所等から、非意図的に漏出し、河川、運河等を経由し海岸に至る；この場合は、工場地帯の点在する、関東、関西地域に漂着する割合が高いが、全国的にも観察される。
- ② 港から直接海に流出、あるいは道路などに散乱し河川等を経由し、海岸に至る；この場合は名古屋港に代表され、神戸港などの近くの海岸で観察される。
- ③ 日本近海を航行する船舶から、意図的あるいは非意図的に投棄あるいは流出し海岸に至る；この場合は、工場が近辺に少ないかあるいは存在しない海岸、日本海沿岸、離島、南西諸島、ハワイなどで観察される。
- ④ 海外の工場等、国内と同様の過程で外洋に漂流し、日本の海岸に至る；該当地域は、この場合は確認出来ていない。南西諸島、離島でありうる。

今回の流出、消失に関する調査結果は米国環境保護庁の1990～1992年における調査³⁾と基本的に一致している。

また、漂着に関しては、海流についても考慮が必要である。高集積点の鶴沼海岸は、相模湾の中にあり、海流が循環していることが分かっている¹⁵⁾。

3.2 素材の判別と分類

3.2.1 素材の分析・判別

a) 漂着ベレット

種々の分析機器によって素材を分析した結果、海岸漂着ベレットの大部分は、プラスチックのポリエチレン(PE)、ポリプロピレン(PP)、エチレン酢酸ビニルアセテート(EVA)であった。これらは比重が海水より小さなものが大部分で、漂流後漂着する。数は少ないが、ポリスチレン、エラストマーも採集されている。

b) 野生生物体内のベレット

鳥の胃袋から採集したベレットも大部分はPEおよびPPであるが、比重が海水より重いものもあり、水鳥が水底に沈んでいるベレットを食べたり、陸鳥が工場周辺にこぼれたベレットをついばむこともありうる事がわかる。ナイロン、ポリウレタン、アクリル、アクリロニトリルブタジエン・スチレンコポリマー(ABS)、アクリロニトリル・スチレンコポリマー(AS)、ポリスチレンが見つかった。数は、19個のポリエチレンベレットを摂取していたカワラバトや、ナイロンばかり10個貯えていたカルガモなどがあつた。これまでも多数のプラスチックを飲み込んでいる鳥類の報告があつた^{2) 12)}。

魚類についての摂取の報告があつたため³⁾、東京湾のカレイ7匹、多摩川のコイ10匹について調査した結果、ベレットは見出せなかつた。また、鳥類が海水より重い比重のベレット摂取している事実から、東京湾の底質土10箇所を採集し、調査したが、ベレットは見出されなかつた。

3.2.2 分類による特徴

目視により色、形、大きさ(直径)、に分類し、その数と割合を算出した。その後、一部をIRで素材の確認した。全国の調査結果から以下のことが明らかになった。

- ① 採集ベレットは9割以上がPEとPPであつた。その割合が地域によって特徴的なところがある。1997年の9-10月の調査では、日本海側の島根県江津市塩田海岸での採集試料は、全体の90%が同一形態のPPであり、鳥取砂丘で約60%、小松市安宅の関で約70%であつた。太平洋側は全体としては概ねPEが多く、それは生産割合に合致している。
- ② 地域によって、(採集時期によって)、同一汚染源と思われるような、見た目形態の同じベレットが高い割合で漂着する場合がある。これは、情報収集の結果、一つの理由として、航行する船舶から放出した可能性が高い。

・奄美大島大浜海岸：1999年3月、PEの同一形態のベレットが9割以上を占めていた。

・日本海、島根、鳥取、兵庫(①で述べた)：1997年9-10月にかけての調査で、非常によく似た形態の漂着ベレットは、PPが全体の90-50%を占めていた。

- ③ カラーベレットは全く無いところと、全数の15-30%に達するところがある。カラーベレットが集積するのは、最終製品に加工する工場と関連している地域であり、大消費地が近くにある海岸に多い傾向があつた。東京湾内葛西臨海公園、鶴沼海岸、藤前干潟、神戸須磨海岸およびマカオ・香港であつた。
- ④ 劣化のベレット：劣化(ひび割れ、表面のざらつき、白化する現象、摩耗)の数の割合、および劣化の程度が高いのは、島嶼、南西諸島、ハワイであつた。特にハワイのベレットは摩耗が激しく平均的に直径が小さい。劣化の数量化は難しいが、IRスペクトルによって、1700cm⁻¹ 辺りでC=O吸収が現われ、劣化の度合いに沿って吸収が大きくなる傾向にあつた⁸⁾。
- ⑤ コケムシのベレット：数量、割合の確認は難しいが、南西諸島のベレットは、数の割合、1ベレット上の被覆面積の割合が大きいことが肉眼でも観察された。八丈島底土海岸、小笠原父島扇浦のベレットにも多く見られた。千葉九十九里海岸、佐渡素浜で採集されたベレットの中にも希に見られた。

3.2.3 抽出成分の分析

ベレットのn-ヘキサン抽出成分の分析結果では、PCBに関して20同族異性体の合計を求めたところ、どの地域のベレットからもPCBsが検出された。最高濃度は鶴沼海岸のベレットが20.04ng/gで、ついで香港ラマ島、大捕海浜公園、対馬阿連、アモイ市、台北市淡水、斉州島、与那国の順に高かつた(Table2, Fig.2)。鶴沼海岸の高濃度の理由は不明である。

DDTsの合計は、アモイ市のベレットが124.48ng/gと高く、次は香港ラマ島、マカオ市、香港ランタオ島、喜界島、福江島であつた(Table2, Fig.3)。小笠原父島のベレットは検出限界値以下であり、地域による差が大きかつた。

HCHsの合計では、斉州島のベレットが0.52ng/gで最も高く、鶴沼海岸、アモイ市、対馬阿連の順に高い(Table2)。DDTsに比べ、斉州島以外は全体として濃度が低い。

3.2.3.2 分析結果の考察

PCB製品の中には、様々な塩素化率の同族体が含まれており、たとえばIUPACナンバー#28,31, #118あるいは#180の含有量は製品の特徴を示している。ベレットの採集地点によるパターンの違いの一つはこれらの製品によると思われる。放出源はトランス、コンデンサー、PCB廃棄物、排水汚泥、漏れなどが考えられる。もう一つは放出後の環境条件で影響を受けて変質することがあげられる。海水中

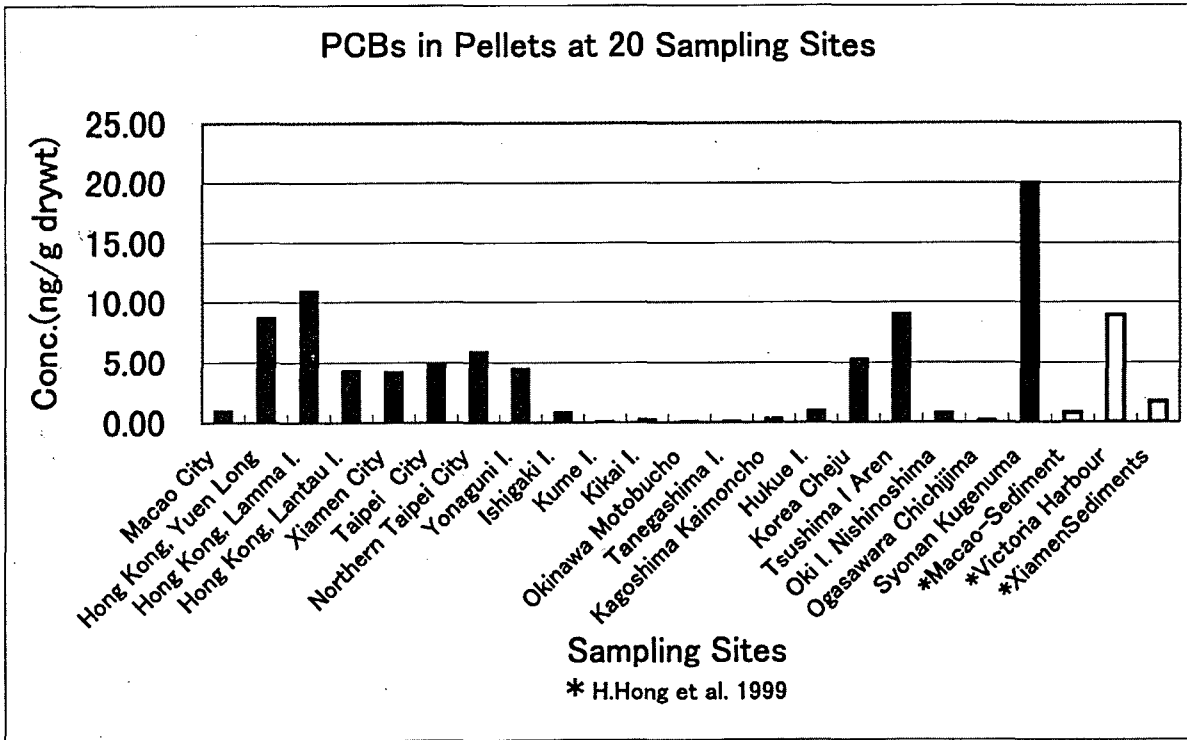


Fig. 2. PCBs Concentration in pellets washed up on the selected beaches
 The highest PCBs concentration were found in the Kugenuma pellets. We don't know why it is highest.
 * data from reference 16).

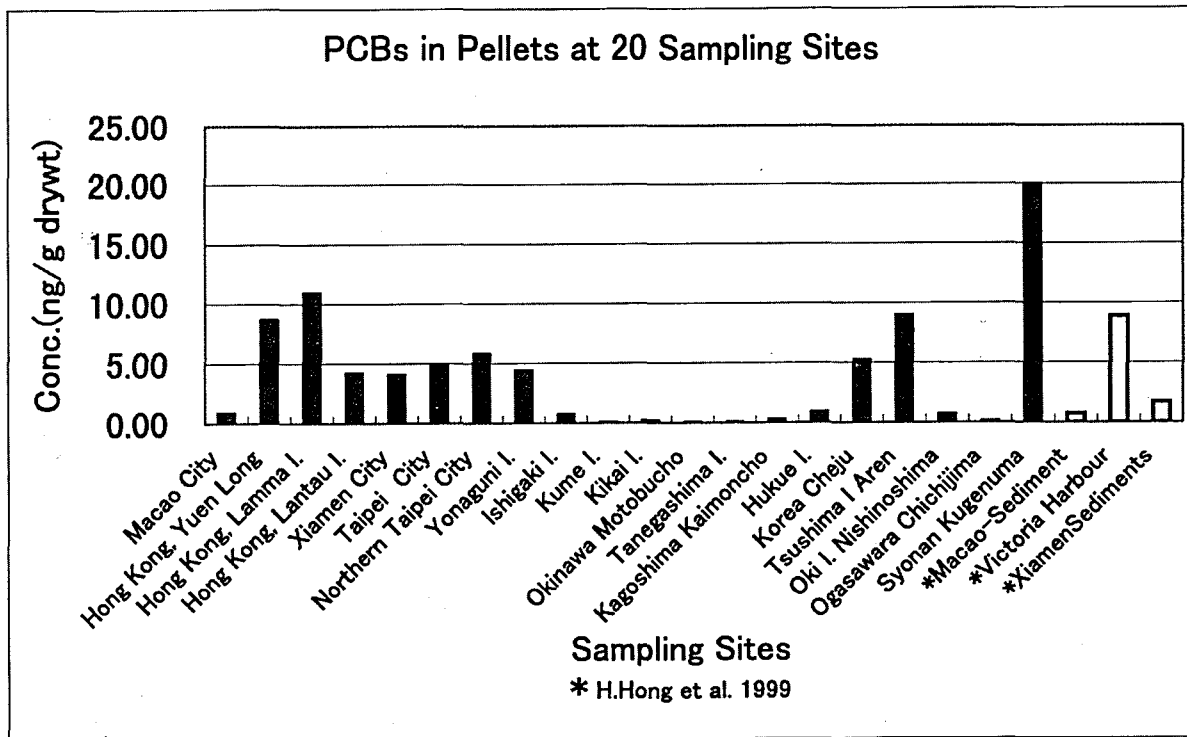


Fig. 3. DDTs Concentration in pellets washed up on the selected beaches
 The highest concentration is the pellets on Xiamen beaches and after that the Hongkong beach. Some DDT might be released in this sea area from the near by land, which can be confirmed by Hong's data.
 * data from reference 16).

濃度の比較データがないため、厳密な起源を推定することは困難であるが、著しく異なったパターンから、異なる起源および経過を辿っていることが考えられる。

DDTs濃度から考えるとアモイ市周辺ではDDTの放出が推測される。中国からの輸入農作物から検出されることもあり、また、アモイ西湾およびマカオ沖の底質からも高濃度のDDTsが検出されており¹⁶⁾、水中でペレットへの高濃度の吸着が考えられる。DDTの代謝物、DDEおよびDDDについては、やはり地域により特徴がある。アモイ市のペレットはDDTsに占めるDDEの割合が20%と高く、水中微生物によって代謝生成し、水中でペレットに吸着したと考えられる。喜界島、福江島、マカオ、種子島ではDDDの割合がDDEより高く、土壌微生物による分解、つまり、DDTは土壌中で代謝生成され、ペレットに吸着されたと考えられる。報告によると種子島での採集ペレットは、砂の中から掘り出したペレットを多く含んでいたようである。

HCHの4種類の異性体の特徴として、斉州島のペレットはγ-HCHが75%を占め、鶴沼海岸の場合はα-HCHが44%を占めていた。斉州島のペレットには殺虫剤成分γ-HCHが漂流中にペレットに高濃度に吸着したと考えられる。γのみ検出限界以上となった鹿児島や70%弱の石垣島もこの傾向にと考えられる。鶴沼海岸、アモイでは、α-HCHが漂着後に大気から供給されたと考えられる¹⁷⁾。

Hongら¹⁶⁾によれば、河川堆積中のHCH異性体の割合は、場所によってかなり幅があるが、α:β:γ:δは10-30:10-30:10-30:20-50で、水溶解性の高いδがや

や大きい割合である。これが海水中の懸濁物になるとさらにδの占める割合は~70%ぐらいにまで大きくなる。ペレットに吸着されたHCH類は砂浜で乾燥させられるため、δは揮発しやすく総じて減少すると考えられる。したがってδが比較的大きな数値の出たペレットは、繰り返し波に洗われていたか、直前まで海水中にあった可能性がある。

3.2.4 表面分析

いくつかの海岸で採集したペレットと比較のため、工場製品のSIMS分析を行った。青島のペレットを分析した際、まず、ペレットがPEであることを確認し、工場製品に非常によく似たスペクトルであることがわかった (Fig.4-1)。青島のペレットは、228, 256, 282, 322, 338のピークを明らかに持っている。228,256,282のピークの特徴物質は、oleamideであり、322, 338のピークはerucamideであった。さらにBr...79, 81が見られる。523, 551にもピークを持つ。これ以上大きな分子量の物質は出ていない。

工場製品のスペクトルは、いわゆる単品のポリエチレンの標準スペクトルに、少し分子量の大きなものが加わっているスタイルである。そこで工場製品を半分に削り、内部(汚染されていない部分)を分析した結果、単品のポリエチレン標準スペクトルに近かった。このことから、工場製品として出荷される際には既に、先に述べたような物質で汚染されていることが推定できる (Fig.4-1)。

また、SIMSによる分析は、地域による吸着化学物質の種類、濃度の違い、コケムシ付着の程度などさまざまな情報が得られることがわかった。Fig.4-2に鶴沼海岸に漂着し

Table 2 Concentration of PCBs, DDTs and HCHs in Pellets Washed up on the Beaches

PCB(ng/g drywt)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩	⑪	⑫	⑬	⑭	⑮	⑯	⑰	⑱	⑳	
IUPAC No.	Macao City	Hong Kong, Yuen Long	Hong Kong, Lamma I.	Hong Kong, Lantau I.	Xiamen City	Taipei City	Northan Taipei City	Yonaguri I.	Ishigaki I.	Kume I.	Kikai I.	Okinawa Motobucho	Tanegashima I.	Kagoshima Kaimoncho	Hukue I.	Korea Cheju	Tsushima I. Aren	Oki I. Nishinoshima	Ogasawara Chichijima	Syonan Kugenuma
#28, #31	0.02	-	0.36	0.13	0.03	0.90	2.36	0.08	0.14	0.02	-	0.02	-	-	0.05	0.54	2.72	0.05	0.08	0.65
#52	0.06	0.21	0.39	0.08	-	0.38	0.70	0.17	0.12	-	-	-	-	0.07	0.15	0.48	0.90	0.11	0.02	0.98
#37, #44	-	-	0.17	-	0.03	0.14	0.62	-	0.08	-	-	0.01	-	0.08	0.11	-	1.03	0.04	-	0.78
#70	0.04	0.44	0.51	0.58	0.01	0.80	0.48	0.09	0.09	-	-	0.01	0.02	0.02	-	0.49	1.44	0.13	-	0.51
#68	-	-	-	-	-	0.29	0.09	-	0.07	-	-	-	-	0.12	-	0.32	0.12	-	-	0.16
#91, #95	0.24	1.44	0.95	0.51	0.40	0.21	-	0.06	-	0.06	-	0.02	-	-	0.02	0.46	0.36	-	0.02	1.00
#101	0.12	0.27	0.96	0.05	0.21	0.25	0.13	0.11	0.05	-	0.03	-	0.02	-	0.17	0.55	0.61	0.12	0.02	1.09
#110, #77	0.08	0.98	1.02	0.18	0.29	0.11	0.31	0.25	0.06	-	-	-	0.05	-	0.15	0.34	0.48	0.16	-	2.00
#118, #144, #149	0.30	2.27	2.25	0.81	0.70	0.56	0.39	0.75	-	-	-	-	-	-	0.27	0.65	0.31	0.12	-	2.97
#153	-	1.24	1.22	0.48	0.84	0.84	0.13	1.07	0.08	-	0.05	-	-	-	-	0.57	0.46	-	-	4.28
#138	-	1.70	1.62	0.77	0.91	0.33	0.55	0.87	-	-	0.08	-	-	-	-	0.66	0.37	-	-	-
#129, #126	0.07	0.20	0.22	0.31	0.13	0.10	0.01	0.27	0.01	-	0.02	-	-	-	-	0.01	0.01	-	0.01	4.75
#180	-	-	0.80	0.21	0.39	0.30	0.06	0.47	0.08	-	0.04	-	-	0.01	-	0.10	0.14	-	-	0.89
#170	-	-	0.27	0.06	0.15	0.10	-	0.17	-	-	-	-	-	-	-	0.05	0.08	-	-	-
#198	-	-	0.06	0.07	-	0.02	-	0.07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
#195	-	-	0.13	-	-	0.01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.02	-	-	-	-
#194	-	-	0.05	-	0.02	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
#206	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
計	0.91	8.75	10.99	4.24	4.11	4.96	5.83	4.43	0.76	0.08	0.22	0.06	0.09	0.30	0.92	5.24	9.01	0.73	0.15	20.04
DDTs(ng/g drywt)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩	⑪	⑫	⑬	⑭	⑮	⑯	⑰	⑱	⑳	
OP'-DDE	0.13	0.12	0.01	-	1.45	-	-	0.01	-	-	-	-	0.05	-	0.08	-	-	0.01	-	-
PP'-DDE	0.35	0.59	0.67	0.11	25.17	0.03	0.01	-	-	-	0.10	-	0.10	-	0.33	0.11	0.02	0.02	-	0.19
OP'-DDD	0.41	-	1.24	0.19	3.09	-	0.04	-	0.08	-	0.46	-	0.20	0.17	0.46	0.02	-	0.04	-	0.27
PP'-DDD	1.15	0.09	8.87	0.65	11.16	-	0.08	0.05	0.09	-	0.40	-	0.20	-	0.41	0.14	0.05	0.12	-	-
OP'-DDT	1.04	0.73	4.35	1.13	21.10	-	0.28	-	-	-	0.98	-	0.50	-	0.67	-	0.03	0.24	-	0.90
PP'-DDT	3.82	-	17.80	4.56	62.51	0.45	1.03	0.07	0.23	0.13	2.37	0.09	1.50	0.70	1.39	0.74	0.19	0.67	-	0.98
合計	6.90	1.5	33.04	6.64	124.48	0.48	1.44	0.13	0.38	0.13	4.31	0.14	2.50	0.87	3.34	1.01	0.29	1.10	0.10	2.34
HCHs(ng/g drywt)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩	⑪	⑫	⑬	⑭	⑮	⑯	⑰	⑱	⑳	
α-HCH	-	-	-	-	0.11	-	-	0.01	-	-	-	-	0.03	-	-	-	-	0.03	-	-
β-HCH	-	-	0.03	0.01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01	-	0.03	-	-
γ-HCH	-	-	-	-	-	-	0.01	-	0.02	-	-	-	-	0.03	-	0.39	0.01	-	-	0.15
δ-HCH	0.03	-	-	-	0.02	0.03	-	0.01	-	-	-	-	-	-	-	0.12	0.03	-	-	0.04
合計	0.03	-	0.03	0.01	0.13	0.03	0.01	0.01	0.03	0.00	0.00	0.03	0.00	0.03	0.00	0.52	0.07	0.03	0.00	0.34

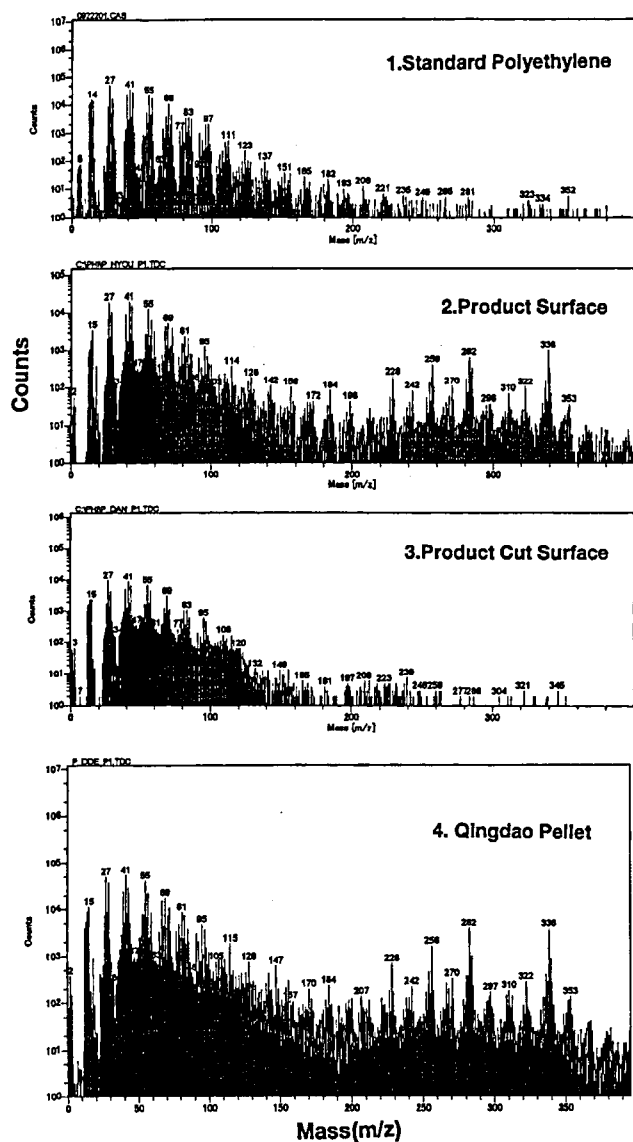
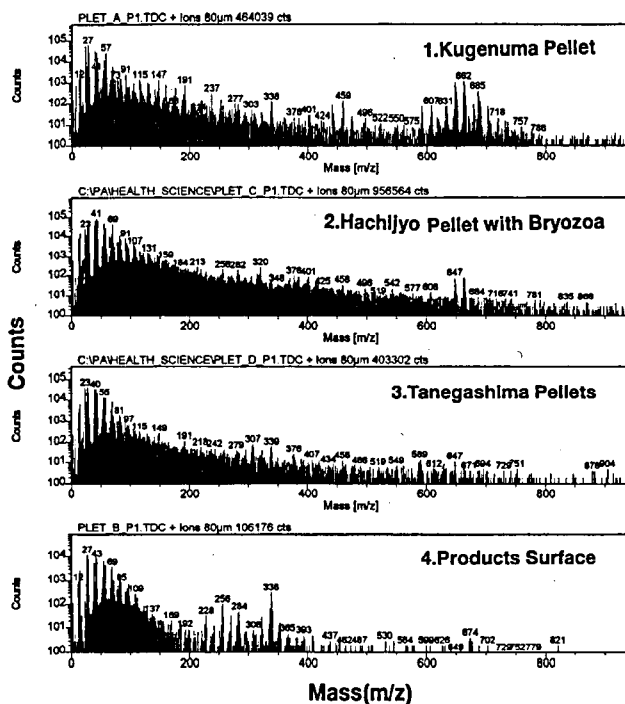


Fig. 4-1. Spectrographs of new pallets and pallets in Qingdao by using SIMS

たペレット（上段）、八丈島のコケムシ付着ペレット（中段上）、種子島漂着ペレット（中段下）および工場の新品（下段）を示した。鶴沼のペレットには質量600～700にかけてピークが現われている。また、コケムシが付着したペレットはより多くの種類の物質を取り込んでいることが分かる。

3.3 野生生物とヒトの健康影響

渡り鳥や留鳥、あるいは水鳥や陸鳥は沢山のペレットを飲み込んでいることが明らかになった。これらについては吸着している物質や成分に含まれている物質の影響の可能性は考えられる。しかし、胃袋の中にペレットを持っており、脂肪中からPCBおよびDDEが分析された例でも、それらがペレットから来たものか、他の魚類等の体内に含有



れていく過程を知る事が可能である。溶媒抽出による分析は目的物質の分析には適しているが、POPsなど多くの汚染物質を吸着している可能性の高い試料には、全体を一度に分析できるSIMSが有効であろう。これまで特定物質のみを分析したが、全体としてどのような分子量の物質が吸着しているの概略が分かった。分子量の大きな汚染物質も特徴として捉えられた。また、カルシウムに注目すれば、コケムシのような生物の付着が容易に判断出来る。

4. 結果のまとめ

われわれの研究成果は次のようにまとめることができる。

- (1) 日本列島および韓国、中国大陸、台湾、ハワイ、インドネシア、マレーシアなど広い海域の沿岸の砂浜におけるレジンペレットの漂着状況を明らかにした。
- (2) レジンペレットの環境への漏出のメカニズムについてもある程度解明した。
- (3) レジンペレットに環境汚染物質が吸着することを明らかにし、その物質の種類についても分析した。
- (4) インターネットをベースに、全国規模の漂着レジンペレットの監視網を構築した。
- (5) この研究を通して、海洋汚染の研究者と化学物質の安全性に関わる研究者との交流が促進された。

われわれの研究はラジオ、テレビ、新聞、週刊誌でしばしば取り上げられた。このことにより、漂着レジンペレットに対する感心が高まり、学校における環境教育プログラムの試みも行われた。こうした問題への認識が広がったことで、海岸線を有する県や市などの自治体の関心も高まり、事業所からの漏出防止への動きも出ている。防止策については、流出防止マニュアルが1993年に作成されているが²⁰⁾、あまり利用されていない。2000年8月に「漂流・漂着ごみに関する関係省庁連絡会」が環境庁水質保全局企画課海洋環境・廃棄物対策室により発足した。

5. おわりに

わが国の海岸や河川および朝鮮半島、中国大陸、台湾などの海岸に漂着しているレジンペレットを調査し、その種類、分布状況、排出源、汚染物質の吸着や含有、野生生物やヒトへの健康影響について調査した。この結果、レジンペレットの海岸汚染は日本列島の全域、香港とマカオ、アモイ地域、台湾の北部の海岸で顕著なことで、排出源は工場や輸送等の積み荷であることが判明した。また、PCB、DDT、HCHなどの日本では既に使用されていない汚染物質がレジンペレットの表面に吸着されること、コケムシのような生物が付着し、増殖することが分かった。生物への

影響については鳥への影響が疑われるが、魚類など取り込みは可能性や頻度は低いと考えられ、今のところヒトへの影響は考えられないことが判明した。

しかし、他のゴミと共に海洋を漂流し、海岸に漂着し、長くとどまるので、流出防止を徹底することが必要である。また、近隣のアジア諸国ではこの問題をまだ認識していない。こうした問題の対処にはインターネットをベースとした国際的な監視のネットワークが有効である。

謝 辞

この研究は、平成9-11年度環境庁地球環境研究総合推進費「D-2東アジア海域における有害化学物質の動態解明に関する研究- (5) 東シナ海域における有害化学物質の分布と起源に関する研究」から始まったが、後に、厚生省生活衛生局生活化学安全対策室からの依頼研究として、対象領域を拡大して行われた。

また、東京水産大学の兼広春之氏、東京農工大学の高田秀重氏、旭化成工業(株)の伊藤尚史氏とは、共同研究者としてデータや情報の交換、研究手法の検討を行ってきた。

また、ペレットの採集に当たり、多くのボランティアの方々、クリーンアップ全国事務局の小島あずさ氏、クリーンアップ関西事務局の小林功敬氏らの協力を得た。生物試料は、水産大学橋本伸哉氏、日本獣医畜産大学羽山伸一氏、前横浜市立大学井口泰泉氏に提供して頂いた。分析法では、当研究所の療品部の伊佐間和郎氏、食品添加物部の河村葉子氏にアドバイスをいただいた。分析に当たっては、(財)日本冷凍食品検査協会、ニコレ・ジャパン(株)、アルバックファイ(株)、オプト技研(株)、にご協力をいただいた。ここに感謝する。

文 献

- 1) Carpenter, E. J., and Smith, Jr. K. L.: Plastics on the Sargasso Sea Surface, *Science*, **175**, 1240-1241 (1972a).
- 2) Ogi, H., Momose, K., Sato, F. and Baba, N.: Plastic particles found in the Gizzard of a Starved Black-footed Albatross (*Diomedea nigripes*). *J. Yamashina Inst. Ornithol.*, **26**, 77-80 (1994).
- 3) U.S. Environmental Protection Agency, Plastic Pellets in the Aquatic Environment: Sources and Recommendations, Final Report, EPA842-B-92-010, (1992)
URL <http://earth1.epa.gov/docs/OWOW/OCPCD/PLASTIC/contents.html>
- 4) NIHS PD Watcher: <http://www.nihs.go.jp/pdw/>
- 5) 神沼二真, 大竹千代子, 伊藤尚史: 海洋汚染物質としてのプラスチック粒の監視網の構築について, 第11回環境情報科学論文集, 165-170 (1997)
- 6) 神沼二真, 大竹千代子: 地球規模の化学物質安全性情報ネットワーク, GINCにおける環境モニタリングデータの扱い, 第10回環境情報科学論文集, 85-90 (1996)
- 7) 大竹千代子, 蕪山典子, 神沼二真: 東アジアの水系に

- における環境汚染物質の表示システム, 環境トキシコロジーシンポジウム要旨集, 58 (1999)
- 8) 大竹千代子, 堀正典, 磯部友彦, 高田秀重, 小島あずさ, 栗山雄司, 兼広春之, 伊藤尚史, 神沼二眞: 漂着レジンペレットの分類と分析, 第7回環境化学討論会要旨集, 316-317 (1997)
 - 9) 大竹千代子, 高田秀重, 間藤ゆき枝, 堀正典, 兼広春之, 伊藤尚史, 神沼二眞: 漂着レジンペレットの分類と分析 第2報, 環境科学会要旨集, 2-3 (1998)
 - 10) 大竹千代子, 伊藤尚史, 高田秀重, 間藤ゆき枝, 兼広春之, 神沼二眞: 漂着レジンペレットの分類と分析 第3報, 環境科学会要旨集, 40-41 (1999)
 - 11) 大竹千代子, 高田秀重, 間藤ゆき枝, 兼広春之, 藤枝繁, 伊藤尚史, 神沼二眞: 漂着レジンペレットの分類と分析 第4報, 第9回環境化学討論会要旨集, 198-199 (2000)
 - 12) Toda, A., Aihara, K., Hayama, S., Nakagaki, K. and Nigi, H.: Ingestion of plastic particles of birds recovered at Tokyo International Airport and the adjacent areas, *Jap. J. Ornithol.*, **42** (3/4) 83-90(1990) (in Japanese)
 - 13) 間藤ゆき枝, 高田秀重, 大竹千代子, 神沼二眞, 兼広春之: プラスチック小粒 (レジンペレット) の汚染物質輸送媒体としての評価 1. 吸着特性および含有状況について, 第8回環境化学討論会要旨集, 46-57 (1999)
 - 14) 星孝弘: 表面分析技術 6. 二次イオン質量分析法 (SIMS), 日本印刷学会誌, 34(6), 29-39 (1997)
 - 15) Iwata, S., and Matsuyama, M.: Surface circulation in Sagami Bay: the response to variation of the Kuroshio Axis, *J. Oceanographic Society of Japan*, **45**, 310-320(in Japanese)
 - 16) H. Hong, W. Chen, L. Xu, X.Wang and L. Zhang, Distribution and Fate of Organochlorine Pollutants in the Pearl River Estuary, *Marine Pollution Bulletin* **39** (1-12), 376-382 (1999)
 - 17) 功刀正行, 原島省, 利安忠夫, 東アジア海域における有害化学物質の時空間変動機構する研究①, 環境庁地球環境研究「東アジア海域における有害化学物質の動態解明に関する研究報告書, 60-64 (1999)
 - 18) Ryan, P.G. Connel, A. D. and Gardtner, B. D.: Plastic ingestion and PCBs in seabirds: Is there a relationship?, *Marine Pollu. Bull.*, **19**, 174-176 (1988)
 - 19) Spear, L.B., Ainley, D.G. and Ribic, C.A.: Incidence of plastic in seabirds from the Tropical Pacific, 1984-91: Relation with distribution of species, sex, age, season, year and body weight, *Marine Enviro. Research*, **40** (2), 123-146 (1995)
 - 20) 通産省監修, プラスチック工業連盟: 樹脂ペレット漏出防止マニュアル (1993)

各種食品中エラグ酸分析の試料調製法の検討

天倉吉章[#], 岡田 舞, 辻 澄子, 外海泰秀

Studies on Procedure for Sample Preparation of Ellagic Acid in Several Kinds of Foodstuffs

Yoshiaki Amakura[#], Mai Okada, Sumiko Tsuji and Yasuhide Tonogai

A sample preparation for ellagic acid in several kinds of foodstuffs, which is included in the List of Existing Food Additives as natural antioxidants in Japan, functioning as an antioxidant, was studied. The solid samples were refluxed with methanol, and then the extract was refined using a solid-phase cartridge. The liquid samples were directly pretreated by solid-phase extraction. On the other hand, test solutions for cooking oils and fats were inapplicable to solid-phase extraction in this work, because the recovery tests from samples spiked with ellagic acid gave low recoveries. Consequently, they were prepared by modified frozen method using methanol or acetonitrile-2-propanol-ethanol (2:1:1). The recoveries from tested foodstuffs spiked with ellagic acid (50 $\mu\text{g/g}$) were 75.2-96.9%. The limits of quantification for ellagic acid were 0.05 $\mu\text{g/g}$ by the proposed method.

Keywords: ellagic acid, food analysis, frozen method, solid-phase extraction

はじめに

エラグ酸は、酸化防止剤として既存添加物名簿に収載され、その基原・製法・本質は、「フトモモ科ユーカリ (*Eucalyptus globulus* LABILL.) などの葉、ヒシ科ヒシ (*Trapa japonica* FLEROV.) の実、ウルシ科ヌルデ (*Rhus javanica* L.) に発生する五倍子、ミロバラン (*Terminalia chubla* RETZ.) の実などを脱脂後、水又はエタノールで抽出して得られたものである。成分はエラグ酸である」と記載されており¹⁾、その構造はFig.1に示すような平面構造を有する。エラグ酸はまた、食品の三次機能成分として、抗酸化、抗癌、抗変異原などの諸活性が報告されている^{2,4)}。我々は、後者に着目して、生鮮果実及び果実加工品を対象に、固相抽出を用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による定量法を確立し、その含有量調査を実施し報告した⁵⁾。

現在、エラグ酸については、食品添加物としての使用事例に関する報告はないが、チロシナーゼ阻害物質として美白効果を期待した化粧品への添加が報告されており⁶⁾、今後、食品添加物としても用途が増加する可能性も考えられる。従って、使用実績のない現在、加工食品中エラグ酸の含有量測定のための検討は、食品添加物としての使用が生

じた際の有用な資料となり、食品衛生上重要である。このような背景に基づき、本報では各種食品中のエラグ酸分析として、その試料溶液の調製法について検討を行ったので報告する。

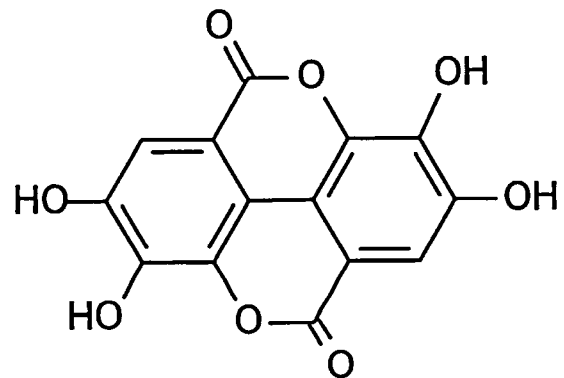


Fig. 1. Structure of ellagic acid

実験方法

1. 試料

試料は、平成11年に大阪市内で購入したパン、ナッツ類 (アーモンド、カシューナッツ、ピーナッツ、ピスタチオ、マカダミアナッツ)、ヨーグルト、飲料 (炭酸飲料、茶飲料、天然果汁飲料、乳飲料)、食用油 (オリーブ油、ゴマ油、サラダ油、ベニバナ油)、バター及びマーガリンを用いた。

[#] To whom correspondence should be addressed:

Yoshiaki Amakura; Hoenzaka 1-1-43, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-6941-1533; Fax: 06-6942-0716; E-mail: amakura@nihs.go.jp

2. 試薬及び試液

標準品：エラグ酸二水和物 (min, 99.0 %) [和光純薬工業 (株) 製] は生化学用を用いた。

標準原液：エラグ酸二水和物 56 mg を精ひょうし、エタノールを加え正確に 50 ml とした (エラグ酸として 1 mg/ml)。

標準溶液：標準原液をメタノールで適宜希釈した。

カートリッジカラム：Sep-Pak® Plus tC18 カートリッジ (充填量 900 mg, Waters 社製) をメタノール及び水各 10 ml でプレコンディショニングし使用した。

アセトニトリル、メタノールは HPLC 用を、その他の試薬はすべて試薬特級品を使用した。

3. HPLC 装置及び測定条件

(1) HPLC 装置

LC-10Advp (ポンプ), SPD-M10Avp (フォトダイオードアレイ検出器), SCL-10A (システムコントローラー), CLASS-VP (システム) [以上, (株) 島津製作所製]

(2) 測定条件

カラム：L-column™ ODS (内径 4.6 mm, 長さ 250 mm, 粒径 5 μm) [(財) 化学物質評価研究機構製], カラム温度：40℃, 流量：1.0 ml/min, 移動相：5 mmol/l リン酸二水素カリウム (pH 2.5) - アセトニトリル (41:9), 波長：360 nm, 注入量：10 μl

4. 試料溶液の調製

1) 固体及び流動性試料 (パン, ナッツ類, ヨーグルト)

試料 10 g を精ひょうし、メタノール 30 ml を加えて 3 分間ホモジナイズ後、1 時間還流抽出を行った。抽出液を冷後ろ過し、ろ液に 10 ml の水を加え、全量 10 ml になるまで減圧濃縮した。濃縮液に 0.1 mol/l 塩酸 200 μl を加えて、その溶液を Sep-Pak® Plus tC18 カートリッジに負荷し、水 10 ml で洗浄後、メタノール 10 ml で溶出した。溶出液を減圧乾固後、メタノール 5 ml に定容し、メンブランフィルターでろ過後、ろ液を試験溶液とした。

2) 液体試料 (飲料)

試料約 10 g を精ひょうし、0.1 mol/l 塩酸 200 μl を加え、その溶液を Sep-Pak® Plus tC18 カートリッジに負荷し、水 10 ml で洗浄後、メタノール 10 ml で溶出した。溶出液を減圧乾固後、メタノール 5 ml に定容し、メンブランフィルターでろ過後、ろ液を試験溶液とした。

3) 食用油

試料約 20 g を精ひょうし、分液漏斗に入れ、メタノール 50 ml を加えてシェーカー (KM-Shaker, イワキ製) で 5 分間振とう抽出後、-20~-5℃ の冷凍庫で 2 時間冷凍冷却する。上層を分取し、ろ過後、ろ液を減圧濃縮し、メタノール 10 ml に定容し、メンブランフィルターでろ過後、ろ液を試験溶液とした。

4) バター, マーガリン

試料を約 40℃ で加温融解し、その約 5 g を精ひょうし、無水硫酸ナトリウム 10 g 及びアセトニトリル・2-プロパノール・エタノール混液 (2:1:1) 50 ml を加え、3 分間ホモジナイズ後、5 分間超音波処理した。-20~-5℃ の冷凍庫で 2 時間冷凍冷却により脱脂操作を行い、ろ過後、ろ液を減圧濃縮し、メタノール 10 ml に定容し、メンブランフィルターでろ過後、ろ液を試験溶液とした。

5. 確認及び定量

エラグ酸の確認は、ピークの保持時間及びフォトダイオードアレイ検出器により、UV 吸収スペクトルを標準溶液のそれと直接比較することにより行った。定量は 360 nm におけるピーク面積を用いて絶対検量線法で行った。

結果及び考察

1. 抽出, 精製方法の検討

これまで、エラグ酸の前処理法として、有機溶媒による液-液分配法が報告されていた^{7,8)} が、前報⁵⁾ において、逆相系カートリッジカラムを用いた簡便、迅速なエラグ酸の精製法を提案し、果実及び果実加工品についてその適用を報告した。本法では同法を改良して、各種食品試料への適用性を検討した。まず固体及び流動性試料 (パン, ナッツ類, ヨーグルト) については、前報⁵⁾ を適用すること、すなわちメタノールで 3 分間ホモジナイズ後、1 時間還流抽出を行い、カートリッジ処理する方法で約 70~97% の良好な回収率が得られたことからそれに従った。液体試料 (飲料) は、試料を直接 Sep-Pak® Plus tC18 カートリッジに負荷し、水で洗浄後、メタノールで溶出する方法で約 80~90% の良好な回収率を得た。次に食用油について、固相抽出の適用を検討した。食用油 20g を分液漏斗に入れ、メタノール 50 ml を加え、5 分間シェーカーにより振とう抽出し、冷凍冷却により脱脂後、上層に水 10 ml を加え、全量を約 10 ml になるまで減圧濃縮した。これを Sep-Pak® Plus tC18 カートリッジに負荷し、水で洗浄後、メタノールで溶出した。その結果、回収率は約 50% で、抽出回数を増やしても、この回収率の向上は認められなかった。そこで各プロセスについて再検討を行った。その結果、カートリッジ処理前の段階で約 90% のエラグ酸が回収されており、従ってカートリッジ処理により回収率を低下させていることが判明した。これは平面構造を有するエラグ酸が油中の脂肪酸間へ取り込まれ、その状態でカートリッジへ吸着し、メタノールでは溶出されなかったことなどが一因として考えられる。これら結果を考慮し、カートリッジ処理を除いた方法、すなわちメタノール 50 ml で振とう抽出後、冷凍冷却により脱脂し、上層を濃縮する方法で約 85% 以上の回収率を得、またこれら操作のみで十分分析可能であることが判明したので、これを適用することにした。次に

Table 1. Recoveries and contents of ellagic acid in foodstuffs

Sample	Added ($\mu\text{g/g}$)	Found ($\mu\text{g/g}$)	Recovery (%, mean \pm S.D., n=3)
Bread	0	ND	
	50	45.3	90.5 \pm 0.6
Bread (and strawberry jam)	0	9.6	
Nuts			
Almond	0	2.8	
	50	51.3	96.9 \pm 5.0
Cashewnut	0	3.4	
	50	49.7	92.5 \pm 5.5
Macadamia nut	0	1.2	
	50	49.6	96.8 \pm 2.8
Peanut	0	3.2	
	50	41.5	76.6 \pm 5.3
Pistachio	0	2.1	
	50	47.7	91.2 \pm 5.6
Yogurt	0	ND	
	50	39.9	79.7 \pm 2.2
Yogurt (with strawberry)	0	5.0	
Drinks			
Apple juice	0	0.6	
	50	44.5	87.7 \pm 0.4
Dairy drink	0	ND	
	50	40.4	80.7 \pm 2.1
Grape juice	0	2.5	
	50	45.5	86.0 \pm 1.8
Green tea	0	ND	
	50	44.6	89.2 \pm 2.0
Pomegranate juice	0	14.3	
	50	59.6	90.5 \pm 0.4
Prune juice	0	ND	
	50	43.4	86.7 \pm 0.8
Soda drink	0	ND	
	50	44.4	88.7 \pm 2.3
Soft drink	0	ND	
	50	45.7	91.3 \pm 1.1
Cooking oils			
Salad oil	0	ND	
	50	44.0	88.0 \pm 2.1
Safflower oil	0	ND	
	50	42.8	85.6 \pm 2.8
Olive oil	0	ND	
	50	45.1	90.2 \pm 3.8
Sesame oil	0	ND	
	50	47.2	94.3 \pm 3.4
Butter	0	ND	
	50	38.2	76.3 \pm 4.2
Margarine	0	ND	
	50	37.6	75.2 \pm 5.2

ND: Not detected (<0.05 ng/g)

Table 1. Recoveries and contents of ellagic acid in foodstuffs

バター、マーガリンについて、食用油に準じて検討した。まず抽出溶媒については、食用油では抽出溶媒がメタノールで可能であったが、バターの場合では油分のメタノールへの移行が多く、後処理が困難であった。そこで「フェノール系酸化防止剤、指定外酸化防止剤」の試料調製法^{9, 10)}を参考に、アセトニトリル・2-プロパノール・エタノール混液 (2:1:1) での抽出、冷凍冷却による脱脂法を適用したところ、後処理も簡易で、さらに76%の回収率を得ることが出来た。またカートリッジの適用は、食用油と同様に回収率の低下が認められたこと、及びカートリッジ処理がなくても分析可能であったことから、アセトニトリル・2-プロパノール・エタノール混液 (2:1:1) 抽出後、冷凍冷却による脱脂法で行った。

2. 添加回収試験

エラグ酸の標準原液 (1 mg/ml) をパン、ナッツ類、ヨーグルト、飲料に500 μl 、食用油に1 ml、バターに250 μl 、それぞれ添加し (各50 $\mu\text{g/g}$ 試料)、本法に従い、添加回収試験を実施したところ、76.3~96.9%の回収率が得られた。結果をTable 1に示す。また本法における定量限界は、0.05 $\mu\text{g/g}$ であった。

3. 各種食品中のエラグ酸分析

本法を用いて、各種食品中のエラグ酸含有量分析を行った。その結果をTable 1に示す。なお、今回の検討では食品中のエラグ酸は、イチゴジャムパン、イチゴ入りヨーグルトなどからの検出からわかるように、天然物 (果実中、特にベリー類、ナッツ類) 由来の含有成分として検出された。

文 献

- 厚生省告示第120号 (1996). “既存添加物名簿” 平成8年4月16日.
- Bhargava, U. C. and Westfall, B. A.: *J. Pharm. Sci.*, **57**, 1674-1677 (1968).
- Mandal, S. and Stoner, G. D.: *Carcinogenesis*, **11**, 55-61 (1990).
- Wood, A. W., Huang, M. T., Chang, R. L., Newmark, H. L., Lehr, R. E., Yagi, H., Sayer, J. M., Jerina, D. M. and Cornney, A. H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 5513-5517 (1982).
- Amakura, Y., Okada, M., Tsuji, S. and Tonogai, Y.: *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **41**, 206-211 (2000).
- Masuda, M.: *Kagaku to Kogyo (Chemistry and Chemical Industry)*, **51**, 1066-1069 (1998).
- Shahzad, S. and Bitsch, I.: *J. Chromatogr. A.*, **741**, 223-231 (1996).
- Daniel, E. M., Krupnick, A. S., Heur, Y. -H., Blinzler, J. A., Nims, R. W. and Stroner, G. D.: *J. Food Compos. Anal.*, **2**, 338-349 (1989).
- Mikamo, E., Okada, Y., Semma, M. and Ito, Y.: *Nippon Shokuhin Kagaku Gakkaishi (Jpn. J. Food Chem)*, **6**, 38-42 (1999).
- 谷村顕雄, 藤井正美, 義平邦利, 伊藤誉志男, 城 照雄監修 “食品中の食品添加物分析法解説書” 東京, 講談社, 1992, p. 888-890.

ヒ素簡易分析装置のバリデーション

内野 正[#]・徳永裕司・安藤正典

Validation of Simple Analytical Equipment for Arsenic

Tadashi Uchino[#], Hiroshi Tokunaga and Masanori Ando

In order to improve the arsenic test method, we investigated the effect of temperature, solar light and masking ions on that test method. As the results, we found that the solar light gave the big damage to the colored reaction on the method. In addition, on comparing the improved method with the arsenic test method of Merckoquant^R kit by using the water containing 0.01 ppm arsenic as the Japanese guideline for the drinking water, the improved method gave the better analytical value than Merckoquant^R kit that was not sufficiently determined.

Keywords: arsenic, analysis, validation, Japanese guideline for drinking water

はじめに

近年、未開拓地域の地下水利用によるヒ素汚染が世界各国で問題となっており、特にインド国西ベンガル州では1996年の汚染状況調査でヒ素汚染地域の人口は約960万人で、日本およびWHOの飲料水中のヒ素(As)のガイドラインである0.01 ppm以上の水を飲用している人は150万人、インド国内の飲料水中のヒ素(As)のガイドラインである0.05 ppm以上の水を飲用している人は110万人、皮膚疾患患者数22万人と報告され、深刻な状況になっている¹⁾。1993年に日本およびWHOのヒ素(As)のガイドラインが上記のように設定されるに伴い、ヒ素の分析方法は定量下限として0.01 ppmが要求されることになった^{2, 3)}。現在この定量下限を満たすものとしてICP-MASS法⁴⁾などの機器分析法があるが、これら未開拓地域では上記の機器分析手段は生活社会へのインフラ整備や投資が行われてきていないためにほとんど不可能な状況である。そこで高度な機器を用いずに簡易に正確に測定できるヒ素簡易分析装置のバリデーションを行うための方法を確立することが急務となっている。分析方法としては、グッドツァイト法⁵⁾に基づく方法が妥当と考えられるが、日局に定められているヒ素試験法⁶⁾の検出限界は(三酸化ヒ素として)0.05 ppm程度である。そこでより高感度な試験法を作成するためにヒ素

試験法の改良(高感度ヒ素試験法)を行い、その検出限界や反応温度、日光、妨害イオンとして考えられる鉄などの影響を検討した。更に市販のヒ素簡易分析装置による方法(Merckoquant^R)との比較を行った。

実験方法

試薬：水は全てミリQ水とし、塩酸、硫酸は有害金属測定用を用いた。無ヒ素亜鉛(粒状、ヒ素含有量0.1ppb以下)は国産化学(株)製を用い、Merckoquant^Rキットはメルクジャパン(株)製を用いた。その他の試薬は全て和光製薬(株)製を用いた。

ヒ素標準原液：三酸化ヒ素を微細の粉末とし、その0.100gを性格に量り、水酸化ナトリウム1gを水5mlに溶かした)5mlに溶かした。この液に希硫酸を加えて中性とし、更に希硫酸10mlを追加し、水を加えて正確に1000mlとした。

ヒ素標準液：ヒ素標準原液1mlを正確に量り、希硫酸1mlを加え、水を加えて正確に100mlとし、これを更に希釈して0.002-0.1 mg/mlの溶液を調製した(用時調製)。

操作法

1. 高感度ヒ素試験法

装置は第13改正日本薬局方ヒ素試験法の装置Aを準用し、ガラス繊維の代わりに扱いやすい脱脂綿を用い、有害試薬である臭化第二水銀の使用量を減らすために臭化第二水銀紙のサイズを小さくし(10mm×10mm)、以下に示すように装置Aを用いる方法に準じて試験を行った。なお

[#] To whom correspondence should be addressed:

Tadashi Uchino; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141; Fax: 03-3700-6950
E-mail: uchino@nihs.go.jp

装置Aを用いる方法は第13改正日本薬局方では採用する品目がなくなったが、装置Bを用いる方法に比べ、感度がやや高い、分光光度計を使用する必要がないなどの利点からこの方法を選択した。

発生瓶にヒ素標準液20 mlを正確に加え、更に薄めた塩酸5 mlおよびヨウ化カリウム試液5 mlを加えて2-3分間放置した後、更に酸性塩化第一スズ試液5 mlを加え、室温で10分間放置した。次に水を加えて40 mlとし、無ヒ素亜鉛2gを加え、直ちに装置を連結したゴム栓を発生瓶に付け、25℃の水中に瓶の肩まで浸し、1時間室温放置後、直ちに臭化第二水銀紙の色を観察した。

2. Merckoquant[®]キットによる方法

発生瓶にヒ素標準液20 mlを正確に加え、更に試薬（無ヒ素亜鉛）をキット付属の薬さじ1杯および試薬2（32%塩酸）10滴を加えて試験紙を差し込んだふたをしめ、良く振り混ぜた。30分間室温放置後、直ちに水につけ、適量の水をふきとった後、試験紙の色を観察した。

評価法：評価は目視で行い、-（白）、±（かすかな黄色）、+（うすい黄色）、++（黄色）、+++（黄褐色）の5段階で評価した。

結 果

1. 検出限界の測定

0-0.1 ppmのヒ素標準液を20 ml発生瓶に加え、検出限界を測定したところ、Table 1に示すように検出限界は（三酸化ヒ素として）0.005 ppmと2 ml加えた時の十分の一と

Arsenite concentration (ppm)	Sample volume 2 ml (JP method)	Sample volume 20 ml (improved method)
0	-	-
0.001		-
0.002		-
0.005		±
0.01	-	+
0.05	±	++
0.1	+	+++
0.5	++	
1	+++	

Table 1. Effect of arsenite concentration on the color of HgBr₂ test strip

The color of HgBr₂ test strip: - white, ± slight yellow, + light yellow, ++ yellow, +++ yellow-blown. Standard sample of arsenite was measured at 25 °C.

った。測定は3回ないしそれ以上行ったが検出限界付近の濃度では多少バラツキが見られたものの、判定が変わるような顕著な変化は認められなかった。

2. 反応温度の影響

0.005 ppmのヒ素標準液を発生瓶に加え、反応温度を20-45℃に変化させ、色の変化を測定した。35℃で若干色が濃くなる傾向が見られたものの、Table 2に示すように顕著な影響は見られなかった。

Reaction temperature(°C)	Color
20	±
25	±
35	±
45	±

Table 2. Effect of arsenite reaction temperature on color of HgBr₂ test strip

Standard sample of arsenite (0.005 ppm) was measured at 25 °C. The color of HgBr₂ test strip: ± slight yellow.

3. 光の影響

0.005 ppm又は0.05 ppmのヒ素標準液を発生瓶に加え、

Irradiation time(min)	Arsenite 0.005 ppm			Arsenite 0.05 ppm		
	dark	room light (fluorescent light)	solar light (pm 1, 10/28, 1999)	dark	room light (fluorescent light)	solar light (pm 0, 10/29, 1999)
0	±	±	±	++	++	++
5	±	±	-	++	++	+
10	±	±	-	++	++	±
30	±	±		++	++	
60		-				

Table 3. Effect of light on color of HgBr₂ test strip

The color of HgBr₂ test strip: - white, ± slight yellow, + light yellow, ++ yellow.

Standard sample of arsenite was measured at 25 °C.

反応温度 25℃で測定後、室内光（蛍光灯）又は太陽光（1999年10月28日午後1時前後又は同年同月29日午後0時前後、晴れ）に最大60分間暴露し、暴露前および暗所での場合と比較した。Table 3に示すように暗所では30分間放置後もほとんど退色が見られなかったのに対し、太陽光では経時的に退色が起こり、ヒ素 0.005 ppm 存在下では5分以内、0.05 ppm 存在下では10分程度でほとんど退色した。室内光では0.05 ppm 存在下では30分間放置後もほとんど退色が見られなかったが、0.005 ppm 存在下では30分間放置後に退色し始め、60分間放置後には完全に退色した。

4. 硝酸鉄および硫化鉄の影響

地下水中に比較的多く存在することが知られている鉄⁷⁾の影響を検討するため硝酸鉄又は硫化鉄を1-50 ppm 含む0.005 ppm のヒ素標準液を発生瓶に加え、反応温度 25℃で測定し、それらを含まない場合と比較した。Table 4に示すように硝酸鉄では顕著な変化はなかった。硫化鉄では50 ppm 存在下で完全に退色し、妨害が見られた。

Concentration (ppm)	Fe(NO ₃) ₃	FeS
0	±	±
1	±	
5	±	±
10	±	±
50	±	-

Table 4. Effect of Fe(NO₃)₃ and FeS concentration on the color of HgBr₂ test strip
The color of HgBr₂ test strip: - white, ± slight yellow.
Standard sample of arsenite (0.005 ppm) was measured at 25 °C.

5. Merckoquant^Rキットによる方法との比較

0-0.1 ppm のヒ素標準液を Merckoquant^Rキットで測定し、検出限界を測定したところ、Table 5に示すように検出限界は（三酸化ヒ素として）0.05 ppm であった。高感度ヒ素試験法による色の変化との相関を見たところ、Merckoquant^Rキットは高感度ヒ素試験法の三分の一程度の感度しかないことが明らかとなった。

Arsenite concentration (ppm)	Improved method	Merckoquant ^R kit
0	-	-
0.005	±	
0.01	+	-
0.05	++	±
0.1	+++	+

Table 5. Relationship between improved method and Merckoquant^R kit
The color of HgBr₂ test strip: - white, ± slight yellow, ++ yellow, +++ yellow-blown.
Standard sample of arsenite was measured at 25 °C.

まとめと考察

以上の結果から、日本およびWHOのガイドラインを満たす試験法を作成することができた。本試験法では、太陽光の影響が最も強く、数分で退色が始まることから、フィールド試験では反応終了後直ちに測定を行い、試験紙には日光を当てないことが必要であり、特にサンプル中のヒ素濃度（三酸化ヒ素として）が検出限界付近の場合には退色しやすいので注意が必要である。反応温度に関しては少なくとも20℃以上であれば呈色にはほとんど影響はなく、上記の未開拓地域ではフィールド試験でもほとんど問題はないと思われる。一方、硫化鉄は少量では影響はほとんど見られないものの、高濃度（50 ppm以上）では妨害が見られたので注意が必要である。

Merckoquant^Rキットによる方法との比較を行ったところ、このキットはサンプル量の違いを考慮しても本試験法の三分の一程度の感度しかなく、このままではガイドラインを満たさない。実際の試験に用いるにはサンプル量の増大又はサンプルの濃縮など改良が必要と思われる。

文 献

- 1) 安藤正典, 眞柄泰基: 資源環境対策, 33, 113-122 (1997)
- 2) 厚生省監修: 上水試験方法 1993年版, 日本水道協会, 東京, pp.2 (1993)
- 3) World Health Organization: "Guidelines for drinkingwater quality", 2nd ed. Vol.1. Recommendations, WHO, Geneva, pp.41-42 (1993)
- 4) 柴田康行: 衛生化学, 42, 385-401, (1996)
- 5) 化学大辞典編集委員会編: 化学大辞典 Vol.3, 共立出版, 東京, pp.41-42 (1978)
- 6) 第十三改正日本薬局方, 厚生省, 87-89, (1996)

- 7) 日本薬学会編：衛生試験法注解 1990年版，金原出版，
東京，pp.989-990 (1990)

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現状

中田琴子[#]・中野達也・高井貴子・小峰 啓・神沼二真

The Status of NIHS Information and Computing Infrastructure (NICI)

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

From 1999 to 2000, NIHS Information and Computing Infrastructure (NICI) were newly renovated. The purposes of the renovation are (1) the improvement of the communication for business works in NIHS, (2) supporting for the research, (3) supporting for the administration work. The Internet connection speed was upgraded from 256Kbps to 1.5Mbps. The high quality network sever machines and database server machines were installed. The large-scale software systems were renewed their versions. Four experimental stations for medical plants at Hokkaido, Izu, Wakayama and Tanegashima connected to NIHS at Tokyo or Osaka branch by ISDN. We describe the providing information on NIHS home page, and how to utilize NICI for our research and official works.

Keywords: World Wide Web, infrastructure, database, server

はじめに

国立医薬品食品衛生研究所における研究情報基盤環境は、平成7年度に第1段階としてネットワークサーバ機器の整備を行い、平成8年度に第2段としてデータベース関連機器および大型ソフトウェアの整備を行った。これまでの当所の研究情報基盤整備の過程は平成8年発行の衛生試験所報告¹⁾ および平成10年発行の国立医薬品食品衛生研究所報告²⁾ に記述した。私達はこうした全所的なコンピュータネットワークの基幹部分と、当部が独自に開発している各種の知識データベースや、分子計算、環境地理グラフィックス、更に最近開発したNIHS検索エンジン等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11年から12年にかけては上記NICIの第1段および第2段整備でのリース機器更新時期にあたり、第3段の整備を行った。更新整備計画の際は、(1)所内の事務的な仕事と情報伝達、(2)研究事業の支援、(3)行政対応業務の支援について、より効果的にNICIを利用できることを念頭においた。まず所内LANの拡張工事に伴い、平成11年1月にLAN幹線を10Mbpsから100Mbps対応に更新した。同年8月、外部ネットワークへの回線速度を256Kbpsから

1.5Mbpsに向上した。本ネットワークは科学技術振興事業団が運用している省際研究情報ネットワーク (IMnet) を経てインターネットに接続している。平成7年度に納入した研究情報ネットワークのサーバ機器は平成11年10月に高性能機種に更新した。平成8年度に納入したデータベース関連機器 (計算サーバ) は平成12年4月に同様に更新した。新サーバ上で稼働しているソフトウェアはバージョンを更新し、かつ新機能のソフトウェアも追加した。東京本所と大阪支所および筑波薬用植物栽培試験場を結ぶ仮想ネットワーク (Virtual Private Network: VPN) を構築し、ファイアウォールを強化した。北海道・伊豆・和歌山・種子島薬用植物栽培試験場とはISDN回線で接続された。現在医薬品医療機器審査センター (審査センター) および大阪支所、5ヶ所の薬用植物栽培試験場を含む当所のネットワークユーザ数は600人を超え、パーソナル・コンピュータ (PC) 等約750台の端末をネットワーク接続している。

NICIは全所的なコンピュータネットワーク、情報リソース、計算リソースおよびその他の情報サービス機能から構成されている。全所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。前回の報告以降のNICI整備状況および今後の発展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。

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

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、生活環境の安全管理、疾病の制御、医療などの分野において「厚生行政およびそのサービスに違いをもたらす」科学的データ、評価情報、対策のための知識や技術などを生成、提供することである。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研究者間を結ぶ情報網のみでなく、一般にも普及しており、様々の情報交換に不可欠なものになっている。国内外の研究者と厚生科学研究事業に関する情報交換や、より多くの人々に有益な情報および緊急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。また同時に情報の機密確保やネットワークに関する安全性の問題に対処する必要がある。

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（筑波栽培試験場）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に東京本所と大阪支所、5栽培試験場、審査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、平成11年1月幹線を100Mbps対応にして高速化した。大阪支所、筑波栽培試験場、審査センターとも独自にLANを構築しており、平成11年10月から12月にかけて北海道・伊豆・和歌山・種子島栽培試験場はISDNで東京本所または大阪支所に接続し、各場内LANを構築した。平成12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

東京本所と省際研究情報ネットワーク東京センター間の専用線は平成11年8月にそれまでの256Kbpsから1.5Mbpsのデジタルアクセスに変換し、インターネット接続のための回線速度を向上させた。省際研究情報ネットワークを

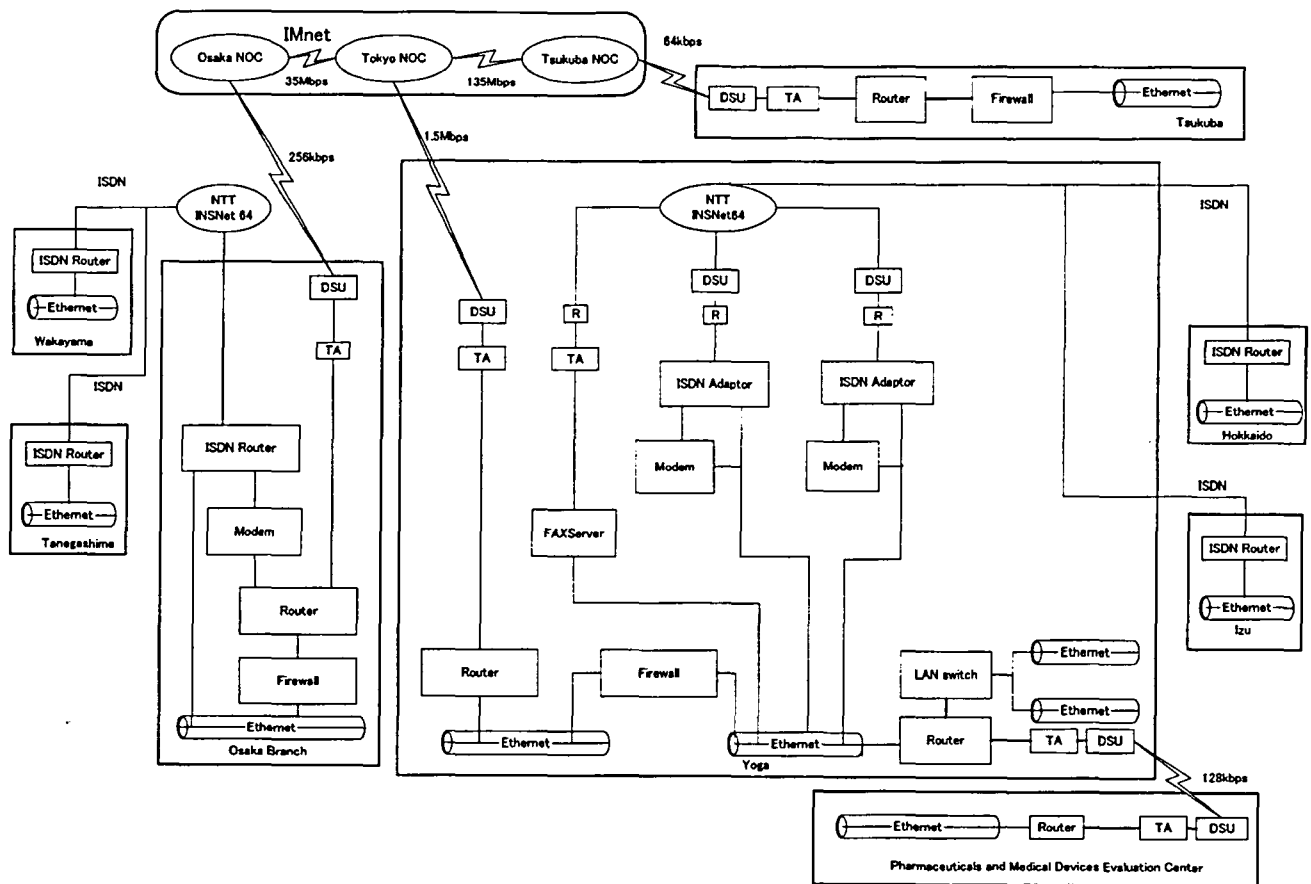


Fig. 1 Overview of the connection from NICI to outer networks

經由してSINET, WIDE等の国内ネットワークおよび海外の種々の基幹インターネットに接続している。

大阪支所と筑波栽培試験場はそれぞれ省際研究情報ネットワーク大阪ノードに256Kbps, 同じく筑波ノードに64Kbpsの専用回線を経由して接続し, 東京本所のネットワークサーバを介してインターネットに接続している。審査センターは東京本所と128Kbpsの専用回線で接続しており, やはり東京本所のネットワークサーバを介してインターネットに接続している。北海道・伊豆・和歌山・種子島栽培試験場はISDNで東京本所または大阪支所に接続し, 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を経て内部のバリアセグメントのLAN(ローカルエリアネットワーク)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。ファイアウォールサーバに関しても平成11年10月更新し, 大阪支所および筑波栽培試験場にもファイアウォールサーバを設置し, ネットワーク機能を高上させた。

東京本所の内部セグメントはPC数の増加に伴い, 現在は三つのセグメントからなり, ローカルルータでセグメント間を接続している。本所と審査センターとを結ぶ専用回線は内部セグメントのローカルルータに接続している。

2.2 所内LANの構成

所内LANの一部は既存化学物質点検制度(日本版NTP)プロジェクトにより平成4年度に整備され, 平成7年にはこの幹線を拡張して用賀本所内各部から接続可能になった。平成8年3月には主な建物と本館を放射状の光ファイバー幹線で接続し直し, 平成11年1月に基幹幹線の100Mbps対応化を行った。この時期は用賀本所の安全性生物試験研究センターで利用している動物試験システムの更新時期にあたり, それまで内線電話回線を利用してサーバに接続していた方式を所内LAN利用に切り替えたため大幅にLANを拡張した。小規模のLAN工事は平成12年にも実施された。

平成11年10月に用賀本所, 大阪支所, 筑波栽培試験場をVPNで結んだことにより, 大阪支所および筑波栽培試験場からも用賀本所と同様のネットワーク機能が利用できるようになった。

ファイアウォールの内部に位置する所内LANは, TCP/IPプロトコル(通信規約)による基幹部分と, それ以外にアップルコンピュータ社のMacintoshで利用されるApple Talkであるが, TCP/IPおよびApple Talkはハードレベルでは同じ環境にある。

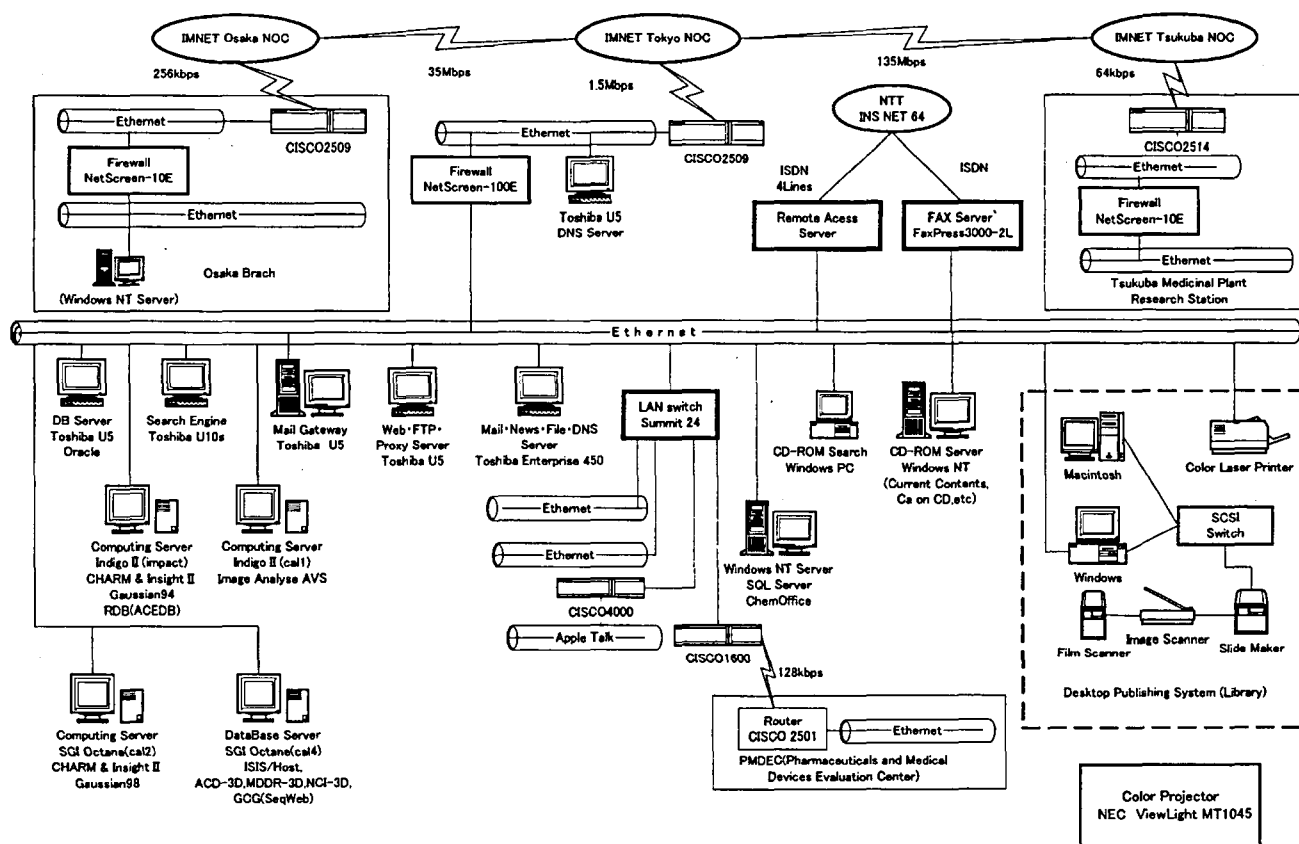


Fig. 2 Network configuration and main servers

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
	2.4kb/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
Jan. 1999		• LAN 100Mbps • Extension of LAN for Toxstaff 21
Aug. 1999	1.5mb/s	• Upgrade of Internet connection NIHS - Tokyo IMnet Center
Oct. 1999		• Upgrade of main server machines
Oct.-Dec. 1999		• Internet connection in Experimental stations for medical plants at Hokkaido, Izu, Wakayama and Tanegashima by ISDN.
Apr. 2000		• Upgrade of calculation server machines.

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) Fire Wall サーバ (東京本所 NetScreen-100E ; 大阪支所

NetScreen-10E ; 筑波栽培試験場 NetScreen-10E) : セキュリティ強化および東京本所-大阪支所-筑波栽培試験場のVPNの構築。

b) 公開DNSサーバ (AS7000 U5)

c) Mail (Grace Mail) ・ News ・ 内部DNSサーバ (UX

- 7000E/450)：登録ユーザおよび登録マシンの管理。
- d) WWWサーバ (AS7000 U5)
- e) Mail Gateway (AS7000 U5)
- f) WWW検索エンジンサーバ (AS7000 U10/333)
- g) データベースサーバ (AS7000 U5)：Oracleサーバ
- h) CD-ROMサーバ (Compaq ProLiant 1600)：CD-ROMおよびフロッピーディスクで提供されているCASやCurrent Contents (最新科学文献情報)をディスクに移し、これらの情報検索サービスに利用している。
- i) 計算サーバ (SGI Octane)：分子モデリングおよび分子軌道計算用
- j) 計算サーバ (SGI Octane)：ISISおよびGCG用
- k) 計算サーバ (IndigoII)：分子計算用
- l) 計算サーバ (IndigoII)：画像解析用
- m) WindowsNTサーバ (DEL)：FAX送信等

2.4 PPP接続ポート

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ている。東京本所に6回線 (アナログ3回線とデジタル3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。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。北海道と伊豆栽培場は東京本所に和歌山と種子島栽培場は大阪支所にデジタル回線 (ISDN) で接続している。

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が必要とし、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。掲示板にはネットワーク関連情報や所内規定、委員会報告や研究会・講演会案内、図書関連情報、事務関連記事を載せている。

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。

- ・GraceMail操作マニュアル

WWWを利用した電子メールのシステムで、UNIXサーバ上で稼働させている。出張先や自宅から所外ネットワー

クを經由してNIHSのメールを送受信できる。

- ・NICI FORUM バックナンバー

Adobe社のAdobe Acrobat Readerというソフトウェアを利用して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。

- ・ヘルプデスクからのお知らせ
 - ・ウィルス対策等の情報を記載している。
 - ・各種申込書
 - ・ユーザ登録/削除申込書、ネットワーク接続申込書等。
 - ・所内電子メールアドレス帳
 - ・メーリングリスト
 - ・NIHSホームページへのアクセス状況
- グラフ表示およびテキスト表示で記載されている。

所内規定には「国立医薬品食品衛生研究所における有害物質等の安全管理規定」を初めとして当所の管理規定や規則が記載されている。

図書関連情報は最近充実してきた。以前、所内用文献検索としてイントラネットで利用していたMEDLINEやToxline PlusについてはWWW上にある無料のMEDLINEやTOMES Plusの利用に切り替え、CD-ROM交換等の手間を省いた。下記のようにCASとCurrent Contentsのみディスクに情報を移して利用している。

- ・CA on CD December 1999 (Volume 131 Issue 1-26)
- ・CA on CD April 2000 (Volume 132 Issue 1-17)
- ・12CI on CD (The 12th Collective Index 1987-1991)
- ・13CI on CD (The 13th Collective Index 1992-1996)
- ・Current Contents

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。最近では内分泌攪乱物質に関する情報や危機管理情報が充実している。

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あり、クライアントPC (Windows NTまたはWindows 95等)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いる。日本薬局方標準品 (<http://www.nihs.go.jp/9hyojunhin.htm>), 食品添加物含有量データベース (<http://www.nihs.go.jp/hse/food/food-db/food-ind.html>) 等がある。

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。当所ホームページでも厚生省との協力のもとに当部で編集している「厚生省関連情報」や「ICHガイドラインと関連情報」等はPDF形式で記載している部分が多い。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Adobe社のホームページ (<http://www.adobe.co.jp/>) からダウンロードできる。

3.3 情報の検索とビューイング機能

インターネットの普及とともに種々の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だし、見やすい形で取り出すのは至難の技である。インターネット上の情報を効率的に収集、分析する機能が重要になっている。「GINC Web Search」, 「内分泌攪乱物質関連情報」, 「医薬品関連情報全般」, 「医薬品緊急安全性情報」, 「健康機器管理関連情報」について、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た⁵⁾。

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MaKLiSLAN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)。概要および操作方法については下記に記載してある。

NIHS掲示板/図書室/図書管理システムについて (<http://www.nihs.go.jp/bboard/tosho/MakL.htm>)

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の間にある転送手順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に転送し、WWW上で検索可能である。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。

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。現在は図書室と総合評価室の蔵書が検索できる。

Fig. 3 Library search

3.4 NICIを基盤に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12年度に更新および拡充した計算サーバや大型ソフトウェアはこれらの研究に利用できる。

- Gaussian98: 非経験的分子軌道法プログラム
- MSI社製ソフトウェア (InsightII, CHARMm, Sketcher, Biopolymer, Homology, MODELER): 分子設計支援 (グラフィックス, 分子力学・分子動力学計算, 生体高分子モデリング, ホモロジーモデリング等)
- MDL社製ソフトウェア (ISIS/Host, ACD-3D, CMC-3D, MDDR-3D, NCI-3D): 化合物情報統合化システム (非臨床・臨床・発売後の薬物 (候補) 化合物データベース, 市販されている試薬のデータベース等)
- GCGソフトウェア: 遺伝情報解析システム。ネットワークを介して各自のPCから利用できる。現在全機能の1/3程度がWWW上で利用可能。

情報部ではWWWを介してデータベースにアクセスする方法について研究開発しており、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内分泌攪乱物質等の構造活性相関解析等、種々の研究がNICIを用いて進展している。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も開発した。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計画(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たり⁷⁾、NIHS掲示板にネットワーク関連情報を充実することに努めた。

3.5 共同利用システム

NICIのLAN上にはこれまで述べた全所的なネットワー

ク利用の他に、特定のグループ内でのみ利用しているシステムが稼働している。日本版NTPプロジェクトのシステムおよび動物試験システム(Animal Test)はそれぞれのメンバーのみが利用している。同じネットワーク回線に接続しているシステムでも、目的に応じてクロズドシステムに設定することができる。離れた建物内で作成されたNMRのデータ転送や機器のリモート制御も可能である(Fig.4)。

4. 結果

東京本所のLAN基幹回線は100Mbpsに、外部への回線速度は1.5Mbpsに高上し、インターネット利用による情報処理時間が短縮した。東京本所内のAppleTalk処理と、本所一審査センター間通信処理と同じルータを使用している障害原因の特定に手間取った経験から、機能別に機器を分けるように努めている。各部内のPC数も少しずつ増加し、ネットワークプリンターや実験装置に付随したコンピュータのネットワーク接続も増えた(Fig.5)。また以前は電話回線を使ってサーバにアクセスしていた動物試験システムを、所内LAN利用に切り替えるためにLANを拡張した。ユーザ数が1999年から2000年にかけて減少しているのは継続期間が過ぎたユーザ登録の整理を行ったことによる。常勤および非常勤職員から研究生にいたるまで全員がユーザアカウントを申請し利用している。

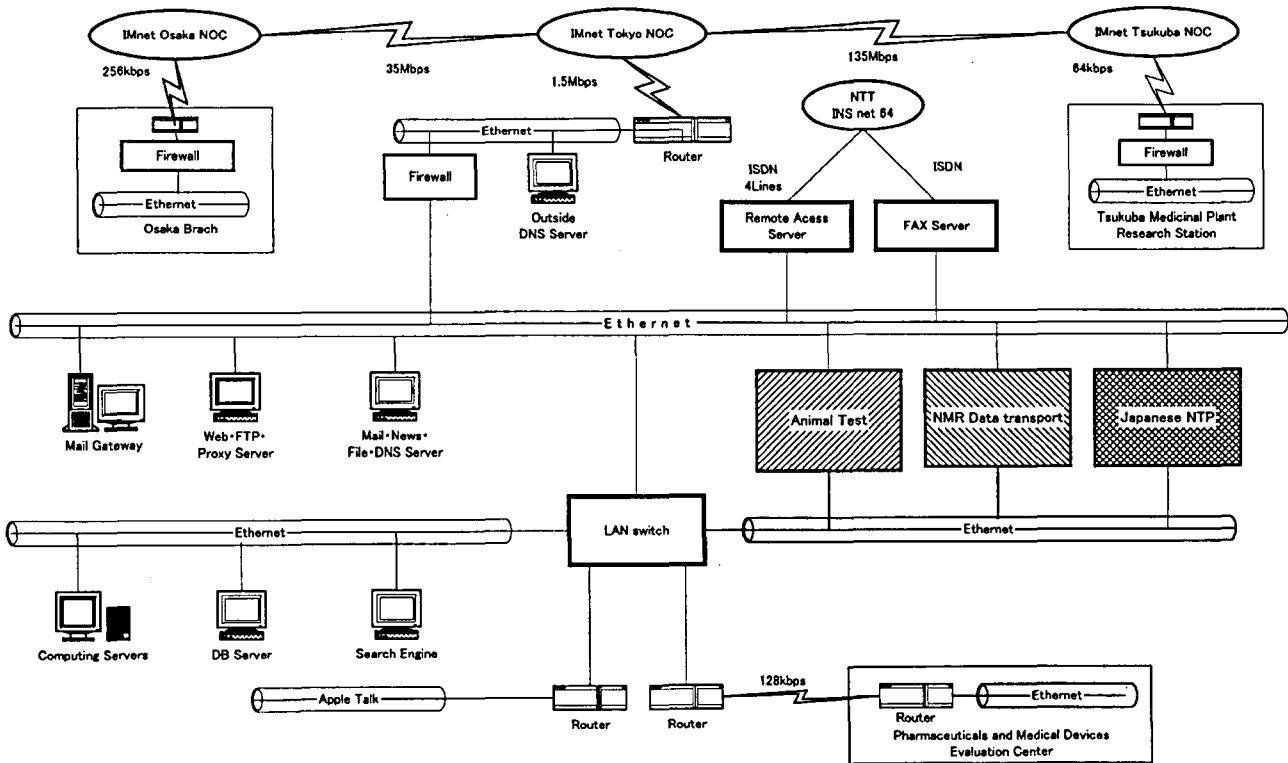


Fig. 4 Collaboration System

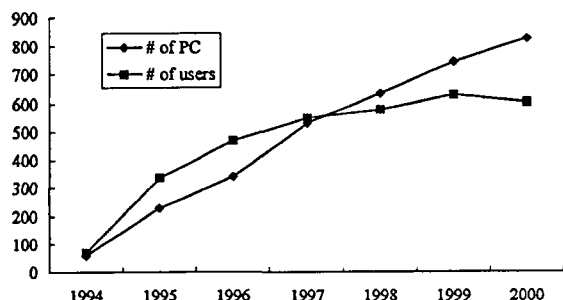


Fig. 5 Number of Users and number of personal computers

所外からのPPP接続は所員が帰宅後または休日に電子メールを利用しており、現在107人が登録している。専用線接続している筑波栽培試験場以外の4栽培試験場ではISDN回線で東京本所または大阪支所に接続している。

インターネットの普及とともに、ウイ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)等の被害も増加してきた。当所のネットワークシステムはファイアウォールで守られているため、これまでホームページ改ざんの被害は受けていないが、宛先不在の不正メール(発信人: xxx@nihs.go.jp等)が大量にサーバ管理者に送られるという被害が何度か発生した。平成12年5月初旬に世界的に蔓延した添付ファイル(VBSファイル)付き電子メールウイルスの場合はサーバのウイルスチェッカーを頻繁に更新することで阻止できた。サーバ阻止する以前に受け取った人も、テレビ等で対処法を知っていたため添付ファイル未開封のまま除去して被害を免れた。このような外部からの不正侵入やSPAMメール等について、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無い。さらに新手の不正使用や被害を受けまいよう、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延びており、大阪支所、筑波栽培試験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.6参照)。日本語ページのアクセス状況は一昨年7月16,394件、昨年7月22,662件、今年5月31,356件であった。各種委員会や部長会案内および事務連絡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。イントラネットによる文献情報データベースの利用はCASとCurrent Contentsのみ残し、MEDLINE等についてはインターネット利用に切り替えたが、いづれにしても各部のPCから検索できる。図書館の蔵書検索についても問題点を改善しながら運用している。FAXサーバはWindows NTで稼働しており、各PCからFAX送信可能である。

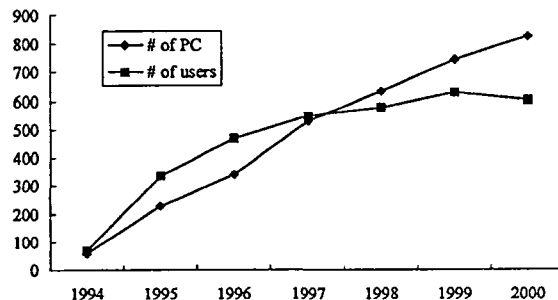


Fig. 6 Number of access for NIHS Homepage

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も整備が進行してきた。内分泌攪乱物質や重油流出事故等を含む環境汚染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更に必要と思われる。化学物質の安全管理に関係している国際機関と各国の機関がインターネットを通して情報とコラボレーションを行うというGINC構想は益々浸透してきた。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いる。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り、不可欠なものとなってきた。

5. 考 察

NICIの開発、整備について所内では理解が深まり、今や電子メールやWWWの利用は日常不可欠なものとなっている。各部のWWWによる情報発信もかなり浸透して(Table 2参照)、独自にホームページを作成している部は全体の2/3以上ある。外部から詳しい内容のホームページの公開が求められており、ホームページやデータベースのWWW化については情報部およびヘルプデスクが支援している。NIHS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、WWWを用いた様々な形式の情報交換が増えている。

平成8年の衛試報告で掲げた課題は、徐々に解決に向かっている。北海道・伊豆・和歌山・種子島栽培試験場のISDN接続により、全所にインターネットが行き渡り、今やインターネットは日常不可欠なものになった。

今後の課題として、さらにNIHSホームページをさらに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必要がある。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適宜更新している⁴⁾。環境問題も内分泌攪乱物質、ダイオキシン、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。また当所の研究業務である医薬品、食品、化学物質の安全性

Table 2 Divisional Home Page

	Applications
Div. of Drug	Guideline for bioequivalence studies. Validation of analytical procedures
Div. of Medical Devices	NIHS Household product Hub. ISO/TC194 biological evaluation of Medical Devices. Latex Allergy FUMI Theory
Div. of Environmental Chemistry	Regulation on Cosmetics in Japan and other countries. Tap water information
Div. of Foods	Reports about Environmental pollutants, Pesticides, Animal drugs et al.
Div. of Organic Chemistry	Chemical and biochemical study of Fullerenes. Information on NMR in NIHS.
Div. of Microbiology	UJNR Toxic Microorganisms Panel.
Div. of Chem-Bio Informatica	Summary of EHC list of EHC, HSG and other reviews, International Chemical Safety Cards. To prevent Chemical Accidents. Regulations on Chemicals in Japan. Chemical Safety Information Forum in Tokyo. Endocrine Disruptor Information for Researchers.
Biological Safety Research Center Div. of Toxicology Div. of Pharmacology Div. of Pathology Div. of Genetics and Mutagenesis Div. of Risk Assessment	Technical Terms (General, Pathology, etc....) Dioxin Information Works Japanese collection of research biosource Cell Bank. Search books or journals in DRA.
Pharmaceuticals and Medical Device Evaluation Center	Evaluation process of a new drug.
Osaka Branch Div. of Drugs Div. of Food Chemistry Div. of Biological Evaluation	Activity reports of Information subcommittee. In-house announcement.
Experimental Station for Medical Plants at Hokkaido, Tsukuba, Izu, Wakayama, and Tanegashima	Guidance for 5 experimental stations. Herbal medical quality

に関わる研究を支援する NICI の構築を目指しており、MOBI-DICS (Molecular Biodynamics Simulator) を開発している段階である。これについては本報告「医薬品および化学物質安全性研究を支援する基盤システム」⁸⁾ で詳細を記述する。

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。ネットワークの運用・保守、障害時の対応等にはヘルプデスク (日立電線 (株)) の協力を得ており、ここに感謝する。

Table 3 Abbreviations

ACD-3D	Available Chemicals Directory -Three dimensional structure database
AVS	Advanced Virtual System
CAS	Chemical Abstracts
CMC-3D	Comprehensive Medicinal Chemistry -Three dimensional structure database
DNS	Domain Name Service
FDA	Food and Drug Administration
GCG	Genetics Computer Group
GINC	Global Information Network on Chemicals
HTML	Hyper Text Markup Language
IMnet	Inter Ministry network
IPCS	International Programme on Chemical Safety
ICSC	International Chemical Safety Cards
ISDN	Integrated Service for Digital Network
ISIS	Integrated Scientific Information System
JUNET	Japanese University Network
Kbps	Kilo bit per second
LAN	Local Area Network
Mbps	Mega bit per second
MDDR-3D	MDL Drug Data Report -Three dimensional structure database
NCI-3D	National Cancer Institute -Three dimensional structure database
NICI	NIHS Information and Computing Infrastructure
NIEHS	National Institute of Environmental Health Sciences (USA)
NIH	National Institutes of Health (USA)
NIHS	National Institute of Health Sciences
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health (USA)
ODBC	Open Database Connectivity
PC	Personal Computer
PDF	Portable Document Format
PPP	Point to Point Protocol
SGI	Silicon Graphics Incorporated
SINET	Science Information Network
TCP/IP	Transmission Control / Internet Protocol
TISN	Tokyo University International Science Network
UJNR	United States / Japan Cooperative Program on the Development and Utilization on Natural Resources
VPN	Virtual Private Network
VRML	Virtual Reality Modeling Language
WHO	World Health Organization
WIDE	Widely Integrated Distributed Environments
WWW	World Wide Web

文 献

- 1) Nakata, K., Nakano, T. and Kaminuma, T.: NIHS Information and Computing Infrastructure (NICI). Bull. Natl. Inst. Health Sci., 114, 53-61 (1996)
- 2) Nakata, K., Nakano, T., Takai, T., and Kaminuma, T.: Development of NIHS Information and Computing Infrastructure. Bull. Natl. Inst. Health Sci., 116, 92-100 (1998)
- 3) Yamamoto, M., Yokote, N., Morita, M., Nakano, T., Ishikawa, K. and Kaminuma, T.: Dissemination of the Japanese version of the International Chemical Safety Card (ICSC) on the World Wide Web(WWW). Bull. Natl. Inst. Health Sci., 115, 161-165. (1997)
- 4) Yamamoto, M., Nakata, K., Kabuyama, N. and Kaminuma, T.: Dissemination of Drug Information by the Internet. Bull. Natl. Inst. Health Sci., 116, 137-143 (1998)
- 5) Takai, T., Tokunaga, M., Maeda, K. and Kaminuma, T.: Development of Domain Specific Search Engines. Bull. Natl. Inst. Health Sci., 118.
- 6) Kaminuma, T., Kabuyama, N. and Ishikawa, K.: Development of a Geographical Information System and Its Application to Escherichia coli O-157 Patient Distribution. Bull. Natl. Inst. Health Sci. 115, 155-160 (1997)
- 7) Kaminuma, T., Nakata, K., Nakano, T. and Takai, T.: NICI FORUM. Vol.1 No.1-No.14 (1997-1998)
- 8) Kaminuma, K., Nakata, K., Nakano, T. and Takai, T.: Development of Research Support Environment for Molecular Pharmacology and Toxicology. Bull. Natl. Inst. Health Sci., 118.

医薬品および化学物質安全性研究を支援する基盤システム

国立医薬品食品衛生研究所 化学物質情報部
神沼二真[#]・中田琴子・中野達也・高井貴子

Development of Research Support Environment for Molecular Pharmacology and Toxicology

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

The Chem-Bio Informatics division has developed the institute-wide computer network which is connected to the Internet via IMnet (Inter Ministry Network) sponsored by the Government. We call the network and associated information and computing infrastructure as NICI, the NIHS Information and Computing Infrastructure. The primary goal of NICI is to provide general communication environment such as e-mails, and the second goal is to provide WWW environment. Accomplishing these two goals the division is now challenging to develop information and computing environment that directly supports pharmaceutical and toxicological research. The prototype of this environment which consists of various chemical and biomolecular databases and computing tools has been developed under the name of MOBI-DICS. The concept and vision on how to extend the prototype to institute-wide infrastructure was discussed.

Keywords: WWW, MOBI-DICS, computational chemistry, bioinformatics

1. NICIの将来

化学物質情報部は、平成1年度より全所的な情報基盤の構築を部の新たなミッションとして掲げ、継続的な努力を続けてきた。最初はイーサネットでは数台のワークステーションとPCを結んだ簡単な所内ネットワーク (LAN) の実験からスタートしたが、平成5年度には、インターネットに接続する環境を構築し、平成7年度には本格的なネットワークを整備し、さらに平成11年10月と12年4月にはこれを拡充した¹⁾。インターネットの利用のための基幹環境、情報コンテンツの提供環境、各種の計算リソースから構成されているこの情報計算基盤を、現在はNICIと呼んでいる。NICIとは、NIHS Information and Computing Infrastructureを意味する。

NICIの現状については別に報告があるのでここでは省略するが、情報部ではNICIの次の発展段階として、所の基幹的な研究業務である医薬品や(食品を含む)化学物質の安全性に関わる研究を支援する基盤環境の構築を開始した。現在はそのプロトタイプであるMOBI-DICSを開発している段階である。

MOBI-DICS (Molecular Biodynamics Simulator) とは、生

体には異物である化合物 (Xenobiotic Chemicals) と生体系との相互作用を分子レベルで解析し、予測するための基盤システムである。もちろんこれは単一のシステムではなく、いくつかのデータベースや知識ベース、計算ツール、情報や知識のコンテンツをインターネットとWWW技術でゆるく結合した複合システムである。それゆえMOBI-DICSは、外部の同様なシステムと容易に連結され、さらに大きな複合系を構成できる可能性を秘めている。このことは、MOBI-DICSがわれわれの部だけの研究の道具ではなく、医薬品の効率や安全性、化学物質の安全性に関わっている、所内所外の多くの研究者の支援システムとなりうることを意味している。

以下では、MOBI-DICSの概要をその開発思想と今後の計画を含めて紹介し、全所的な研究支援基盤に拡張する具体的な手順を明らかにする。

2. MOBI-DICSの概念

2.1 個々の化合物のデータベース

MOBI-DICSの開発思想は単純である。第一の目標は、相互作用の主役である生体外からの化合物 (Xenobiotic Chemicals) と生体系の構成分子それぞれのカタログをまず作成し、次にそれらの間を関係づけることである。

このうち最初に着手したのは、国際がん研究センター (IARC) が刊行しているモノグラフに準拠した発がん物質に関するデータベースである。つぎに科学技術庁の振興調

[#] To whom correspondence should be addressed:

Tsuguchika Kaminuma; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-9540 Fax: 03-3700-7592; e-mail: kaminuma@nihs.go.jp

整費による研究として、内分泌かく乱物質を含む各種の生体影響データベースを開発した²⁾。現在は、わが国で申請認可されているすべての医薬品の識別情報のデータベースを開発中である³⁾。これらの化合物データベースの特徴は、X線解析や理論計算で求めた原子の三次元座標データが含まれていることである。その理由は分子の三次元構造は構造活性相関研究の基盤となると考えているからである。

生体分子に関しては、核酸の塩基配列データ、蛋白質のアミノ酸データ、三次元構造データなど一般に公開されている情報源にアクセスできる環境が整えられている。

2.2 受容体

相互作用の最もわかりやすい例は、薬物分子とその受容体との結合である。われわれは受容体を含めた Receptor Database (RDB) を開発している⁴⁾。このデータベースは生体分子のうち、受容体と考えられるものを探して、データベースとしたものであるが、当然それぞれのリガンドについての情報も入れている。

しかし、医薬品でさえそうであるが、生体に作用する化合物(生体影響物質)ではあっても、標的分子が判明していないものはまだ沢山ある。反対に受容体ではあっても、生体内物質としてのリガンドが判明していないもの(オーファン受容体)や、どのような生体外化合物が結合するかわからないものも多い。すなわち生体系分子への「リンクの張れない」化合物も少なくないのである。だが生物医学の進歩は急速であり、双方の間のリンクは、実際には急速に複雑なものになってきている。問題はそうしたリンクの増大、すなわちデータや知識の増大に追従し、現実のリンクをどのように増やしていけるかである。本データベースシステムではシステム内でデータ編集を行っており、インターネット上の遺伝情報データベースや解析システムとリンクして効率よく様々な情報を提供することに改良を重ねている。

2.3 結合実験のデータベースと構造活性相関解析

開発の第二の目標は、上記の関係をダイナミックスのモデル系として表現することである。リガンドとなる化合物 a と、受容体 A との関係が知られている場合、問題は a と A の関係だけでなく、a の類縁物質 a', a"……と A のファミリー(分子種) A', A"……との関係に発展する。例えば、われわれは性ホルモンあるいはその類縁物質と受容体、例えばエストロゲン受容体との結合実験の報告をデータベース⁵⁾にしている。Binding Affinity に注目したこのようなデータベースは、そのまま構造活性相関研究の基礎になる。

例えば、a', a"……に共通する構造上の特徴を求める問題がある。これを空間的な広がりとするれば、pharmacophore を求める問題となる。A', A"……に共通する(ホモログスな)配列や立体構造上の特徴、作用部位の同定などは、受

容体モデリングの問題となる。さらに a 群と A 群との結合ダイナミックスの解析や予測は docking study と呼ばれている。実験で得られる結合の強さや順位を計算で再現するのはまだ極めて難しい。したがって化合物と受容体のそれぞれに随伴するデータや知識をできるだけデータベースに収録しておくべきであろうと考えている。

2.4 分子の働きの記述

開発の第三の目標は、化合物の作用の相手である生体分子の生体内での存在部位と働きを記述する方法を開発することである。薬物作用の場合は、小腸における輸送、肝臓における代謝、標的臓器における主作用などに分けられる。さらにそれぞれの組織においては、標的となる酵素や受容体が細胞のどの部位に存在し、どのような働きをしているかが問題となる。そうした働きは細胞内の代謝、細胞信号伝達、細胞周期の制御、細胞死などと関係している。すなわち生体内の分子の機能は、細胞の内外における分子間の相互作用のネットワークによって発揮される。われわれは細胞信号伝達系をグラフとして記述するデータベース(CSNDB)⁶⁾を開発してきた。さらにこれをドイツのグループが開発している転写因子のデータベース(TRANSFAC)と結合することを試みた。最近、生体内分子の相互作用ネットワークの広がりを pathway として、記述する試みが盛んになってきた。こうした記述法は現実を極端に簡素化したモデルであるが、より精密な記述への出発点として重要である。

このようなモデルを使えば、毒性化合物や、薬物に対する細胞レベルの応答を記述することができる。しかし、これらは例えてみれば、道路網のような静的なモデルであり、交通状態を記述できるダイナミカルなモデルではない。さらに、たとえ細胞レベルの反応が記述できたとしても、それが生体全体の応答とどのように関係しているのかを教えてはくれない。それにはより高次の記述が必要である。

2.5 Gate Point から Endpoints に到る因果の連鎖

われわれの最終目標は、生体外の化合物あるいはその代謝物と生体内の標的分子との結合(Gate Point)から生体(あるいは実験系)の究極の応答(Endpoints)に到る因果の連鎖を分子間の相互作用や、細胞間の相互作用として記述する方法の開発である。われわれは、これまで第一から第三の目標に挑み、プロトタイプとなるシステムを開発してきた。現在は、これまで開発してきた要素システムを薬物の研究や、毒性研究の実際問題に適用しながら第四の目標にどう挑んだらよいかを模索している。具体的には内分泌かく乱物質問題を例として、システムの検討を始めている⁷⁾。

3. 具体的な開発計画

MOBI-DICSの個々の要素システムについては⁸⁾内容を更新中の医薬品データベースを除きすでに公開使用実験を重ね、改良を続けている。MOBI-DICS実現の一番大きなポイントは、要素システムを如何に連結するかである。幸い、MOBI-DICSのすべての要素システムには、化合物(低分子化合物および生体高分子化合物)が含まれている。さらに、それらの多くにはCAS番号がつけられている。

そこで、各データベースとそこに含まれている化合物のリスト(インデックス)をまず作成し、これを手掛かりに、すべてのデータベース同士を連結することが可能である。ただし、この方法では低分子化合物データベース同士、生体高分子化合物データベース同士は統合できるが、双方を連結することはできない。そのためには、低分子化合物の中に標的となる酵素や受容体など生体高分子の情報があり、逆に生体高分子化合物のデータベースの中に低分子化合物の標的となるリガンドや結合に関する情報がなければならない。残念ながら、医薬品においてさえこうした情報は完備していない。したがって、われわれ自身で医薬品や毒性化合物ごとに、それらの標的となる生体分子をしらべていかなければならない。これは手間のかかる仕事であるが、現在少しずつ進めている。

こうした手法をベースにした連結のための作業は現在進んでおり、2000年の夏までにWWW対応のプロトタイプを完成できる予定である⁹⁾。

4. 全所的な研究支援基盤システムへの拡張

われわれの究極の目標は、医薬品開発や毒性研究を全体として支援する基盤システムやツールの開発であり、MOBI-DICSはそのためのプロトタイプである。したがって、問題はそれをどのように全所的な基盤システムに拡張し、国立衛研のCOEとしての機能を担う開かれた基盤的なリソースに発展させていくかである。

4.1 データベースの拡充

MOBI-DICSに含まれている化合物データベースはわれわれが長い時間をかけて、少しずつ整備してきたものがほとんどである。だが世界の同じような化合物データベースと較べると数は少ない。そこでMOBI-DICSの第一の拡充は、フリーで手に入る化合物データベース(例えば米国立がん研究センター(NCI)の約127,000化合物の分子構造データベース)や商品となっている化合物データベースを購入するか、ネットワークなどで閲覧可能な環境をつくることである。

例えばMDL社から購入している化合物データベースとして、ACD-3D, CMC-3D, MDDR-3Dなどがある。これらを

所内のユーザに利用できるようにすることは可能である。ただしこれらはインターネットでアクセスしてくる外部ユーザに公開することはできない。

4.2 医薬品および候補化合物ライブラリの開発

わが国で使われている医薬品は一般名では数千、商品名では数万のオーダーである。先進各国の医薬品の数もだいたい同じくらいのオーダーである。一方、医薬品会社がスクリーニング対象とする化合物は100万のオーダーであり、化合物プロバイダーと呼ばれる大手企業が扱っている化合物の数も数十万から数百万のオーダーである。現在、情報部は有機化学部と協力して、JANのデジタル化に取り組んでおり、平成12年の夏までに一般名の入力終了する予定である。これ以後は年に数十品程度のペースで更新していけばよいので管理可能と考える。

医薬品研究や毒性の基盤となる化合物データベースは、他の部でも開発されている。例えば生薬部はわが国の植物と成分化合物のデータベースを開発している。変異遺伝部はスクリーニング実験データを有しており、報告集も出しているから、それをデータベースとするのは簡単である。食品や食品添加物データなども、それぞれ独自に化合物データベースにでき、それらをMOBI-DICSと連結することもできる。内部のユーザに限定すればこれらのデータベースは統合的に利用できるし、共同研究者の利用に呈することも可能であろう。

このような国立衛研の化合物のデータベースは全体として生体に何らかの作用がある化合物のデータベースとして、わが国の研究者の基本レファランスになるであろう。例えば米国立がん研究センターの分子構造データベースNCI-3D(<http://chem.sis.nlm.nih.gov/>)やNIEHSのNTP(<http://ntp-server.niehs.nih.gov/>)などの公開データベースはNCIやNIEHSのステイタスを高からしめるものである。国立衛研でもそうした基盤的な化合物データベースを開発して公開すべきであろう。それは国立衛研をCOEたらしめる助けとなるだろう。

4.3 薬物代謝、輸送の知識ベース

われわれはCBI学会との協力プロジェクトとして、PHII計画を提唱しているが、その中でチトクロームP450(CYP)など薬物代謝酵素やトランスポータに関わるデータや知識を整理してデータベース化しようとしている。これについてはすでに専用のウェブサイトを開設しているが⁹⁾、とくにCYPについては、データベースに基づき、質問に応じて副作用や相互作用を警告するプロトタイプシステムの形で開発している。

ただし、われわれの知識ベースは米国の医薬品に関する情報を基礎にしているため、日本の医薬品に関する情報が必要である。こうしたデータや知識は頻繁に更新されねば

ならない。したがって情報コンテンツの整備は、専門家のチームで行われるべきであると考えている。

4.4 Receptor DBの拡充

現在の受容体データベース (RDB) には、受容体タンパク質の構造および機能に関する情報、遺伝情報、結合親和力情報、転写因子や転写領域に関する情報等が含まれているが、これらの内容をさらに充実する。さらに各国の医薬品データベースと相互に連携させるとともに、連携の基礎となるリガンド情報を拡充することを心がけている。

4.5 CSNDBの拡充

CSNDBにはさまざまな拡張方向が考えられる。第1はヒトに限定されている現在の知識を充実することである。第2は多細胞生物、とくに分子生物学のモデル生物とされる各種の生物のシグナル伝達系の知識を加えることである。第3は、医薬品開発や臨床応用を考慮して、目的指向にパスウェイやネットワーク分類して、知識を充実していく方向である。さらにより柔軟な経路検索機能を持たせること、各ノードにおける分子の相互作用の記述をより詳しくすることなどである。いずれも、これまでのような小人数では開発を続けられないので、体制づくりも急務である。

4.6 解析、計算ツールの拡充

各種の分子計算技法や配列解析のプログラム、結合解析、構造活性相関解析、構造からの毒性予測など、さまざまなソフトウェア (ツール) が必要である。これらについては、フリーソフトを導入したり、あるいは商品ソフトを購入したりして整備している。その中のあるものはNICIの共有リソースとして整備されたものであるが、情報部独自で整備したものもある。とくに、フラグメント分子軌道(MO)法は、中野らが共同研究者の北浦らと開発している生体高分子系も扱えるMO法の高精度の近似計算方法である⁽⁵⁾。いずれにしても、これらを活用しなければ宝の持ち腐れである。これからはリソースの整備状況を知らせて、利用者を募るなどして、この種のリソースのユーザを増し、利用スキルの向上にも務めたいと考えている。以下にこのようなリソースをあげる。

非経験的分子軌道法プログラム	Gaussian98
分子設計支援ソフトウェア	InsightII
配列解析プログラム	GCG
3D構造活性相関プログラム	CoMFA
フラグメント分子軌道法プログラム	ABINIT-MP

5. 応用事例

MOBI-DICSとその拡張システムは、国立衛研のさまざま

な研究業務の役に立つのではないかと考えている。また研究に関係した行政対応にも役立つと考える。以下にいくつかの例を挙げる。

5.1 SNPsプロジェクトへの対応

欧米のSNPsコンソシアムを嚆矢として、わが国でもSNPs探しのプロジェクトが続々と旗揚げし、データの蓄積も急ピッチで進んでいる。SNPsはマイクロサテライトと共に、塩基配列の典型的なバリエーションである。これらのデータは疾病に関連した遺伝子の探索などに利用される。ただし、MOBI-DICSへの応用はより限定的であり、薬物代謝酵素やトランスポータ、受容体やCSNDB、転写因子データベースに集録されているタンパク質のバリエーションのデータとなる。そうしたデータは人種差や個人差に対応したものである。この視点で見れば、SNPsデータが増えるごとに、その中から、MOBI-DICSの要素データベースの中のタンパク質と関係しているものだけを選択的に取り出して、該当するタンパク質の情報として追加しておくことが必要である。これは、SNPsデータ源とある種のデータベースの中のタンパク質とを結ぶ問題となる。この種の問題を解決するソフトウェアが極めて一般的な性格を有していることは明らかであろう。われわれはすでにこうしたプログラムを開発中である。

5.2 マイクロアレイ、プロテオミックスデータの解析

マイクロアレイやプロテオミックスは、ゲノムワイドな遺伝子発現やタンパク質合成を計測する革新的な技術として注目されている。しかし、これらの計測方法で生成される大量のデータをどのように解析するか、解釈するかが新たな問題として浮上してきている。これに関しては、Silicon Geneticsなど商品となっているパッケージソフトウェアがいくつも開発されているが、まだ不十分である。われわれは、薬物代謝酵素関連知識ベースやCSNDBがこうした問題に応用できると考えている。これについてはCBI学会のグランドチャレンジの一課題であるMicro AI計画として共同研究者を募って具体的な開発を進めるべく準備中である。

5.3 リスクアセスメントの方法論

MOBI-DICSは化学物質のリスク評価研究の基盤でもある。まずMOBI-DICSには、リスク評価が行われている化合物情報を、ファクトデータとしてデータベースに直接収録するか、あるいはそうしたデータベースへリンクしている。これによりユーザはリスク評価がなされている化合物ごとの情報が入手できるようになっている。また異なる生物を用いた実験データを比較するための便利な環境も用意されている。さらに現在、例えばIPCSのリスク評価の方法論などを参考として、われわれのいう Gate Pointから

Endpointsに到る因果の連鎖を知識ベースとするような研究を始めている。

ただし、近未来に最も確実に期待できるのはDNAチップを用いた毒性の判定システムの開発だろう。こうした開発にはDNAチップからの大量データの解析が不可避であり、薬物代謝酵素やトランスポータに関する知識ベースやCSNDBはそうした解析に重要な働きをするだろうからである。

5.4 行政対応業務の支援

(1) QSAR

MOBI-DICSは行政からの依頼による研究にも対応している。例えばQSAR（定量的構造活性相関）である。これは化合物の環境影響をコンピュータプログラムで判定させられないかという可能性であり、OECDの化学物質安全性会議などで、主として米欧日の3者で検討されてきた。残念ながらわが国にはこの問題で行政をバックアップできる研究者がいなかった。われわれはMOBI-DICSを開発整備しながら、この要請に応える研究も始めている。

(2) 基盤研構想

大阪の基盤研究所（仮称）構想は、少しずつ論議が深まっている。最終案がまとまるまでには、まだ紆余曲折があると思うが、われわれも多少の案を提言している。いずれにしても、もし基盤研が創薬を中心とする研究所になるようならば、国立衛研とは研究面においても強い絆で結ばれるであろう。このときMOBI-DICSはまさに2つの研究所を結ぶ絆として機能するだろう。

6. 外部との協力関係

MOBI-DICSと関連リソースは所内利用や厚生省からの行政対応業務だけでなく、国内、国外の研究者に広く利用してもらうことが理想である。実際MOBI-DICSのリソースの一部はすでに国際的な評価を得ている。また、JANの電子化をめざすわが国で認可されている医薬品に関するデータベースは、将来、医薬品関係者の必須の情報源になるであろう。また薬物代謝酵素やトランスポータの知識をベースとした副作用や相互作用警告システムは、わが国の医療の薬剤部門で必要不可欠の情報リソースとなるであろう。すなわち、MOBI-DICSとその拡張システムは、医薬品や安全性研究の研究者だけでなく、臨床においても利用されうる重要なリソースとなるであろう。

このようにMOBI-DICSとその関連システムが広く使われるようになれば、ユーザからのフィードバックにより、システムを改善していくことができる。それ以上に興味深いのは、ここに一種の研究者コミュニティが形成される可能性があることである。MOBI-DICSはこのようなコミュニティによって育てられるべきであると考え。言い換え

れば、これはMOBI-DICSを基盤リソースとするインターネット上の仮想研究所を意味する。こうした仮想研究所を産官学の共同研究のネットワークと見ることもできる。インターネット時代のCOEとは、こうした仮想研究所を組織できる能力のある研究センターでなければならない。これは国の研究機関としてのミッションでもある。

MOBI-DICSの要素システムは、これまでも多くの外部の研究者や協力者の協力で開発されてきた。そうした協力者はCBI学会の活動の中で得られたものである。NICIの基礎づくりは、CBI研究会の人的なネットワークに支えられていた。MOBI-DICSが順調に発展していけるかどうかは、これからもCBI学会¹¹⁾を介した協力関係がうまく行くか否かにかかっていると言える。

7. おわりに

われわれは国立衛研の情報計算基盤であるNICIを段階的に開発、整備してきた。その第1段階は全員の電子メールの利用をめざしたコミュニケーションのためのネットワークであるが、これはいまや研究所に限らず、すべての組織に必要なインフラストラクチャーとなった。第2段階はWWWによる情報の収集と発信のための環境であり、検索エンジンやデータベースの統合検索環境である。これは研究所の研究効率の向上と共に、研究成果の社会への還元、情報公開や説明義務（Accountability）に対応したものである。この2つの段階については、すでに開発と公開実験が終わり、安定的な成長路線に移っている。

現在取り組んでいる第3段階は、研究業務そのものの支援である。そのプロトタイプが開発中のMOBI-DICSである。こうしたシステムは医薬品研究や化学物質の毒性に関わる研究など、当所の幅広い研究を支援する基盤環境である。それはまた、国立衛研をCOEたらしめる戦略的な環境である。

上記の第1と第2段階の開発により、情報部がこの所にとって、また厚生省にとって、「役に立つ」研究グループであることは証明できたと考えている。第3段階は情報部が国立衛研のある分野でのCOEたらしめるとともに、自らも優れた研究グループであることを証明するための挑戦である。しかし、これまでと同じように今度の挑戦課題も、他の部の協力を必要とする。この新しい挑戦に他の部の協力が得られることを願っている。

謝 辞

MOBI-DICSの要素データベースの開発には、山本都、大竹千代子、山本美智子、長谷川式子、瀧明子、小峰啓氏らの協力をえている。またシステム開発については、アドイン研究所の協力をえている。ここに感謝する。

参考文献

- (1) 中田琴子, 中野達也, 高井貴子, 小峰 啓, 神沼二真: 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現状. 国立医薬品食品衛生研究所報告 (本号)
- (2) 神沼二真, 中田琴子, 中野達也, 高井貴子: 内分泌攪乱物質 (環境ホルモン) 研究を支援する情報計算基盤の概念について, 第21回情報化学討論会講演要旨集 pp90-93 (1998.11 東京)
- (3) 鈴木聡子, 川出達, 瀧明子, 長谷川式子, 山本美智子, 中野達也, 宮田直樹, 神沼二真: 日本医薬品一般名称のデータベース化, 第1回CBI学会 (2000.7 東京)
- (4) Nakata, K., Takai, T. and Kaminuma, T.: Development of A Receptor Database: Receptor DB. *Bioinformatics*, vol.15, pp.544-552 (1999)
- (5) Kaminuma, T., Takai-Igarashi, T., Nakano, T., and Nakata, K.: Modeling of signaling pathways for endocrine disruptors, *Bio Systems* 55 (2000) pp.21-31
- (6) Takai-Igarashi, T. and Kaminuma, T.: A Pathway Finding System for the Cell Signaling Networks Database, *In Silico Biology*, 1, pp.129-146, (1999).
- (7) MOBI-DICS, 受容体データベース, CSNDBのURLは以下の通りである.
<http://dcbint3.nihs.go.jp/MOBI/>
<http://impact.nihs.go.jp/RDB.html>
<http://geo.nihs.go.jp/csndb>
- (8) MOBI-DICSの統合, *BIO Systems* 55 (2000)
- (9) PHIIのURL: <http://molddb.nihs.go.jp/PHII/>
- (10) Kitaura, K., Sawai, T., Asada, T., Nakano, T. and Uebayasi, M.: *Chem. Phys. Letters* 312 (1999) 319-324; Kitaura, K., Ikeo, E., Asada, T., Nakano, T. and Uebayasi, M.: *Chem. Phys. Letters* 313 (1999) 701-706; Nakano, T., Kaminuma, T., Sato, T., Akiyama, Y., Uebayasi, M. and Kitaura, K.; *Chem. Phys. Letters*, 318 (2000) 614-618
- (11) CBI学会のURL: <http://www.cbi.or.jp/>

CICAD (国際簡潔評価文書) 計画からわが国の 化学物質リスク評価が学ぶこと

関澤 純

What We Can Learn on Risk Assessment of Chemicals from the Concise International Chemical Assessment Document (CICAD) Project

Jun Sekizawa

IPCS (the International Programme on Chemical Safety) has launched a new project on the Concise International Chemical Assessment Document (CICAD) as one of its major targets, which is to assess health and ecological risk from exposure to toxic chemicals in the environment through international collaboration. In this project, the author and others successfully established a framework in fulfilling ambitious aims of developing concise, but useful risk assessment documents on chemicals, while assuring credibility and efficiency in the process, and incorporating new ideas from ever developing risk assessment methodology and related sciences. This combination of usefulness in the outputs, the credibility and efficiency in the process, and the flexibility in the ideas reflecting scientific progress, shows a good example of what we should do in improving our risk assessment in this country and developing assessment documents.

Keywords: IPCS, Concise International Chemical Assessment Document (CICAD), risk assessment of chemicals

1. CICADとは

CICAD計画は、1992年「地球サミット」後の「化学物質安全政府間会議 (IFCS)」の要請を受けて、「化学物質による人の健康と環境へのリスクの評価を国際協力により推進する」というIPCS (国際化学物質安全性計画) のもっとも中核をなす事業の新しい柱としてスタートした。すなわちCICADには環境化学物質による人の健康と環境中生物への影響を総合的に検討しリスク評価を行った結果が簡潔にまとめられるが、その詳細については当所ホームページおよび別に紹介^{1,2)}した。

ここではCICAD計画と、わが国のリスク評価システムの今後のあり方を関係づけて記す。最終産物としてのCICADのイメージと、信頼性と効率性を保証したシステムを確立するために、筆者を含む国際的な「推進グループ」はCICADの誕生と育成のほぼ3年をかけて、次のような枠組みをつくりあげてきた。

- (1) ナショナルレビューをベースに簡潔で国際的に有用なリスク評価を目指す
- (2) 外部からの批判による検討を効果的に行い、信頼性と効率性を保証する
- (3) 国際的なハーモニゼーションを視野に最新のリスク評価の考え方を積極的に適用する

2. ナショナルレビュー：情報の信頼性の基盤

ナショナルレビューとは、各国で作成している信頼性ある安全性評価資料を指す。評価には膨大な手間と時間を要するにもかかわらず、経験あるリスク評価の専門家が国際的にも限られていることから「推進グループ」は、各国がそれぞれの目的に応じて信頼性の高い評価資料を公表していることに着目し、これを国際的な協力のベースにしようと考えた。CICADの基礎とするナショナルレビューについては、少なくともその要約が英語で公表されていることが必要だが、より重要なことは信頼性である。

信頼性が保証されるためには、その国のレビュー作成プロセスがどれだけ外部からの批判による検証を経ているかが鍵となる。これは研究論文の信頼性が、他の専門家によるきちんとしたピアレビュー (外部による批判検討プロセス) を経る学術誌に論文として受理されているか否かで判断されるのと同じである。CICAD作成のために自国のナショナルレビューを基礎として使いたい時には、ナショナルレビューを作成するメンバーの構成と、メンバー外からの批判・検討プロセスの実態について説明させられる。CICADはその物質のリスク評価にもっとも重要な情報のみを詳しく記述し、全体として簡潔である (30-40頁) ために、周辺の詳細なデータに関してはナショナルレビューを参照してもらうことにしている。

3. 外部からのコメントシステム： 透明性と信頼性の源泉

国際機関である IPCS が外部コメントを効果的に収集することは容易ではない。われわれは Fig. 1 に示すような CICAD 作成プロセスのフローチャートを作り、IPCS ならではのユニークな方法を考えた。基礎として用いるひとつのナショナルレビューでは CICAD で必要とされる内容を分野的にカバーしきれない時には、他のナショナルレビューや国際機関のレビューから情報を補い、たとえば労働衛生分野のナショナルレビューには、一般市民の健康影響評

価や、環境中の生物への影響評価を追加する。国や地域により異なる情報も追加し、さらにナショナルレビュー作成以降の新しい情報も検討して CICAD 原案を数ヶ月で作り上げる。

作成対象物質はあらかじめ公表されているので、これにコメントを提供する用意があると表明した各国の関係者や関係団体に IPCS の事務局から原案を送付（電子メールが使われる）し、3ヶ月程度の期限でコメントを収集する。

スペルミスなど文章上の訂正は最後の編集過程で対応するので、重要なもの以外は受けつけない。評価の考え方についてのコメントや、新たな情報の追加要求は、根拠文献

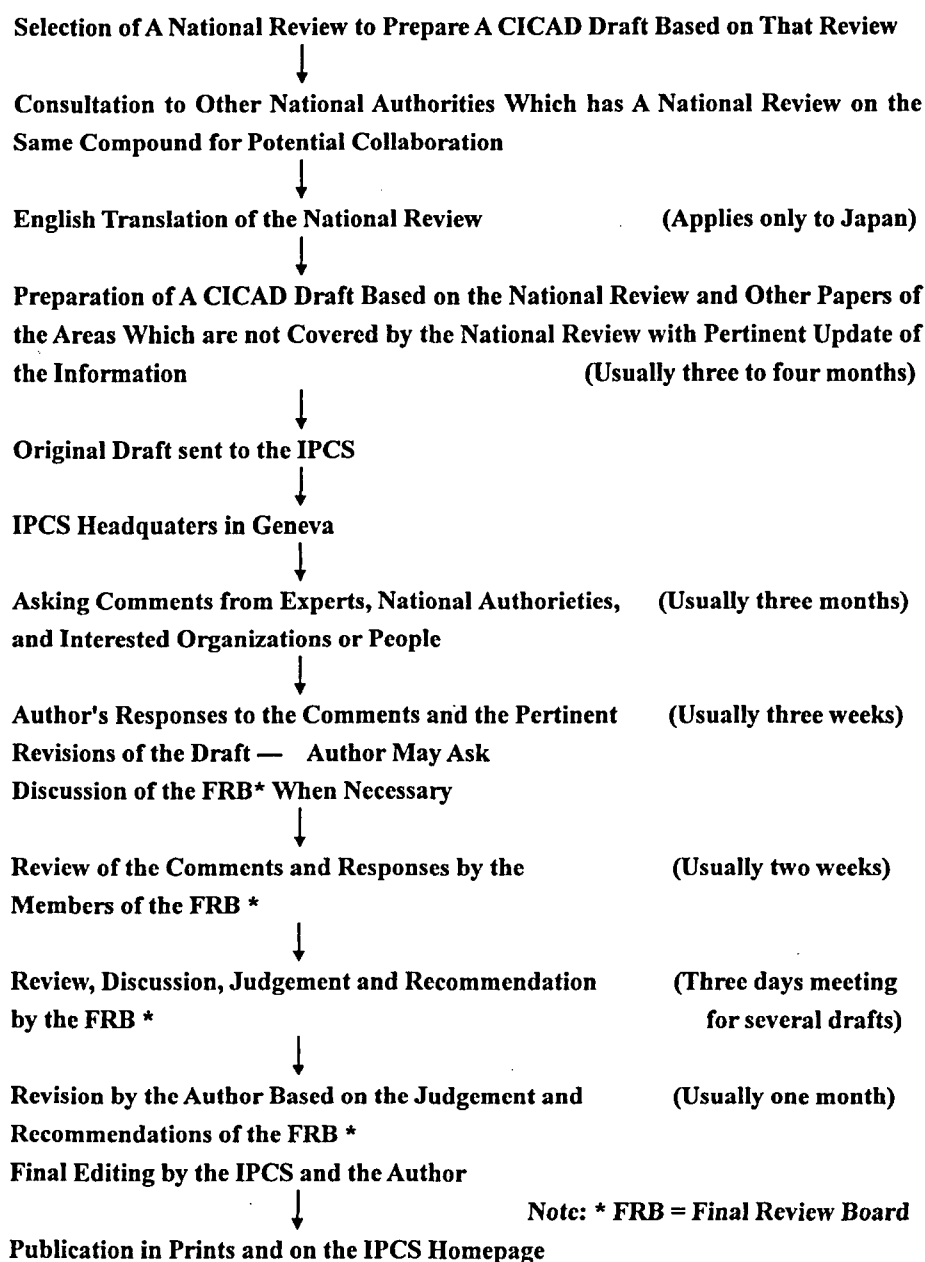


Fig.1 CICAD development process

It takes about one year from start of preparing an original draft to finalizing the draft to be published. The document is usually published in the next year and the executive summary is shown in the IPCS homepage.

No	Rev	Comment	Author's response	FRB
General (Classification of comments)				
	1	Only dose levels at which there were no effects observed have been specified; all have been designated as "NOAEL"s. The authors need to distinguish between "effect" and "adverse effect", i.e., NOAEL versus NOEL. Similarly, the (higher) dose levels at which effects were observed should be specified and designated as either LOELs or LOAELs so that dose-response is adequately characterised.	As seen in the reference, most critical studies for health effects are cited from the JMPR monograph on fentin compounds which summarises unpublished reports submitted by the manufacturers for toxicological evaluation by the JMPR. Therefore author could not see detailed original data to examine dose-response etc. The JMPR monograph uses the term, NOAEL, in all cases without describing the severity or the extent of changes detected (relative liver weight decrease or lymphocyte decrease, etc.), that the author finds difficulty in deciding whether NOEL or NOAEL is appropriate word to be used.	*

Comments and author's response to the comments are arranged in a table format. They are reviewed by the members of the final review board (FRB). This example shows a part of a long comment.

* If the discussion by the FRB is required, the judgement of the FRB is described in the final column.

Fig.2 Presentation and recording of the comments and responses to comments with the judgement of the final review board in a table format

を添付し、変更すべき内容を明示して送ってもらう。物質にもよるが通常数百件のコメントが寄せられ、コメントの内容をIPCSから委託された専門家が表に整理する。CICAD原案作成者はコメント採否の判断をその根拠とともに表の回答欄に記入する。討議を要する問題については、次に述べる最終検討会議の討議に判断をゆだねる旨を記入する (Fig. 2)。実際には最終検討会議のメンバー自身も多くのコメントを寄せる。

4. 最終検討会議：問題点の吟味とリスク評価の判断

CICAD原案と、原案作成者による回答の表は、最終検討会議のメンバー（現在わが国からは、筆者と当所病理部の西川室長がメンバーとなっている）である国際的な専門家のグループに送られて、チェックを受ける。国際的な専門家グループはさまざまな分野を代表する各国のリスク評価の専門家から構成され、最終検討会議はコメント収集・整理後、通常2ヶ月以内に開かれる。最終検討会議には、メンバー以外にも関心を持つ団体やその物質について特別に知識を持つ専門家の参加が認められるが、会議の最終判断はメンバーにまかされており、メンバーは会議参加前に検討対象物質について利害関係を有しないことを明言した誓約書を毎回提出させられる。

最終検討会議のメンバーは、会議前に原案と原案作成者によるコメントへの対応を十分検討した上で出席し、未解決の問題および今後の作成全般にかかわる問題に限って討論する。最終検討会議は年2回開かれ、3-4日間に5-6物質のCICAD原案を検討する。あらかじめ問題を十分検討しておくことで、各国の安全性評価の責任を負っている専門家であるメンバーを長期間拘束せず、大切な問題点のみを重点的に検討できるようにしている。

最終検討会議で検討されたCICAD原案は必要な訂正を加えた上で、IPCSの国際的評価資料として採択してよいか賛否を問われ、不十分な場合は再審議とされる。会議の結論は議長、ラポター（書記）によりただちにまとめられ、原案作成者はその結論に沿ってCICAD案を訂正、加筆し、IPCS事務局が編集作業を行いほぼ翌年には公表（インターネット上と、印刷物の両方）される。

5. リスク評価手法のハーモニゼーションの検討： リスク評価手法の進歩の反映

IPCSは国際的なレベルで化学物質のリスク評価について検討する代表的な機関として最新のリスク評価手法について討議し、各国や地域（欧州連合など）でのハーモニゼーションに向けた動きのうち科学的な側面を取り上げて独自に検討を進めている。これまでさまざまな種類の毒性（神経、免疫、腎、遺伝毒性など）の評価の手法や、対象に応じた（物質としては農薬、食品添加物など、人としては妊婦、幼児、高齢者など）評価のあり方も検討してきた。

現在検討している重要な課題はリスク評価における不確実性要因の分析と、代謝や感受性の違いの幅の適切な評価の問題などである。従来動物試験における無毒性量から許容量を導くために、人と動物の種差、人の個体差のそれぞれを10倍までと仮定して、多くの場合100倍の不確実係数をほぼ一律に適用してきた。しかし現在では毒性、代謝、メカニズムの研究の進歩を踏まえて、個々のデータに即して、より正確な安全性評価を行う手法の開発が求められている。本課題についてのIPCSワーキング・グループ（筆者はその一員）は事例を用いて具体的に吟味するため、リスク評価の専門家を集めた国際ワークショップを2000年5月に開催した。

6. CICAD作成の進捗状況

リスク評価の新しい仕組みとして発足したCICADは、これまでTable 1に示すようなものが作成され、あるいはすでに出版されている。国際的にさまざまなリスク評価が行われておりそれらとの重複を避けるようになっている。たとえば農薬の安全性評価は世界保健機関 (WHO) と国連食糧農業機関 (FAO) の合同専門家グループに任せているし、また最近他の国際機関により評価された (WHOの欧州事務局は、近年ダイオキシン類の耐容一日摂取量評価のほか、数多くの大気中有害物質や飲料水汚染物質についての評価結果を公表している) 物質は再評価しないことになっている。

CICAD作成対象物質の選択基準は、(A) 最近の信頼性高いナショナルレビューがある、(B) リスクの可能性が十分考えられる、(C) 国際的な関心が高い、となっている。

Table 1

CICAD List	Publication		FRB *1	Autors *2
	Volume	(Year)		
Azodicarbonamide	No.16	(1999)	3	HSE
Barium and its compounds			7	EPA & HSE
Benzoic acid and sodium benzoate			6	BUA
Beryllium and its compounds			7	EPA
Biphenyl	No.6	(1999)	2	BUA
1,3-Butadiene			7	EPA
2-Butoxyethanol	No.10	(1998)	2	NIOSH & ITE
Butyl benzyl phthalate	No.17	(1999)	3	EHD
Chloral hydrate			6	EPA
Crystalline silica, quartz			6	NIOSH
1,2-Diaminethane = Ethylenediamine	No.15	(1999)	3	HSE
3,3-Dichlorobenzidine	No.2	(1998)	1	EHD
1,2-Dichloroethane	No.1	(1998)	1	EHD
2,2-Dichloro-1,1,1-trifluoroethane = HCFC-123			6	NICNAS
Dimethyl formamide			7	EHD
Diphenylmethane diisocyanate = MDI			5	NIHS & EPA
Ethylene glycol			4	ITE
2-Furaldehyde			4	HSE
Limonene	No.5	(1998)	1	KEMI
Manganese and its compounds	No.12	(1999)	2	ATSDR
Elemental mercury and inorganic mercury			7	ATSDR
Methyl chloride			5 *3	KEMI
Methyl methacrylate	No.4	(1998)	1	EHD
N-Methyl-2-pyrrolidone = NMP		(1999)	5	KEMI
Nitrophenols			4	BUA
Phenyl hydrazine			4	HSE
N-Phenyl-1-naphthylamine	No.9	(1998)	2	BUA
1,1,2,2-Tetrachloroethane	No.3	(1998)	1	EHD
1,1,1,2-Tetrafluoroethane	No.11	(1998)	1	HSE
o-Toluidine	No.7	(1998)	1	HSE
Tributyltin oxide	No.14	(1999)	3	EPA
Triglycidyl isocyanurate	No.8	(1998)	2	NICNAS
Triphenyltin compounds	No.13	(1999)	3	NIHS
Vanadium pentoxide and other inorganic vanadium			7	HSE & ITE
Draft in preparation				
Alkyl phenols and alkyl phenol ethoxylates				
Diethyl phthalate				
Respirable particulate matter				
Hydrogen sulfide				
Uranium				

Table 1 List of the Concise International Chemical Assessment Document (CICAD) developed as of the early half of 2000

IPCSは国際的に評価の定まっていない物質については環境保健クライテリア (Environmental Health Criteria) というレビュー文書を作っており、CICADの対象には取り上げない。このため、たとえば一部の「環境ホルモン物質」については国際的な議論の結論を待っているものもあるが、現時点で一定の評価をくだすことが可能なフタル酸ブチルベンジルやトリブチル錫、トリフェニル錫についてはCICADを作成し、現在はフタル酸ジエチルについてCICAD原案の作成を開始している。

7. ホームページへの紹介と翻訳・出版

CICAD計画については前記のようにさまざまな機会や、当所ホームページで紹介してきた。現在はこれまで出版されたものの和訳を進めており、できたものから当所ホームページ (<http://www.nihs.go.jp/cicad/cicad2.html>) で紹介し

*1 FRB : the round of the Final Review Board

*2 Authors

ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, USA

BUA: Federal Ministry of the Environment, Germany

EHD: Environmental Health Directorate, Health Canada

EPA: Environmental Protection Agency, USA

HSE: Health & Safety Executive, UK

HSH: Department of Human Services and Health, USA

ITE: Institute of Terrestrial Ecology, UK

KEMI: Swedish National Chemical Inspectorate, Sweden

NICNAS: Australian National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme

NIHS: National Institute of Health Sciences, Japan

NIOSH: National Institute for Occupational Safety and Health, USA

*3 Redrafting requested

ており、別途出版することを計画している。

8. CICADはわが国のリスク評価に何を指し示すか？

8.1 リスク評価システムの確立とナショナルレビューの作成

CICAD作成の基礎には公表された詳細なナショナルレビューの存在が前提であり、ナショナルレビューの信頼性の保証には、作成・評価プロセスの透明性に基づく批判的検証が前提となることを示した。

しかし残念ながら、わが国ではこのような基準に適合するナショナルレビューはごく最近までなかった。一例をあげる。トリフェニル錫のCICAD原案をつくるための資料として、「化学物質審査規制法」で1984年にトリフェニル錫を第2種特定化学物質として指定した際に用いられたレビューを厚生省から入手した。本資料はどちらかという毒性文献レビューであり、定量的なリスク評価資料としての面からも、また作成過程の透明性という点からもCICAD原案のために用意された他の国のナショナルレビューと同様なものといえ難かった。そこでトリフェニル錫について、毒性（用量-反応関係を含む）、曝露、メカニズムの最新のデータを新たに収集し、これらを基に英文で新規の詳細なレビュー案を作成、この案をすでに発足していたCICAD作成のための国内委員会および関係者に検討していただき、まとめたものを、わが国のナショナルレビューに準ずるものとした。

その上で本レビューを基にして、人の健康と環境中生物についてメカニズムの考察を背景にもっともクリティカルな影響を検討し、リスクの定量的な評価を行いCICAD案を作成した。基礎とすべきナショナルレビューがなかったのでナショナルレビューの作成、CICAD案の作成、およびさまざまな分野の方からのご意見を伺うためにほぼ1年を要し、結果として既存のレビューの活用による効率的なCICAD作成という趣旨に沿わないことになってしまった。

CICAD作成の有無にかかわらず、外部からの批判による検討を保証し、きちんと判断根拠を示すリスク評価システムの確立は本来不可欠であり、これなしには科学的で信頼性を保証したベースに基づく有害物質対策の目標はきちんとたてられない。

8.2 ピアレビューの考え方の確立

CICAD作成のためにコメント収集（外部からのピアレビュー）を行う。コメントを出す用意のある人や団体をあらかじめIPCSに電子メールアドレスを登録しておく、CICAD原案が送られてくる。筆者は国内の化学物質の安全性評価、安全管理の専門家やCICAD国内協力委員会のメンバーの方（労働衛生、健康あるいは環境リスクの評価、化学物質安全管理の専門家、計7-8名になっていただ

ており、委員会の開催時には関係省庁にはオブザーバーとして出席を願っている）にCICAD原案が送られてくるように、IPCSにメールアドレスを登録させていただいた。現在登録してありCICAD原案が送られてくる先は世界でわが国が一番多いが、コメント整理表で見る限り、わが国から送られるコメントは筆者のものを除いてほとんどないに等しい。

これはわが国のリスク評価を理解する専門家の層の薄さ、したがってそれらの方々がたいへん忙しくとても余裕がないという事実、さらにピアレビューを経てナショナルレビューを作るというシステムが十分確立していないための経験の少なさを反映していると思われる。さらにいうならば、毒性評価、環境分析や安全管理の専門家はいても、リスク評価の考え方を身につけた専門家が非常に少ないともいえる。

ピアレビューの重要性ということで、筆者は最終検討会議で思わぬ経験をした。トリフェニル錫の正確な食品経由摂取量データはわが国の厚生省研究班が行ってきている調査データ以外に世界になかったので、このデータをトリフェニル錫のCICADにおけるリスク評価への貴重な情報として採用しようとした時にクレームが出た。トリフェニル錫についての食品汚染物摂取量調査データが公表されたデータでなかったことに対してであり、外部からの批判による検討を経ていないようなデータをリスク評価の例に引用するのは良くないという意見が強かった。筆者は厚生省研究班の調査が、分析法やデータの処理においてきちんとした手続きを経ていることを説明して、ようやく理解され引用できた。このことは、メンバーが政府の権威のような外形的なものでなく、実質的な信頼性の保証を強く求めていることを示していた。

8.3 分野や省庁を超えた協力でリスク評価を行う

わが国では行政や企業が持っている情報を十分公表しないということが永く続いていたために、関係者が情報入手すること自体にかなりの精力を使うと同時に、一般に海外の情報を入手して依拠するという状況があった。この点では、最近インターネット社会となってきたこともあり、政府も安全性に関わる情報を公表しかなり自由に入手できるように改善しつつある。

しかし情報があってもリスクの評価がきちんと示されないと不安がおさまらないし、判断基準を確立しないときちんとした対策はたてられない。その良い例はいわゆる「環境ホルモン物質」問題であろう。この数年間「環境ホルモン物質」について国内では、書籍、テレビ、新聞、週刊誌、インターネットなど、あらゆるメディアを通じてさまざまな情報がこれでもかというほどに提供された。しかし人々の不安は解消されず、リスクの観点からいうと問題になりにくい事柄に強く関心が寄せられたり、より関心をもつべ

き事柄に十分関心が寄せられないという状態が生じた。

昨年度末には小渕前首相の唱導として「ミレニアムプロジェクト」という新規の技術開発提案の公募があった。この内容を見ると公募されていた課題の内容は個別のテクニカルな問題に限られる傾向にあり、分析的な研究を基に得られた科学的な知識を結集・総合して今後の社会のあり方を指し示すようなプロジェクトは考慮されていないように見受けられた。今要求されることは、従来のように個別の研究を個別に進展させるだけにとどまらず、それらの知識を総合してわが国の進路や、さまざまな問題への対策を示しそれを実行できるシステムを確立することであろう。

個々のデータや情報を寄せ集めることはこれまでも行われてきたが、情報の寄せ集めだけではあるべき方向の判断はできない。わが国では、リスクとその評価への理解が十分広がっていないこともあって、CICADへの関心の輪は必ずしも大きくはない。しかしダイオキシン類のリスクについてはWHO（世界保健機関）やわが国がその時点で入手可能な知識を総合して評価を行い、耐容一日摂取量を設定することで適切な対策を進めるための目標ができたように、科学的なリスク評価を行い目安となる基準を示すこと

の意義はたいへん大きい。自らの健康や環境について、どの有害物質がどの程度のリスク（危険の可能性）を持つ科学的に予測し、どのような対策が必要であるかの見当をつけるリスク評価は地味であるが、有害化学物質対策の基礎となる目安を提供する非常に重要な仕事であるといえよう。リスク評価は、膨大な専門的な労力の総合が要求される作業であり、かつ安全性評価を支える科学は日進月歩している。この進歩を踏まえながら、的確で有用なリスク評価を進めてゆきたい。

文 献

- 1) Sekizawa, J. (1996) Concise International Chemical Assessment Document (CICAD): a new chemical safety series in IPCS, internationalizing national reviews, *Bull Natl Inst Health Sci.*, **114**, 89-94
- 2) Sekizawa, J. (1997) Aiming at making use of risk assessment of the chemicals for the world - IPCS activity on harmonization of risk assessment of chemicals, *J.Toxicol.Sci.*, **22** (1), App.35-43

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 (1999年度)

大竹千代子

First Drafts of the Environmental Health Criteria (EHC)
Circulated for Comments by IPCS in 1999.4 ~ 2000.3.

Chiyoko Ohtake[#]

Summaries of the first draft of Environmental Health Criteria (EHC), which were circulated for comments by IPCS in the period of 1999.4 ~ 2000.3, are presented. EHC drafts on 2 compounds were received in this period.

Keywords: EHC, IPCS

はじめに

1999年4月から2000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2件のみであった。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。配布した各ドラフトの要約について報告する。いずれもコメントは得られなかった。

ドラフトの要約
(日付は案内日)

No.1 Arsenic and Arsenic Compounds (砒素および砒素化合物) (99/6/9)

砒素は地球上の半金属 (メタロイド) の中で20番目に存在量の多い元素である。砒素は4つの原子価、-3, 0, +3 および +5 で存在する。砒素元素は水に溶けないが、亜砒酸カルシウム、砒酸カルシウムを除くほとんどの砒素塩は水溶性である。

砒素は3酸化砒素から製造され、3酸化砒素は金属精錬の副産物として得られる。世界の砒素生産の70%は砒酸クロム銅として木材処理に使用され、22%は農薬に、残りは硝子、医薬品、非鉄合金に使用される。海水中濃度は通常2 μ g/L以下 (火山のある所で3mg/L)、汚染されていない表層水や地下水は、1~10 μ g/L (人為影響のある所で5mg/L)

である。僻地や都市地域の大气濃度は、0.02~4ng/m³であり、都市域では3~180ng/m³に及ぶ (時に1000ng/m³を超える)。

無機および有機砒素は実験動物に対して、どちらも有害な影響を示す。毒性は、急性毒性による死亡から発がん性まで様々であり、基本的には砒素の形態や酸化状態に依存する。一般に有機型より無機型の方が毒性は強く、Ⅲ価の砒素はⅤ価より毒性が強い。ヒトの発がんメカニズムは良い実験モデルが無いため、解明が妨げられている。

砒素のヒトへの影響には、妊娠および神経系への深刻な副作用を示す急性毒性、および発がん性を誘導する慢性毒性がある。最近の20年は、呼吸や水の摂取による砒素暴露を評価する疫学調査と、潜在的な健康影響の研究が増加している。砒素の発がんメカニズムは非遺伝毒性とされていたが、最近、遺伝毒性を示す報告が増加してきている。さらに、有機砒素も無機砒素同様に細胞や染色体に影響を及ぼすことがわかってきた。

職業暴露の多くの場合は、接触によって、あるいは呼吸を通して起こる。疫学研究では、末梢動脈の病気、心臓器への影響、糖尿病、種々のがんなどが報告されている。

数種類の砒素化合物の無脊椎動物および魚類への濃縮係数は、20以下である。また、ある植物は2000mg/kgまで濃縮していた例がある。海洋ペリフィトン (*periphyton*) は15から60 μ g/L濃度で有害影響が見られた。水棲無脊椎動物では、Ⅲ価の砒素の48時間LC/EC₅₀が0.68から73.5mg/Lであるが、Ⅴ価の砒素はLC/EC₅₀が3.6から49.6であった。ミジンコによる28日間試験では、NOECは0.6から1.3mgAs³⁺/Lであった。淡水魚のLC₅₀はⅢ価の砒素で10.8から91mg/L、Ⅴ価の砒素で4.8から360mg/L以上であった。

(全278ページ)

[#] 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

No.2 Palladium (パラジウム) (99/9/2)

パラジウムは鉄鋼様の白色、延展性に富む金属元素で、ニッケルや他のパラジウムグループの元素に類似し、それらと共存する。金属パラジウム、+2価および+4価のパラジウムの状態で存在し、有機化合物も構成する。パラジウム金属は空気中で安定で、王水と硝酸以外の大多数の試薬に侵されない。

パラジウムの存在量、起源は、地殻にわずか (<1 μ g/kg) である。工業においては、ニッケル、プラチナ、および他の卑金属の精錬の際に副産物として取り出される。

飲料水中には通常、<10ng/l含まれている。また、小型水棲無脊椎動物や植物中に存在することもある。一般人は歯科用の合金や自動車触媒から暴露されるが、その量は極めて低い。都市の大気中パラジウム濃度は、100pg/m³以下である。

実験動物と試験管内試験結果では、パラジウムのLD₅₀は、化合物とそのルートによって異なり、2塩化パラジウム (PdCl₂) が最も毒性が強く、酸化パラジウム (PdO) は最も弱く、3から4900mg/kg体重の範囲である。毒性の強さは、静脈内、気管内、腹腔内投与、および経口投与の順である。

飲料水中に5mg/lの2塩化パラジウムを自然死するまで与えられたラットは、体重増加が抑制され、雄では生存率が高かったが、内臓の諸器官にアミロイドーシスが増加し、悪性の腫瘍がおよそ2倍に増えた。ラットの呼吸器への暴露試験では、血清や尿の指標から判断して肝臓と腎臓への障害が示唆されている。パラジウムダストのラット気管内への単回投与 (143mg/kg体重) では、6ヶ月後、組織学的に炎症性変化が肺に観察された。

一般人への影響として、自動車の触媒からの放出があげられている。また、パラジウムを含む歯科修復剤に暴露されて起こるパラジウム感作、皮膚接触による症状、口内炎あるいは粘膜炎症、疲労や喘息なども報告されている。パラジウムタイプの合金に暴露された人すべてが口内粘膜の症状を示す訳ではない (e.g.<20%)。Ag-Pd合金の装着後に血清免疫グロブリンのわずかな変化がみられた。パラジウムに感作されたりンパ球の *in vitro* 研究では、過敏症はある種の遺伝子型と関連があることが示唆された。非医原性の

影響 (例えば装飾品) によるものや、あるいは皮膚疾患に原因があるとされる不衛生な暴露からパラジウムによると思われる影響が報告されている。

2塩化パラジウムのパッチテストで、パラジウム感作がしばしばみられ、いずれの国においても婦人や年少者では、皮膚科患者に7-8%のパラジウム感作症が存在すると報告されている。他のアレルギーと比べても、パラジウムはしばしば7倍くらい高く、ニッケル合金に次いでいる。今のところ、一般人で見られるパラジウム感作のほとんどの原因は、歯科修復剤と装飾品によるものである。

いくつかのパラジウム化合物は、抗ウイルス、抗バクテリアあるいは抗菌性の性質を有している。水棲生物に対する毒性は、極めて強く、2種類のパラジウム化合物2.5-10mg/l濃度でホテイアオイ種が壊死を起こした。淡水性のイトミミズは2塩化パラジウムの急性毒性 (96時間LC₅₀) が0.09mgPd/lであった。24時間致死最小濃度は淡水魚の一種 *Orizias latipes* で7mgPdCl₂/lであった。パラジウム化合物はいずれも同様の毒性を示す。

この一年に出版されたEHC

No.208 Carbon Tetrachloride

No.209 Flame Retardants ; Tris(chloropropyl) Phosphate and Tris(2-chloroethyl) Phosphate

No.210 Principle for the Assessment of Risks to Human Health from Exposure to Chemicals

No.211 Health Effects of Interactions between Tobacco Use and Exposure to other Agents

No.212 Principle and Methods for Assessing Allergic Hypersensitization Associated with Exposure to Chemicals

No.213 Carbon Monoxide

No.214 Human Exposure Assessment

No.215 Vinyl Chloride

No.216 Disinfectants and Disinfectant By-products

No.218 Flame Retardants: Tris(2-butoxyethyl) Phosphate, Tris(2-ethylhexyl) Phosphate and Tetrakis(hydroxymethyl) Phosphonium Salts

No.219 Fumonishin B1

食用青色1号 (ブリリアントブルーFCF) アルミニウムレーキの不適事例について

辻 澄子[#]・岡田 舞・天倉吉章・外海泰秀

Studies on Rejected Food Blue No. 1 (Brilliant Blue FCF) Aluminum Lake

Sumiko Tsuji[#], Mai Okada, Yoshiaki Amakura and Yasuhide Tonogai

One of the Brilliant Blue FCF aluminum lakes (B-1Al) in the official inspection of coal-tar dyes in fiscal year 1999 was rejected.

The results of tests of the rejected sample were submitted to JSFA-VII except for a violet sub-spot by paper chromatography. Its visual spectrum had same λ max 630 nm as B-1 standard and a very small shoulder at 580 nm in comparing to B-1 standard. HPLCs detected at 625 nm of subsidiary dyes and 580 nm were performed on the rejected sample of B-1Al. A sub-V in HPLCs of the sample which eluted at 37.6 min had its relative peak area of 7.9% at 580 nm and 0.24% at 625 nm, and its peak ratio (at 580 nm / at 625 nm) was extremely large. Consequently, it was presumed that the sub-V in those HPLCs corresponded to the violet sub-spot in paper chromatography.

Keywords: Brilliant Blue FCF aluminum lake, subsidiary dye, paper chromatography, HPLC

緒 言

平成11年度の製品検査において食用青色1号 (B-1Al) 8件中1件が第7版食品添加物公定書 (食添Ⅶ)¹⁾ “他の色素”の項 (ろ紙クロマトグラフィーによる) で付随色素が検出され不合格と判定された。

B-1には種々の副成色素の存在することが知られており、神蔵²⁾、Matsufuji et al.³⁾、Kusaka et al.⁴⁾ がそれら副成色素を単離し、その構造を報告している。しかし、それら標品の入手が困難なことより、Matsufuji et al. の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 条件³⁾ により、不適検体のHPLC測定を行って付随色素の推定を行い、その含有量をピーク面積%法によって推定したので報告する。

実験方法

1. 試料：平成11年度製品検査B-1Al不適検体。
2. 色素標準品：ブリリアントブルーFCF (食用青色1号：B-1) は国立医薬品食品衛生研究所標準品を使用した。
3. 試薬：アセトニトリルはHPLC用アセトニトリルを

用いた。その他の試薬は全てJIS特級品を使用した。

4. ろ紙クロマトグラフィー

食添Ⅶ¹⁾ に従った。

5. 吸収スペクトル測定

食添Ⅶ¹⁾ に従った。

6. HPLC

カラム：野村化学製 Deverosil ODS-UG-5 (ϕ 4.6 × 250 mm)，移動相：メタノール / 0.5% 炭酸アンモニウム溶液 (4: 6)，流速：1.0 ml/min，検出波長：625 nm 及び 580 nm，注入量：20 μ l，温度：40 $^{\circ}$ C。

7. HPLC用試験溶液の調製

食添Ⅶ「食用赤色40号アルミニウムレーキの純度試験副成色素の項」⁵⁾ に従った。すなわち、試料100 mgを精密に量り、硫酸 (1→20) 5 mlを加え、酢酸アンモニウム溶液 (7.7→1000) を加えて、全量を正確に100 mlとし、遠心分離した後、試験溶液とした。

8. HPLC装置

ポンプ：日本分光(株)製 JASCO 880-PU，溶媒脱気装置：ユニフローズ(株)製デガシス DG-1200，システムコントローラー：日本分光(株)製 JASCO 802-SC，オートサンプラー：日本分光(株)製 JASCO 851-AS，カラム恒温槽：日本分光(株)製 JASCO CO-1560，検出器：日本分光(株)製 JASCO 970UV 及び JASCO 870UV，データ処理装置：日本分光(株)製 JASCO/JMBS BORWIN，Dell-Latitude CP/，HP LaserJet 6P。

[#] To whom correspondence should be addressed: Sumiko Tsuji; 1-1-43, Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-6941-1533; Fax: 06-6942-0716; E-mail: tsuji@nihs.go.jp

9. 分光光度計

日立製分光光度計U320を用いた。

実験結果及び考察

1. 試験成績

Table 1にB-1AIの規格値及び不適検体の試験成績を示した。“他の色素”の項(ろ紙クロマトグラフィーによる)以外は全て規格内であった。

2. ろ紙クロマトグラフィー

食添VIIに従って、検体のろ紙クロマトグラフィーを行った結果、Fig.1に示したように、主色素のスポット以外に主色素上部近くに紫色のスポットを認めた。

B-1に含まれる各種付随色素のうち、一部については、神蔵²⁾やMatsufuji et al.³⁾, Kusaka et al.⁴⁾が単離し、その構造を明らかにしている。しかし、それら標品の入取は困難であった。

3. 吸収スペクトル

食添VIIに従って、検体及びB-1色素標準品の吸収スペクトルについて試験溶液調製後直ちに測定した。その結果(Fig. 2.), いずれも630 nmに吸収極大を示した。しかし、検体の方が標準品に比較して580 nmにおける極微量のシヨルダーが認められた。

4. HPLC

Matsufuji et al.のHPLC条件³⁾により不適検体のHPLCを行った。付随色素の標品が入手出来なかったことより、Matsufuji et al.の付随色素の測定波長625 nmにおける付随色素Sub-A～Sub-EをHPLCの保持時間により推定した。ろ紙クロマトグラフィーによる他のスポットが紫色を示したことより、測定波長580 nmでのHPLCも行い、それらのクロマトグラムをFig. 3.に示し、各測定波長での相対ピー

Table 1. Analytical result of rejected sample of Brilliant Blue FCF aluminium lakes

Tests	Specification of JSFA-VII ^{a)}	Result (4 samples of one lot)
Description	Normal	Normal
Identification	Normal	Normal
Absorption maximum	628-632 nm	630 nm
Purity		
Heavy metals	Not more than 20 $\mu\text{g/g}$ as Pb	Passed
Barium	Not more than 500 $\mu\text{g/g}$ as Ba	Passed
Arsenic	Not more than 4.0 $\mu\text{g/g}$ as As_2O_3	Passed
Other coloring matters	Only one spot	Two spots ^{b)}
Loss on Drying	Not more than 30.0 %	14.5 \pm 2.0 %
Assay	Not less than 10.0 %	15.4 \pm 0.3 %

^{a)} JSFA-VII: Japan's Specifications and Standards for Food Additives, Seventh Edition.

^{b)} Other coloring matter except of main-spot was recognized obviously.

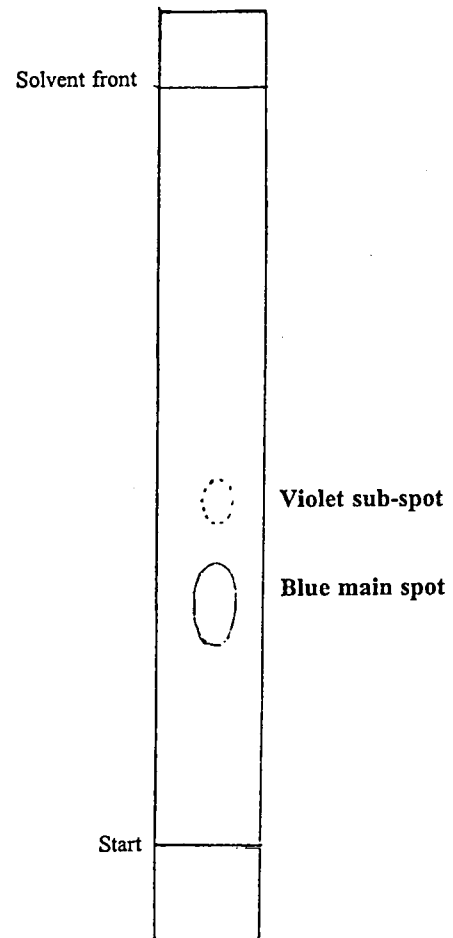


Fig. 1. Paper chromatogram of the rejected sample

Substance: the rejected sample, 50 mg as acidic form of Brilliant Blue FCF / 100 ml.

Condition: developing solvent, a mixture of n-butanol, 1% ammonia solution and absolute ethanol (6: 3: 2); sample size, 2 μl .

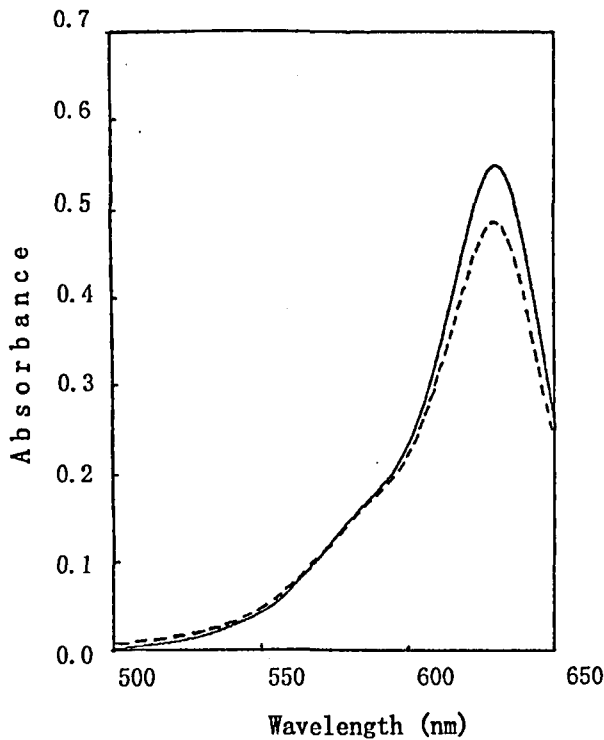


Fig. 2 Visible absorption spectra of the rejected sample and Brilliant Blue FCF Standard

Substances: straight line, Brilliant Blue FCF Standard; dotted line, the rejected sample. Concentration of standard and test solutions: 3µg as acidic form of Brilliant Blue FCF / ml. Their solutions were prepared and immediately observed.

The sample was dissolved in a 5-ml of diluted sulfuric acid (1 → 20), was diluted with ammonium acetate solution (3 → 2000), centrifuged and the supernatant was diluted with ammonium acetate solution (3 → 2000).

ク面積% (Table 2) を算出した。また、Matsufuji et al.のHPLC³⁾ を引用してFig. 3.に参考に供した。

波長625 nmで主色素 (B-1) の次に大きなピークを示すSub-C (B-1の構造異性体) はろ紙クロマトグラフィーでは分離できない副成色素といわれており³⁾, 580 nmでも大きなピークを示した。一方, 625 nmで小さかったピーク (V) が580 nmでは大きくなり (相対ピーク面積%の両ピーク比: 580 nm / 625 nm = 33.1), ろ紙クロマトグラフィーでの紫色のスポットに該当するピークSub-Vであると推定した。

Table 2.に示したように, 625 nmにおけるSub-Vのピーク面積%は0.24%であったが, 580 nmでは7.9%となった。現在, この付随色素を単離し, 構造を検討中である⁶⁾。

結 論

平成11年度の製品検査中B-1A1において, “他の色素”の項 (ろ紙クロマトグラフィーによる) で付随色素が検出

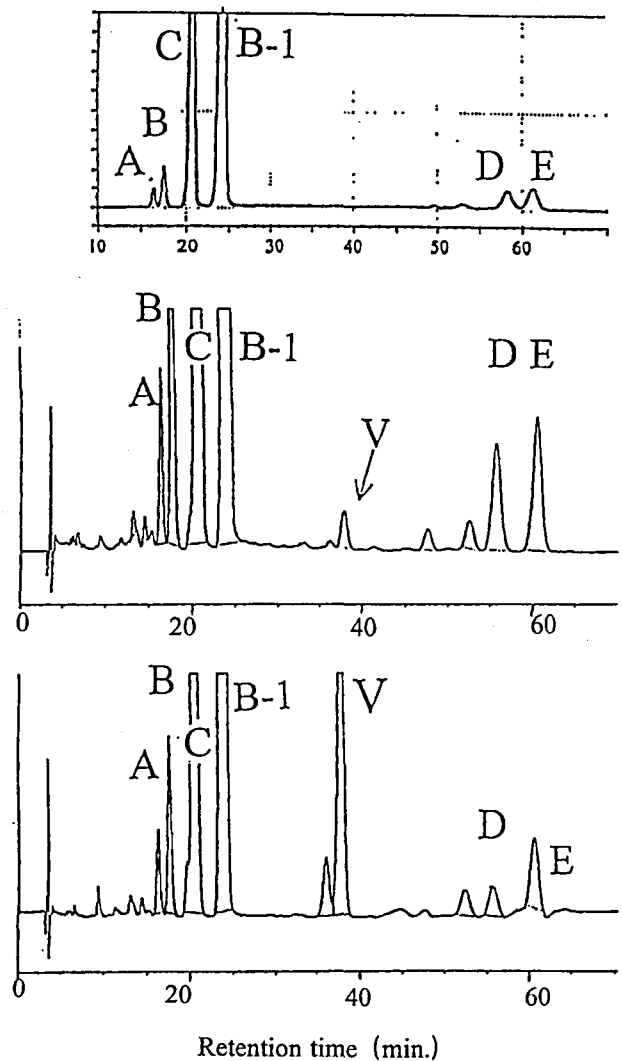


Fig. 3. High performance liquid chromatograms of the rejected sample

HPLC condition: column, Deverosil ODS-UG-5(φ 4.6 × 250 mm), mobile phase, methanol / 0.5% ammonium carbonate solution (40: 60); flow rate, 1.0 ml / min; detected wavelengths, 625 nm (middle) and 580 nm (below); sample size: 20 µl; column temp.: 40 °C.

Top chromatogram: Matsufuji's chromatogram (at 625 nm) was quoted from ref. of Matsufuji et al.³⁾.

Middle and below chromatograms: chromatograms of the rejected sample.

Peak A, B, C, D, E were presumed as each subsidiary dye (Sub-A, B, C, D, E) referring to Matsufuji's chromatograms.

Peak B-1 was showed Brilliant Blue FCF. Peak V was presumed as the violet sub-spot in paper chromatography.

され不適と判定される検体が1件認められた。同B-1A1中の当該付随色素をHPLCで測定し, その含有量を波長580 nmにおけるピーク面積%法で推定した。その結果, 付随色素の推定量は7.9%であった。

Table 2. Peak areas of subsidiary dyes in the rejected sample of Brilliant Blue FCF aluminum lake using HPLC

Compounds	Retention time (min)	Detected wave length		Peak ratio (580 nm / 625 nm)
		at 625 nm Relative peak area (%)	at 580 nm	
Sub-A	16.16	0.64	0.93	1.45
Sub-B	17.48	2.40	2.21	0.92
Sub-C	20.30	22.38	20.46	0.91
B-1	23.57	71.32	63.43	0.89
Sub-V	37.69	0.24	7.94	33.08
Sub-D	55.69	1.06	0.88	0.83
Sub-E	60.43	1.36	1.99	1.46

Sub-A, Sub-B, Sub-C, Sub-D and Sub-E were the subsidiary dyes reported by Matsufuji et al.³⁾ Sub-V was presumed as a violet sub-spot in paper chromatography.

文 献

- 1) "Japan's Specifications and Standards for Food Additives, 7th ed.", eds. by Ministry of Health and Welfare, Japan, pp. 31-34, 313-314 (1999)
- 2) Kamikura, M.: *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, **27**, 27-36 (1986)
- 3) Matsufuji, H., Kusaka, T., Tsukuda, M., Chino, M., Kato, Y., Nakamura, M., Goda, Y., Toyoda, M. and Takeda, M.: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **39**, 7-12 (1998)
- 4) Kusaka, T., Matsufuji, H., Chino, M., Kato, Y., Nakamura, M., Goda, Y., Toyoda, M. and Takeda, M.: *Food Addit. Contam.*, **16**, 501-507 (1999)
- 5) "Japan's specification and Standards for Food Additives, 7th ed.", eds. by Ministry of Health and Welfare, Japan, pp. 299-300 (1999)
- 6) 辻 澄子, 天倉吉章, 岡田 舞, 外海泰秀, 西 正敏, 中西 勤: 日本食品衛生学会第79回学術講演会講演要旨集, p. 33 (1999)

平成11年度における食用タール色素（アルミニウムレーキを含む）
製品検査より算出した生産量

辻 澄子[#]・岡田 舞・天倉吉章・外海泰秀

Estimated Production by the Official Inspection of
Coal-Tar Dyes (Including Dye aluminum Lakes) in Fiscal Year 1999

Sumiko Tsuji[#], Mai Okada, Yoshiaki Amakura and Yasuhide Tonogai

There were 260 official inspections of coal-tar dyes and their lakes in fiscal year 1999, and 259 of the lots qualified, one of the 8 samples of Food Blue No. 1 aluminum lakes was rejected.

The quantity of coal-tar dyes that passed inspection in Japan in fiscal year 1999 reached 151.9 tons. Coal-tar dye production is estimated by month and by manufacturer. The food coal-tar dye produced in the largest quantity was Food Yellow No. 4, accounting for 44.2% during this period.

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

食品用の着色料は合成着色料と天然着色料に大別され、合成着色料として主にタール色素が汎用されている。わが国での食用タール色素として、現在はタール色素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、その販売などに当たって製品検査が必要とされている。製品検査に申請されたタール色素が実際に食用として用いられる量は減少する傾向にあるが、医薬品、化粧品及び幼児玩具など法的に定められた用途以外、例えばサインペン、インクジェットプリンター用インク、トイレの洗浄剤など、多方面に使用されている。

わが国における食用タール色素の製品検査は、現在、大阪支所食品試験部で行っている。したがって、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により、明確に把握できる。タール色素のロットサイズの規制が平成10年4月1日から無制限となった¹⁾ことより、申請件数はTable 1に示したように、平成9年度(F. Y. 1997) 571件から平成10年度(F. Y. 1998) 284件とほぼ半分になり、平成11年度(F. Y. 1999)は若干減少して260件であった。一方、各保健所からの申請手続き回数は平成9年度(F. Y. 1997) 73回、平成10年度(F. Y. 1998) 68回、平成11年度(F. Y. 1999) 61回と少しずつの減少にとどまっている。

平成11年度(F. Y. 1999)に申請された検体の内訳は、

食用赤色2号(R-2); 5, 食用赤色3号(R-3); 14, 食用赤色40号(R-40); 3, 食用赤色102号(R-102); 44, 食用赤色104号(R-104); 7, 食用赤色105号(R-105); 1, 食用赤色106号(R-106); 17, 食用黄色4号(Y-4); 73, 食用黄色5号(Y-5); 38, 食用青色1号(B-1); 22, 食用青色2号(B-2); 3, 食用赤色3号アルミニウムレーキ(R-3Al); 3, 食用赤色40号アルミニウムレーキ(R-40Al); 2, 食用黄色4号アルミニウムレーキ(Y-4Al); 9, 食用黄色5号アルミニウムレーキ(Y-5Al); 7, 食用青色1号アルミニウムレーキ(B-1Al); 8, 食用青色2号アルミニウムレーキ(B-2Al); 4検体であった。

タール色素およびタール色素レーキは、平成11年4月に公布された第7版食品添加物公定書²⁾に含量、性状、確認試験、純度試験(水不溶物、塩化物及び硫酸塩、ヨウ化物、臭化物、重金属、ヒ素、バリウム、他の色素、副成色素、未反応原料及び反応中間体)及び乾燥減量の規格値が設定されており、R-40と同様に他のアゾ色素の純度試験に高速液体クロマトグラフィーによる試験法が追加された。しかし、施行に際し1年間の猶予期間が設けられたため、第六版食品添加物公定書³⁾に従って製品検査を行った。申請されたB-1Alの8検体のうち1検体にろ紙クロマトグラフィーにより他の色素のスポットが認められ不合格⁴⁾となり、合格検体総数は259検体であった。その他、合格した検体の中で、R-3の14検体の内1検体がヨウ化物において規格値に近い結果を示した。

平成11年度(F. Y. 1999)に申請された260検体の内合格した259検体について各色素毎に月別及び製造者別の許可量統計を作成した。各色素の月別許可量をTable 2に、製造者別許可量をTable 3に示した。

[#] To whom correspondence should be addressed: Sumiko Tsuji; 1-1-43, Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-6941-1533; Fax: 06-6942-0716; E-mail: tsuji@nihs.go.jp

総量は164.5トン(平成8年度; F. Y. 1996)⁵⁾, 160.7トン(平成9年度; F. Y. 1997)⁶⁾, 150.3トン(平成10年度; F. Y. 1998)⁷⁾と少しずつ減少傾向を示したが, 平成11年度(F. Y. 1999)は151.9トンと前年度と殆ど変化がなかった。

各色素別では製造量の多いものからY-4, R-102, Y-5, R-3, B-1であり, 前年度に比べR-3とB-1が入れ代わったが前々年度⁶⁾とは同じであった。前年度製造されていなかったR-40Alは製造され, 前年度製造されていた食用緑色3号(G-3)は製造されなかった。また, 食用赤色2号アルミニウムレーキ(R-2Al)及び食用緑色3号アルミニウムレーキ(G-3Al)は前年度と同様製造されなかった。

色素別製造量では, 第1位のY-4が66.2トン(色素別比率44.1%)から67.1トン(44.2%)とほぼ同量であったのに対して, 第2位のR-102は29.3トン(19.5%)から32.3トン(21.3%)と増加した。第3位のY-5は22.8トン(15.2%)から22.0トン(14.5%)とほぼ同量であった。上位5色素の製造量合計は131.2トンで総製造量の86.4%であった。

製造者別では製造量の多い順にA, B, C, G, D, F社であり, 前年度との比較ではA社, B社が同順位で, C社とG社は逆転した。また, 申請製造者は昨年度と同様10社であった。

製造量はA社が57.6トン(製造者別比率37.9%)と最も

多く, 次いでB社が51.6トン(34.0%), C社18.1トン(11.9%), G社15.1トン(9.9%)であった。

文 献

- 1) 平成10年3月30日生衛発第546号厚生省生活衛生局長通知
- 2) "Japan's Specifications and Standards for Food Additives, 7th ed.", eds. by Ministry of Health and Welfare, Japan pp. 25-34, 294-315 (1999).
- 3) "The Japanese Standards for Food Additives, 6th ed.", eds. by Ministry of Health and Welfare, Japan pp. 29-38, 307-333 (1992).
- 4) Tsuji, S., Okada, M., Amakura, Y. and Tonogai, Y.: *Kokuritsu Iyakuhin Shokuhin Eisei Kenkyusho Ho (Bull. Natl. Inst. Health Sci.)*, **118**, 131-134 (2000)
- 5) Ishimitsu, S., Mishima, I., Tsuji, S. and Shibata, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **115**, 171-174 (1997)
- 6) Ishimitsu, S., Mishima, I., Tsuji, S., Tonogai, Y. and Shibata, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **116**, 153-156 (1998)
- 7) Tsuji, S., Okada, M., Matsumura, I., Nakamura, Y. and Tonogai, Y.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 185-188 (1999)

Table 1. Application number according to prefecture on the official inspections of coal-tar dyes

Prefecture	Lot size	F. Y. 1999		F. Y. 1998		F. Y. 1997	
		Unlimited		Unlimited		Not more than 300 kg	
		Application times	No. of Sample	Application times	No. of Sample	Application times	No. of Sample
Osaka		25	130	22	122	31	286
Saitama		18	87	20	102	21	234
Tokyo		8	20	11	16	13	32
Kanagawa		8	21	13	39	4	9
Shiga		2	2	2	5	2	6
Hyogo		0	0	0	0	1	3
Tokushima		0	0	0	0	1	1
Total		61	260	68	284	73	571

Table 2. Monthly permission quantity of coal-tar dye

Dye	(Unit:kg)															
	1999						2000						F. Y. 1999		F. Y. 1998	
	April	May	June	July	August	September	October	November	December	January	February	March	Total	Ratio(%)	Total	Ratio(%)
R-2	620	---	---	300	---	285	---	1130	---	---	---	---	2335	1.54	2200	1.46
R-3	550	860.15	520	---	---	920	200	---	1711	---	300	---	5311.15	3.50	6265.5	4.17
R-40	450	---	---	---	---	210	---	---	---	235.2	---	---	895.2	0.59	871	0.60
R-102	3610.25	3360	2250	2380	1020	4070	2280	4150	2900	1600	905	---	32325.25	21.27	29277.425	19.48
R-104	---	900	700	400	---	200	---	---	---	---	---	---	2200	1.45	2736.5	1.82
R-105	---	---	---	58	---	---	---	---	---	---	---	---	58	0.04	556.25	0.37
R-106	500	700	949.7	861.7	---	540	---	200	200	300	475	---	4726.4	3.11	5808.5	3.86
Y-4	5885	3750	3400	10440	3010	4350	6885	9000.25	5751	8391	6275	---	67137.25	44.18	66221.75	44.06
Y-5	1860	2210	3270	3050	840	1400	1295	900	2301	1900	1705	1229.2	21960.2	14.45	22809.75	15.17
G-3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	0	48.225	0.03
B-1	750	300	300	630	---	300	---	674.65	890	550	650	---	5044.65	3.32	6540.5	4.35
B-2	320	---	---	---	---	300	---	---	---	---	200	---	820	0.54	1298.5	0.86
R-2A1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	0	0	0
R-3A1	---	300	---	---	---	700	---	101	---	---	---	---	1101	0.72	1294.9	0.86
R-40A1	---	---	9.6	---	---	---	---	---	24.7	---	---	---	34.3	0.02	0	0
Y-4A1	570	---	4.5	600	---	---	---	840	---	820	300	4.925	3139.425	2.07	1650	1.1
Y-5A1	300	---	304.5	---	---	750	825	700	---	---	---	---	2879	1.90	2000	1.33
G-3A1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	0	0	0
B-1A1	500	---	---	251	315	---	---	1	600	---	---	4.85	1671.85	1.10	626	0.42
B-2A1	---	---	6	100	---	---	150	51	---	---	---	---	307	0.20	101.4	0.07
F. Y. 1999																
Total	15915.25	12380.15	11714.3	19570.7	5185	14025	11635	17747.9	14377.7	13561	13390.2	2443.975	151946.175	---	---	---
Monthly ratio(%)	10.47	8.15	7.71	12.88	3.41	9.23	7.66	11.68	9.46	8.93	8.81	1.61	---	100.00	---	---
F. Y. 1998																
Total	6304.925	17686.5	12893.5	14522	12737	6605	13780	15304.9	7980	17686	12580	12226.375	---	---	150396.2	---
Monthly ratio(%)	4.19	11.77	8.58	9.66	8.47	4.39	9.17	10.18	5.31	11.77	8.37	8.14	---	---	---	100.00

Table 3. The permission quantity of coal-tar dye according to the manufacture company

(Unit:kg)

Dye	The manufacture company										
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
R-2	1550	500	285	---	---	---	---	---	---	---	---
R-3	2201	900	450	1000	---	300	460.15	---	---	---	---
R-40	895.2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
R-102	7800	16300	3040	350	---	600	4235.25	---	---	---	---
R-104	100	1300	---	---	---	800	---	---	---	---	---
R-105	---	---	58	---	---	---	---	---	---	---	---
R-106	1200	1200	715	300	---	---	1011.4	300	---	---	---
Y-4	22537	24300	10160	1280	---	900	7710.25	---	250	---	---
Y-5	10286	5700	1485	2520	---	600	1369.2	---	---	---	---
G-3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B-1	2590	900	880	---	---	300	299.65	---	75	---	---
B-2	320	200	300	---	---	---	---	---	---	---	---
R-2A1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
R-3A1	1101	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
R-40A1	24.7	---	---	---	9.6	---	---	---	---	---	---
Y-4A1	2560	300	270	---	4.5	---	---	---	---	4.925	---
Y-5A1	2710	---	165	---	4.5	---	---	---	---	---	---
G-3A1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B-1A1	1416	---	251	---	---	---	---	---	---	---	4.85
B-21	301	---	---	---	6	---	---	---	---	---	---
F. Y. 1999											
Total	57591.9	51600	18059	5450	24.6	3500	15085.90	300	325		9.775
Ratio(%)	37.90	33.96	11.88	3.59	0.02	2.30	9.93	0.20	0.21		0.01
F. Y. 1998											
Total	54118.5	50500	14570	6641	1.4	3800	20040.475	300	325		9.825
Ratio(%)	36.00	33.60	9.69	4.42	0.01	2.53	13.33	0.20	0.21		0.01

国立医薬品食品衛生研究所塩酸チアミン液標準品 (Control 991)

岩田美保・小出達夫・前川京子・斎藤博幸
谷本 剛[#]・岡田敏史

Thiamine Hydrochloride Solution Reference Standard (Control 991) of National Institute of Health Sciences

Miho Iwata, Tatsuo Koide, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto[#], and Satoshi Okada

The raw material of thiamine hydrochloride solution was examined for preparation of the "Thiamine Hydrochloride Solution Reference Standard (Control 991)". The analytical data obtained were: assay by HPLC, 101.0%; spectrophotometric assay, 100.4%.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Thiamine Hydrochloride Solution Reference Standard (Control 991) 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 991)”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、溶封されたものである。

2. 参照物質及び試薬

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。

自記分光光度計：日立製作所, U-3210.

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 型カラムオープン, 東ソ一製 AS-8010 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 0.050 g を精密に量り、0.001 mol/l 塩酸試液に溶かし、正確に 100 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。

$$\text{塩酸チアミンの量 (\%)} = 100 \times Q_T / Q_S$$

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 を薄めた氷酢酸 (1→100) 1000 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

[#]To whom correspondence should be addressed:

Tsuyoshi Tanimoto; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-6941-1533; Fax: 06-6942-0716; E-mail: tanimoto@nihs.go.jp

標準品原料 2 ml を正確に量り, 0.001 mol/l 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 mol/l 塩酸試液を加えて正確に 100 ml とし, 標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液につき, 0.001 mol/l 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 246 nm における吸光度 A_T 及び A_S を測定する。

$$\text{塩酸チアミンの量 (\%)} = 100 \times A_T / A_S$$

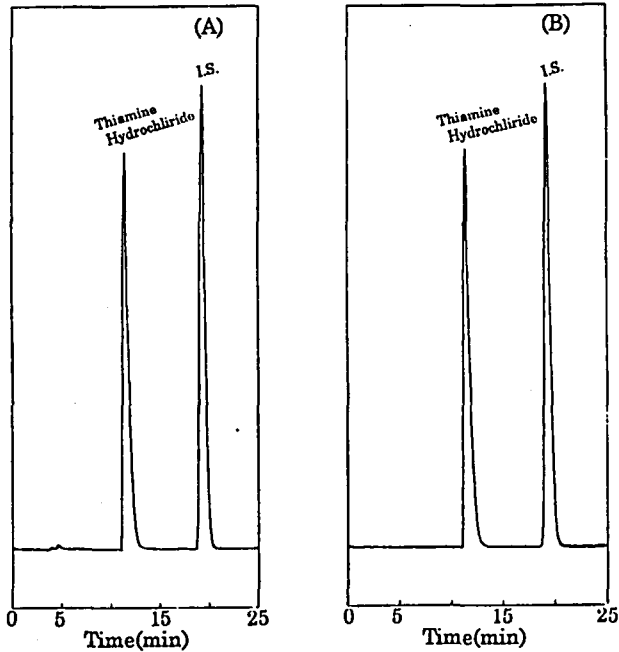


Fig.1 High-performance liquid chromatograms of the raw material for Thiamine Hydrochloride Solution Reference Standard

(A): The raw material

(B): Thiamine Hydrochloride Reference Standard (Control 932)

5. 試験成績

標準品原料及び日局標準品につき, HPLC法による定量試験で得られた液体クロマトグラムを Fig.1 に示した。液体クロマトグラフ法での定量値は, $101.0 \pm 0.2\%$ ($n=3$), 吸光度測定法での定量値は $100.4 \pm 0.2\%$ ($n=4$) 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ものと認定し, Control 991 として製造・配布をすることとした。

文 献

- 1) Kitajima, A., Yoshii, K., Komatsu, H., Ishimitsu, S. and Okada, S.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **112**, 192 (1994)

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 001)

岩田美保・小出達夫・前川京子・斎藤博幸
谷本 剛[#]・岡田敏史

Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 001) of National Institute of Health Sciences

Miho Iwata, Tatsuo Koide, 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 001)". Analytical data obtained were: IR spectrum, same as that of the Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 974); specific absorbance, $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (284nm)=43.7; thin-layer chromatography, no impurities were detected until 50 μg of the loaded raw material; high-performance liquid chromatography (HPLC), total amount of impurities estimated to be less than 0.6%; assay by HPLC, 101.7%.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Reference Standard (Control 001).

Keywords: tocopherol acetate, quality evaluation, authorization, JP 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 001)」(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ずつ小分け充填し、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 0.6%, 比吸光度: $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (284 nm) 43.5, 定量 (HPLC法): 100.0%。

2. 参照物質及び試薬

日本薬局方酢酸トコフェロール標準品 (Control 974; 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。

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 型カラムオープン, 東ソー製の AS-8010 及び資生堂製データ処理装置。

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及び「酢酸トコフェロール」の試験法を準用した。

1) 薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験

薄層板: メルク社製プレコート薄層板シリカゲル 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 2~10 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 $^{\circ}\text{C}$ で 15 分間加熱し、直ちに白色光下で観察する。

2) 液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験

標準品原料及び日局標準品 0.040 g ずつを正確に量り、それぞれを無水エタノール 5.0 ml に溶かし、試料溶液及び

[#] To whom correspondence should be addressed:

Tsuyoshi Tanimoto; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-6941-1533; Fax: 06-6942-0716; E-mail: tanimoto@nihs.go.jp

標準溶液とする。これらの液 10 μ l につき、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。

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 \times 150 mmL）

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 $^{\circ}$ C

検出感度：試料注入液の 1 % に相当する量を注入し、得られたピークの高さが記録紙のフルスケールの約 1/10 の高さになるように記録計の感度を調整する。さらに、この条件で試料注入量の 0.05 % に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの面積が検出されるように感度を調整する。

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、278.4 及び 284.6 nm 付近に吸収の極大を認めた。また、極大吸収波長における比吸光度 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (284 nm) は 43.7 であった。紫外吸収スペクトルを Fig.1 に示す。

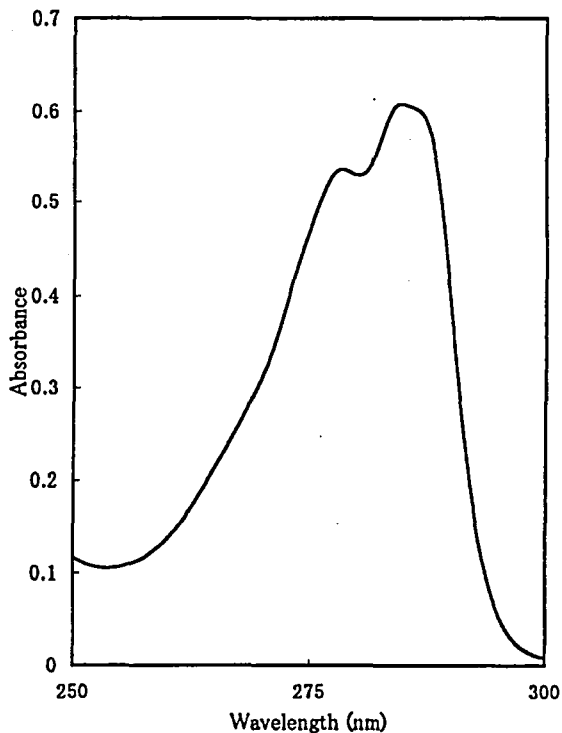


Fig.1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Tocopherol Acetate Reference Standard

3) 赤外吸収スペクトル

標準品原料の液膜法 (NaCl 板) による赤外吸収スペクトルを Fig.2 に示す。標準品原料の赤外吸収スペクトルを日局標準品のそれと比較するとき、同一波長のところに同様の強度の吸収が認められた。

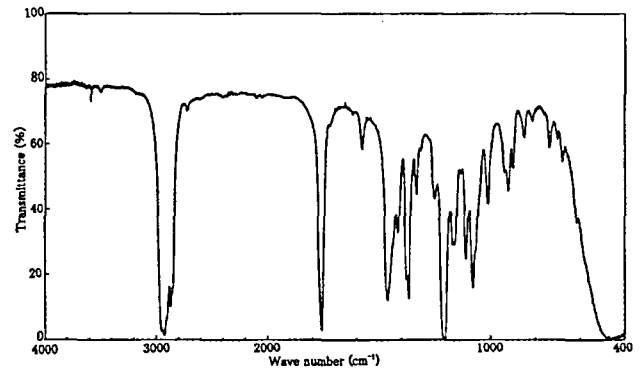


Fig.2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Tocopherol Acetate Reference Standard

4) TLC法による純度試験

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 μ g まで異種スポットは認められなかった。また、本法による酢酸トコフェロールの検出限界は 0.45 μ g であった。

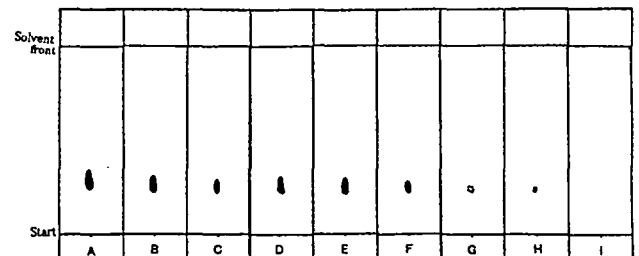


Fig.3 Thin-layer chromatograms of the raw material and Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 974)

Solvent system : toluene

Spot : A to C are 50, 25 and 15 μ g Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 974)

D to I are 50, 25, 15, 0.60, 0.45 and 0.30 μ g of the raw material, respectively

5) HPLC法による純度試験

標準品原料及び日局標準品につき、HPLC法による純度試験で得られた液体クロマトグラムを Fig.4 に示した。面積百分率での不純物ピークの総量は標準品原料で 0.6 \pm 0.002 % (n=3)、日局標準品で 0.8 % 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

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 法がより有効な評価手段であることが明らかとなった。

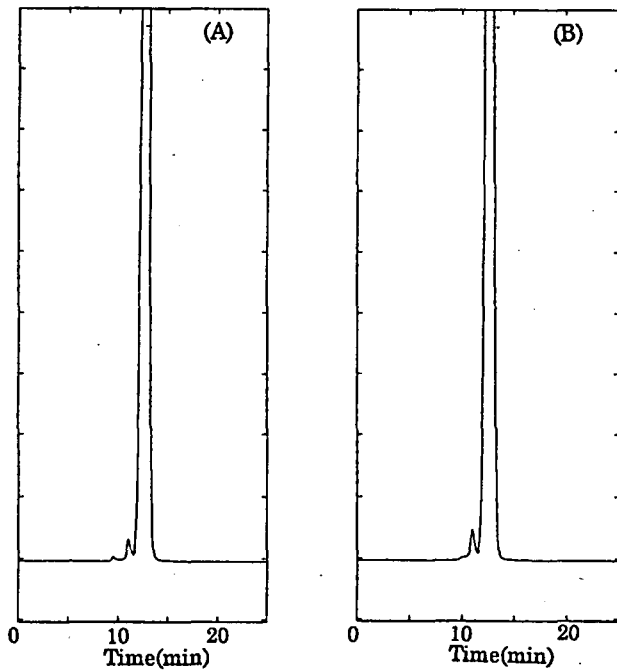


Fig.4 High-performance liquid chromatograms of the raw material (A) and Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 974) (B)

6) 定量

日局標準品を対象に液体クロマトグラフ法による定量試験を行った結果、 $101.7 \pm 1.3\%$ ($n=4$) の値が得られた。なお、定量試験における液体クロマトグラフ法の操作条件は、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、日局標準品を対象にその品質を検討した結果、両者の間には物質特性及び純度に差のないことを確認した。この結果から、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ものと認定し、Control 001として製造・配布を開始した。

文 献

- 1) Kitajima, A., Iwata, M., Maekawa, K., Saito, H., Tanimoto, T. and Okada, S.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **116**, 177 (1998)

国立医薬品食品衛生研究所トコフェロール標準品 (Control 991)

岩田美保・小出達夫・前川京子・斎藤博幸
谷本 剛[#]・岡田敏史Tocopherol Reference Standard (Control 001)
of National Institute of Health SciencesMiho Iwata, Tatsuo Koide, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto[#], and Satoshi Okada

The raw material of tocopherol was tested for the preparation of "Tocopherol Reference Standard (Control 991)". Analytical data obtained were: IR spectrum, same as the Tocopherol Reference Standard (Control 941); specific absorbance, $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (292 nm)=72.9; thin-layer chromatography, no impurities were detected until 50.0 μg ; high-performance liquid chromatography (HPLC), trace amounts of five impurities were detected and the total amount was estimated to be less than 1.4 %; assay by HPLC, 99.9 %.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard (Control 991).

Keywords: tocopherol, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard

第十三改正日本薬局方「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標準品「トコフェロール標準品 (Control 991)」(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購入した。同社において、分子蒸留法により精製され、窒素気流下で褐色アンプル中に約0.15 g量が小分け充填されたものである。同社による試験成績は次のとおりである。薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験: 37.5 μg まで異種スポットなし、液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験: 不純物量1.4 %, 吸光度: $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (292 nm) 73.8, 定量: 100.0 %。

2. 参照物質及び試薬

日本薬局方トコフェロール標準品 (Control 941 ; 日局標準品と略称)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

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型カラムオープン, 東ソー製のAS-8010及び資生堂製データ処理装置。

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及び「トコフェロール」の試験法を準用した。

1) 薄層クロマトグラフ法 (TLC法) による純度試験

薄層板: メルク社製プレコートッド薄層板シリカゲル60 (厚さ, 0.25 mm),

展開溶媒: トルエン

試料溶液及び標準溶液: 標準原料及び日局標準品 0.010 g をとり、ヘキサン 2.0 ml を加えて溶かし、試料溶液および標準溶液とする。

操作法及び検出法: 試料溶液及び標準溶液の 3~10 μl をシリカゲル薄層板にスポットし、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、110 $^{\circ}\text{C}$ で15分間加熱し、直ちに白色光下で観察する¹⁾。

2) 液体クロマトグラフ法 (HPLC法) による純度試験

標準品原料及び日局標準品約 0.02 g ずつを量り、それぞれを無水エタノール 3.5 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、次の条件で分析を行

[#] To whom correspondence should be addressed:

Tsuyoshi Tanimoto; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-6941-1533; Fax: 06-6942-0716; E-mail: tanimoto@nihs.go.jp

った。

操作条件

検出法：紫外吸光度計 (波長：292 nm)
 カラム：ULTRON N-C18L (4.6 φ × 150 mm)
 移動相：メタノール/水混液 (9:1)
 流量：0.8 ml/min
 カラム温度：40 °C
 検出感度：試料注入液の 1 % に相当する量を注入し、得られたピークの高さが記録紙のフルスケールの約 1/10 の高さになるように記録計の感度を調整する。さらに、この条件で試料注入量の 0.05 % に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの面積が検出されるように感度を調整する²⁾。
 面積測定範囲：溶媒ピークの後、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

黄色澄明の粘性の液で、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、波長 292 nm に吸収の極大が認められた。また、極大吸収波長における比吸光度 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (292 nm) は 72.9 (0.01 g, 無水エタノール, 200 ml)。紫外吸収スペクトルを Fig.1 に示す。

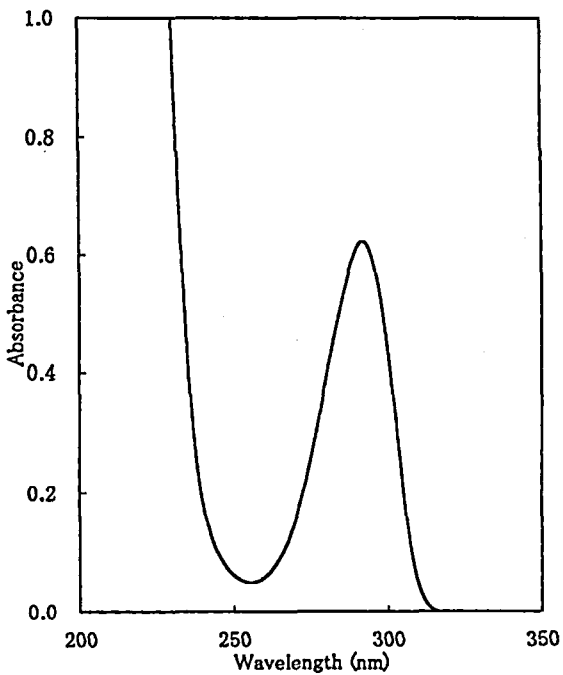


Fig.1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Tocopherol Reference Standard

3) 赤外吸収スペクトル

標準品原料の液膜法 (NaCl 板) による赤外吸収スペクトルを Fig.2 に示す。標準品原料の赤外吸収スペクトルを日局標準品のそれと比較するとき、同一波長のところに同様の強度の吸収が認められた。

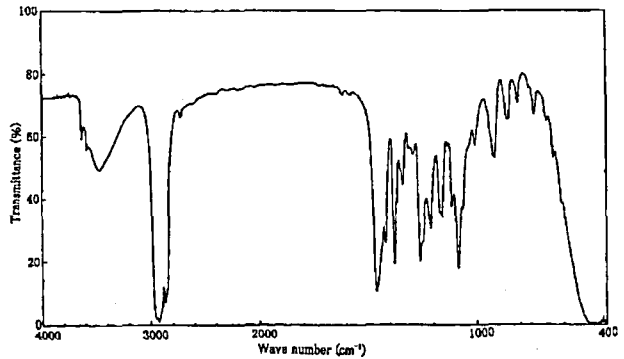


Fig.2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Tocopherol Reference Standard

4) TLC法による純度試験

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、本法によるトコフェロールの検出限界は 0.2 µg であった。

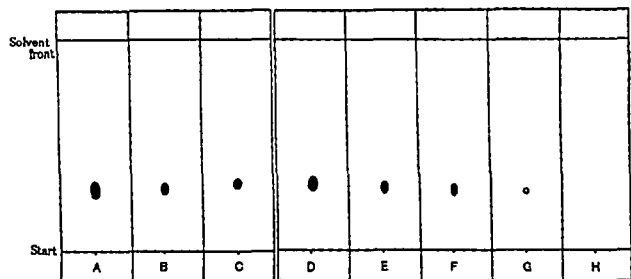


Fig.3 Thin-layer chromatograms of the raw material and Tocopherol Reference Standard (Control 941)

Solvent system : toluene

Spot : A to C are 50, 25 and 15 µg Tocopherol Reference Standard (Control 941)

D to H are 50, 25, 15, 0.20 and 0.15 µg of the raw material, respectively

5) HPLC法による純度試験

標準品原料及び日局標準品につき、HPLC法による純度試験で得られた液体クロマトグラムを Fig.4 に示した。標準品原料及び日局標準品とも、主ピークの前後に 3~5 個の不純物ピークが検出された。面積百分率での不純物ピークの総量は標準品原料で 1.3 ± 0.02 % (n=5)、日局標準品で

1.9 ± 0.04 % (n=3) と推定された。

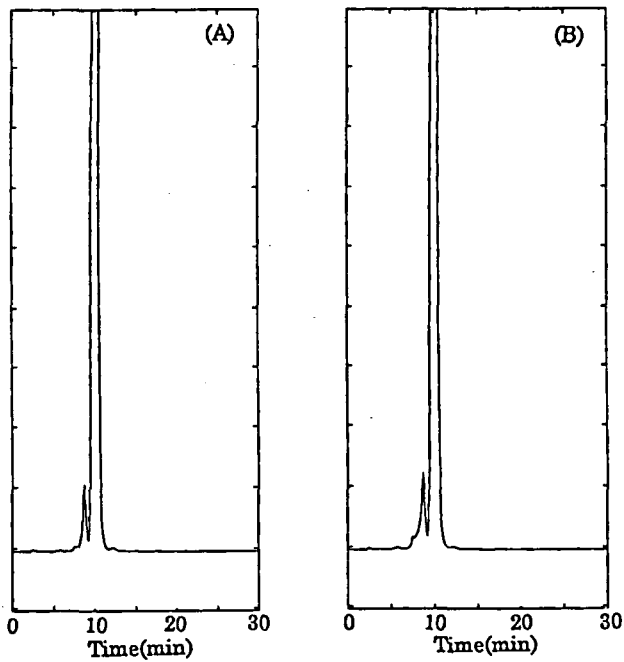


Fig.4 High-performance liquid chromatograms of the raw material (A) and Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 941) (B)

6) 定量

日局標準品を対照に液体クロマトグラフ法による定量試験を行った結果、99.9 ± 0.9 % (n=4) の値が得られた。

結 論

トコフェロール標準品原料につき、日局標準品 (Control 941) を対照にその品質を検討した結果、両者の間には物質特性及び純度に差のないことを確認した。この結果から、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ものと認定し、Control 991として製造・配布を開始した。

文 献

- 1) Katsui, G., Ohmae, M., Ezawa, T. and Ezawa, H.: *IYAKUHIN KENKYU*, **17**, 506-514 (1985)
- 2) Kimura, T., Tsunakawa, N. and Nakamori, R.: *IYAKUHIN KENKYU*, **17**, 143-173 (1986)

国立医薬品食品衛生研究所
リン酸プレドニゾロンナトリウム標準品 (Control 001)

岩田美保・小出達夫・前川京子・斎藤博幸
谷本 剛[#]・岡田敏史

Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard
(Control 001) of National Institute of Health Sciences

Miho Iwata, Tatsuo Koide, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto[#], and Satoshi Okada

The raw material for prednisolone sodium phosphate was examined for the preparation of the "Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 001)". The analytical data obtained were: pH, 7.9; optical rotation, $[\alpha]_D^{20} = +98.0^\circ$; UV spectrum, λ max of 248 nm and specific absorbance in ethanol at 248 nm = 306.7; IR spectrum, same as that of the Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 892); thin-layer chromatography, five impurities were detected at 200 μ g; high-performance liquid chromatography (HPLC), total amount of impurities estimated to be less than 3.7%; residual solvent, 0.0% (ethanol) and 0.0% (hexane); loss on drying, 2.7%.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 001) of the National Institute of Health Sciences.

Keywords: prednisolone sodium phosphate, quality evaluation, authorization, reference standard

「リン酸プレドニゾロンナトリウム」と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標準品「リン酸プレドニゾロンナトリウム標準品 (Control 001)」を製造したので報告する。

1. 標準品原料

標準品原料は萬有製薬株式会社より購入した。同社による試験成績は次のとおりである。旋光度： $[\alpha]_D^{20} = +99^\circ$ ，pH：8.2，遊離リン酸：0.2%，乾燥減量：1.7%，液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験：97.1%。

2. 参照物質及び試薬

国立医薬品食品衛生研究所リン酸プレドニゾロンナトリウム標準品 (Control 892; PrSNaP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試験にあたり、下記の測定装置を用いた。

pHメーター：メトローム, 713 pH Meter

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

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型カラムオープン, 東ソー製のAS-8010及び資生堂製データ処理装置

ガスクロマトグラフ装置：島津製作所製のGC-8A型及びCR-4A型データ処理装置

4. 試験方法

特に記すもののほかは、日局一般試験法及び局外規(1997)「リン酸プレドニゾロンナトリウム」の規格及び試験法を準用した。

1) 紫外吸収スペクトル

標準品原料約0.010gを精密に量り、水を加えて正確に10mlとする。この液1mlを正確に量り、水を加えて50mlとし、試料溶液とする。

2) 薄層クロマトグラフ法 (TLC法) による純度試験

[#] To whom correspondence should be addressed:

Tsuyoshi Tanimoto; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-6941-1533; Fax: 06-6942-0716; E-mail: tanimoto@nihs.go.jp

薄層板：メルク社製プレコート薄層板シリカゲル 60F₂₅₄ (厚さ, 0.25 mm),

展開溶媒：*n*-ブタノール/水/氷酢酸混液 (10:2:1)

試料溶液及び標準溶液：標準品原料及びPrSNaP標準品 0.010 g を量り, メタノール 1.0 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の 5~20 µl をシリカゲル薄層板にスポットし, 約 15 cm 展開した後, 風乾する。これを紫外線 (主波長 254 nm) 照射下で観察する。

3) 液体クロマトグラフ法 (HPLC法) による純度試験

標準品原料及びPrSNaP標準品約 0.015 g ずつを量り, それぞれを移動相 10 ml に溶かし, 試料溶液および標準溶液とする。これらの液 5 µl につき, 次の条件で分析を行った。

操作条件

検出法：紫外吸光光度計 (波長：254 nm)

カラム：Inertsil ODS-3 (4.6 φ x 250 mm)

移動相：0.05 mol/l リン酸緩衝液 (pH 2.6) ・メタノール混液 (1 : 1)

流量：1.2 ml/min

カラム温度：35 °C

検出感度：試料注入液の 1 % に相当する量を注入し, 得られたピークの高さが記録紙のフルスケールの約 1/10 の高さになるように記録計の感度を調整する。さらに, この条件で試料注入量の 0.05 % に相当する量を注入するとき, 得られる主ピークの面積が検出されるように感度を調整する。

面積測定範囲：溶媒ピークの後, リン酸プレドニゾロンナトリウムの保持時間の2倍の範囲

4) 遊離プレドニゾロン

標準品原料 0.025 g を量り, 移動相に溶かして正確に 20 ml とし, 試料溶液とする。別にプレドニゾロン標準品 0.025 g を量り, 移動相に溶かし, 正確に 100 ml とする。この液 10 ml を正確に量り, 移動相を加えて正確に 200 ml とし, 標準溶液とする。これらの液 20 µl につき, 次の条件で分析を行い, それぞれの液のプレドニゾロンのピーク面積 A_T 及び A_S を測定するとき, A_T は A_S より大きくない。

操作条件

検出感度：標準溶液 20 µl から得たプレドニゾロンのピークの高さがフルスケールの約 10 % になるように調整する。

その他の条件は, 純度試験の操作条件を準用する。

5) ガスクロマトグラフ法 (GC法) による残留溶媒試験

i) エタノール

試料溶液：標準品原料及びPrSNaP標準品約 0.075 g ずつを量り, それぞれ内部標準液 0.25 ml を正確に加えて溶か

し, 更に水を加えて 5 ml とする。

内部標準溶液：メチルエチルケトン 0.5 ml を取り, 水を加えて 100 ml とする。

エタノール標準原液：エタノール (99.5 %, 比重=0.790) 0.5 ml を量り取り, 水を加えて正確に 20 ml とする。

操作条件

検出法：水素炎イオン化検出器

カラム：内径 3.2 mm, 長さ 2 m のガラス管にPORA-PAK TypeQ (mesh 80-100) (Waters社製) を充填したカラム

キャリアーガス：窒素

流量：内部標準物質の保持時間が約 8 分になるような一定流量

カラム温度：180 °C

ii) ヘキサン

試料溶液：標準品原料及びPrSNaP標準品約 0.1 g ずつを量り, それぞれ内部標準液 0.15 ml を正確に加えて溶かし, 更に水を加えて 5 ml とする。

内部標準溶液：メチルエチルケトン 0.2 ml を取り, 水を加えて 100 ml とする。

ヘキサン標準原液：ヘキサン (99.5 %, 比重=0.790) 0.1 ml を量り取り, メタノールを加えて正確に 20 ml とする。

5. 試験結果

1) 性状

白色の粉末で, においはない。

2) pH : 7.9

3) 旋光度

標準品原料の比旋光度 $[\alpha]_D^{25}$ は $+98.0 \pm 0.5^\circ$ ($n=3$) (乾燥後, 0.1 g, pH7.0 のリン酸緩衝液, 20 ml, 100 mm) であった。

4) 紫外吸収スペクトル及び比吸光度

標準品原料溶液の紫外吸収スペクトルを測定するとき, 波長 248 nm に吸収の極大が認められた。また, 極大吸収波長における比吸光度 $E_{1\%}^{1cm}$ (248 nm) は 306.7 であった。紫外吸収スペクトルを Fig.1 に示す。

5) 赤外吸収スペクトル

標準品原料の臭化カリウム錠剤法による赤外吸収スペクトルを Fig.2 に示す。標準品原料の赤外吸収スペクトルをPrSNaP標準品のそれと比較するとき, 同一波数のところに同様の強度の吸収が認められた。

6) 遊離リン酸 : 0.3 ± 0.002 % ($n=3$)

7) 遊離プレドニゾロン

HPLC法による測定を行った結果, プレドニゾロン標準溶液より試料溶液のピーク面積は大きくなかった。

8) TLC法による純度試験

標準品原料及びPrSNaP標準品の薄層クロマトグラムを Fig.3 に示した。スポット量 200 µg で標準品原料及び

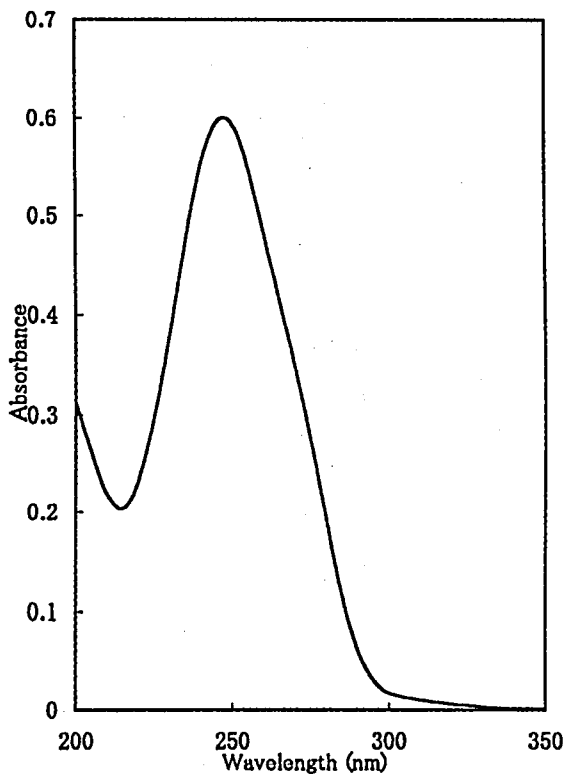


Fig.1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard

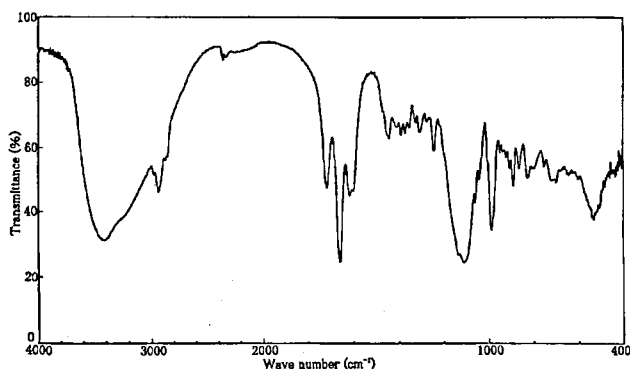


Fig.2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard

PrSNaP 標準品中に微量不純物 5 個を検出した。また、本法によるリン酸プレドニゾンナトリウムの検出限界は 0.1 μg であった。

9) HPLC 法による純度試験

標準品原料及び PrSNaP 標準品につき、HPLC 法による純度試験で得られた液体クロマトグラムを Fig.4 に示した。標準品原料及び日局標準品とも、数種の不純物ピークが検出された。面積百分率での不純物ピークの総量は標準品原料で 3.7 ± 0.02 % (n=3), PrSNaP 標準品で 5.0 % (n=2) と推定された。

10) 水分

電量滴定法により本標準品原料の水分含量を求めた結果、3.7 ± 0.1 % (n=4) であった。

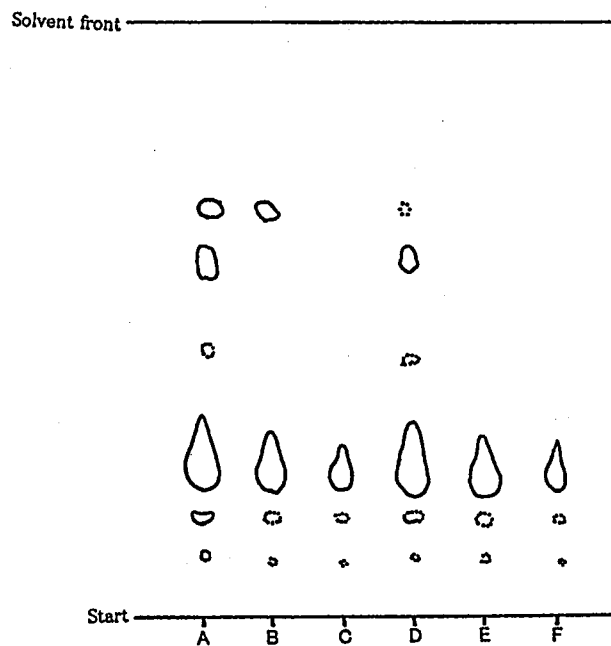


Fig.3 Thin-layer chromatogram of the raw material and Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 892)
Solvent system : n-butanol/water/acetic acid (10:2:1)
Spot: A to C are 200, 100 and 50 μg Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 892)
D to F are 200, 100 and 50 μg of the raw material, respectively

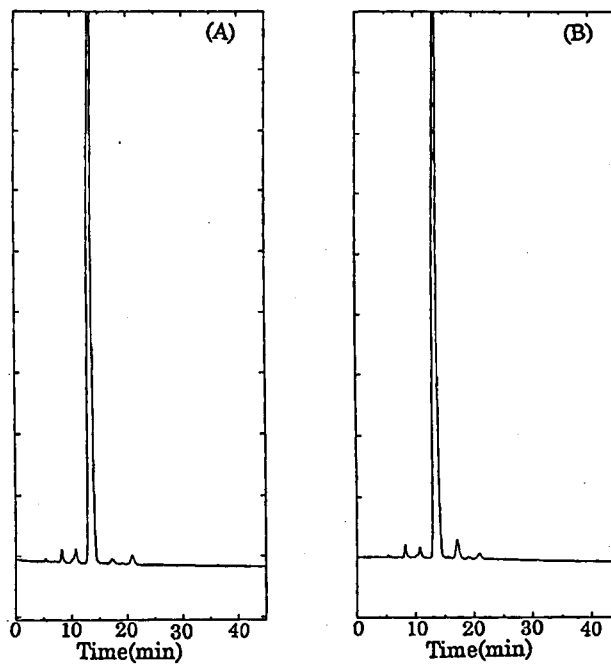


Fig.4 High-performance liquid chromatograms of the raw material (A) and Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 892) (B)

11) 残留溶媒

本標準品減量中にはエタノール及びヘキサンの残留は認められなかった。

12) 乾燥減量

本標準品原料の乾燥減量は 2.7 % (n=2) (0.2 g, 105 °C, 減圧, 5 時間) であった。

結 論

リン酸プレドニゾンナトリウム標準品原料につき、

PrSNaP 標準品 (Control 892) を対照にその品質を検討した結果、両者の間には物質特性及び純度に差のないことを確認した。この結果から、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ものと認定し、Control 001 として製造・配布を開始した。

文 献

- 1) Okada, S., Hiroshige, R., Tanaka, S., Murai, M. and Kimura, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **108**, 153 (1990)

国立医薬品食品衛生研究所エストラジオール標準品 (Control 001)

岩田美保・小出達夫・前川京子・斎藤博幸
谷本 剛[#]・岡田敏史

Estradiol Reference Standard (Control 001) of National Institute of Health Sciences

Miho Iwata, Tatsuo Koide, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto[#], and Satoshi Okada

The raw material of tocopherol was tested for the preparation of "Estradiol Reference Standard (Control 991)". Analytical data obtained were: melting point, 178.5 °C; UV spectrum, λ max of 281 nm and specific absorbance in ethanol at λ max = 77.7; IR spectrum, same as that of the Estradiol Reference Standard (Control 964); optical rotation, $[\alpha]_D^{20}$ = +79.5°; thin-layer chromatography, one impurity was detected; high-performance liquid chromatography (HPLC), total amount of impurities estimated to be less than 0.6 %; loss on drying, 3.3 %; assay, 100.2 % by UV spectrophotometry and 99.9 % by HPLC.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Estradiol Reference Standard (Control 001) of the National Institute of Health Sciences.

Keywords: estradiol, quality evaluation, authorization, reference standard

「エストラジオール」とその製剤の純度試験に用いられる国立医薬品食品衛生研究所「エストラジオール標準品 (Control 001)」を製造したので報告する。

1. 標準品原料

標準品原料は、帝国臓器製薬株式会社より供与された。同社による試験成績は次のとおりである。定量：99.5 %。

2. 参照物質及び試薬

国立医薬品食品衛生研究所エストラジオール標準品 (Control 964；以下、E R標準品と略称)¹⁾を対照物質とした。試薬及び溶媒は試薬特級品または特級相当品を用いた。

3. 装置

本標準品原料の品質試験にあたり、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
旋光計：日本分光，DIP-370型
融点測定器：宮本理研，PA-30S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型カラムオープン，東ソー製のAS-8010及び資生堂製データ処理装置。

4. 試験方法

特に記すもののほかは、日局一般試験法及び日局外規(1997)「エストラジオール」の規格及び試験法を準用した。

1) 薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験

薄層板：メルク社製プレコート薄層板シリカゲル 60F₂₅₄ (厚さ，0.25 mm)

展開溶媒：石油エーテル/エーテル/シクロヘキサノン 混液 (3:1:1)

試料溶液及び標準溶液の調整：標準品原料及びE R標準品 0.10 mg をとり，エタノール 10 ml を正確に加えて溶かし，試料原液及び標準原液とする。エタノールを加えて試料原液及び標準原液を希釈し，数種の濃度 (0.01 ~ 0.1 mg/ml) の試料溶液及び標準溶液を調整する。

操作法及び検出法：試料溶液及び標準液 5 μ l (エストラジオール 50 μ g 相当量) 及びその希釈液 3 ~ 5 μ l (0.03 ~ 0.5 μ g 相当量) をシリカゲル薄層板にスポットし，約 12 cm 展開した後，風乾し，更に 105 °C で 10 分間加熱する。これに薄めた硫酸 (3→4) を噴霧した後，105 °C で 3 分間加熱し，不純物スポットの有無及び検出限界を観察する。

2) 液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験

[#] To whom correspondence should be addressed:

Tsuyoshi Tanimoto; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-6941-1533; Fax: 06-6942-0716; E-mail: tanimoto@nihs.go.jp

標準品原料及びER標準品約 0.010 mg ずつを精密に量り、それぞれをエタノールに溶かし、正確に 10 ml とし、試料溶液及び標準溶液とする。これらの液 40 μ l につき、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。

操作条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：280 nm）

カラム：Inertsil ODS-3 (4.6 mm ϕ x 150 mm)

カラム温度：30 $^{\circ}$ C

移動相：水/アセトニトリル混液 (3 : 2)

流量：1.0 ml/min

検出感度：試料注入液の 1 % に相当する量を注入し、得られたピークの高さが記録紙のフルスケールの約 1/10 の高さになるように記録計の感度を調整する。更に、この条件で試料注入量の 0.05 % に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの面積が検出されるように感度を調整する。

面積測定範囲：溶媒ピークの後、エストラジオールの保持時間の 2 倍の範囲

3) HPLC 法による定量

標準品原料及びER標準品約 0.010 mg ずつを精密に量り、それぞれをメタノールに溶かし、正確に 25 ml とする。これらの液 2.5 ml ずつを正確に量り、それぞれに内標準溶液 1.5 ml 及びメタノール 25 ml を正確に加えた後、水を加えて 50 ml とし、試料溶液及び標準溶液とする。これらの液 25 μ l につき、次の条件で液体クロマトグラフ法による試験を行う。

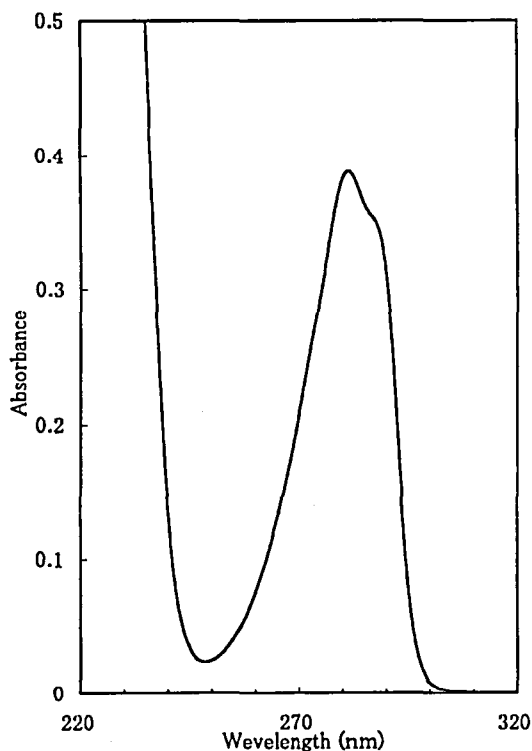


Fig.1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Estradiol Reference Standard

内標準溶液：パラオキシ安息香酸エチルのメタノール溶液 (3 \rightarrow 5000)

操作条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：205 nm）

その他の操作条件は、4.2 に記した純度試験における条件を準用する。

5. 試験結果

1) 性状

白色の結晶性粉末で、においはない。

2) 紫外吸収スペクトル

局外規「エストラジオール」の定量法の方法で標準品原料の紫外吸収スペクトルを測定するとき、波長 281 nm に吸収の極大が認められた（局外規規格：波長 279 ~ 283 nm に吸収の極大を示す）。また、吸収極大波長における比吸光度 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (λ max) は 77.6 ± 0.6 ($n=4$) であった。標準品原料の紫外吸収スペクトルを Fig.1 に示す。

3) 赤外吸収スペクトル

標準品原料の臭化カリウム錠剤法による赤外吸収スペクトルを Fig.2 に示す。標準品原料の赤外吸収スペクトルを ER 標準品のそれと比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収が認められた。

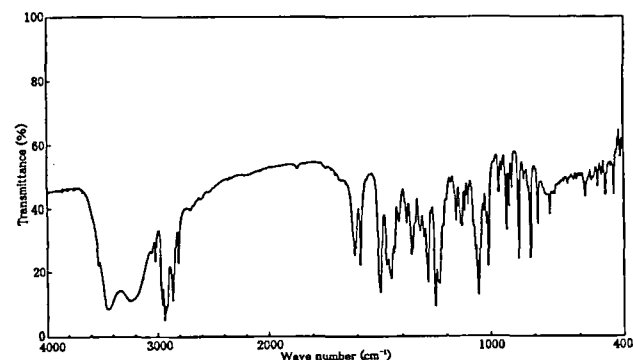


Fig.2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Estradiol Reference Standard

4) 旋光度

標準品原料の比旋光度 $[\alpha]_D^{25}$ は $+82.3 \pm 0.4^{\circ}$ ($n=3$) (乾燥後, 0.1 g, ジオキサン, 10 ml, 100 mm) であった (局外規規格: $[\alpha]_D^{25}$: $+75 \sim +82^{\circ}$)。

5) 融点

標準品原料の融点は、 $178.5 \pm 0.3^{\circ}$ C であった (局外規規格: $175 \sim 180^{\circ}$ C)。

6) TLC 法による純度試験

標準品原料及びER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 μ g まで異種スポットは認められなかった。また、本法による

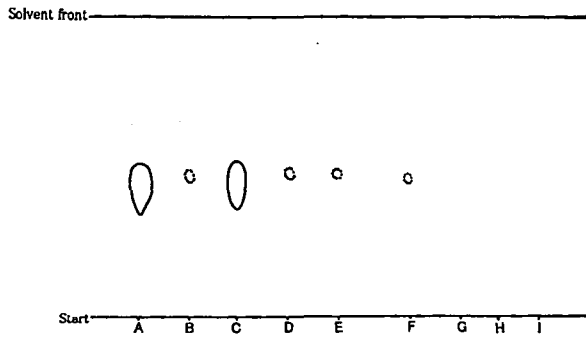


Fig.3 Thin-layer chromatograms of the raw material and NIHS Estradiol Reference Standard (Control 964)

Solvent system: petroleum ether/ether/cyclohexanone (3:1:1)

Spot; A and B are 50 μg and 0.5 μg of NIHS Reference Standard
C to I are 50, 0.5, 0.25, 0.1, 0.05, 0.04 and 0.03 μg of the raw material, respectively

エストラジオールの検出限界は、0.1 μgであった。

7) HPLC法による純度試験

標準品原料及びER標準品につき、HPLC法による純度試験で得られた液体クロマトグラムを Fig. 4 に示した。標準品原料及びER標準品とも、微量の不純物ピークが検出された。面積百分率で不純物ピークの総量は、標準品原料で 0.54 ± 0.02 % (n=3), ER標準品で 0.48 % と推定された。

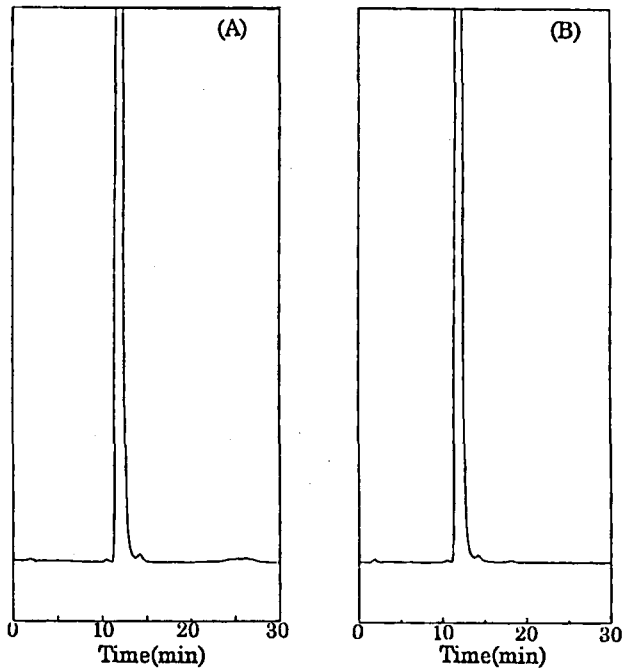


Fig.4 High-performance liquid chromatograms of the raw material and NIHS Estradiol Reference Standard

(A): The raw material

(B): NIHS Estradiol reference Standard (Control 964)

微量の不純物が検出されたが、その量は、吸光度測定法による定量分析 (局外規, 1997) に影響を及ぼすものではないと判断し、HPLC法による定量分析用標準品としても十分な品質を有するものと判断した。

8) 乾燥減量

本標準品原料の乾燥減量は 3.3 ± 0.1 % (n=6) (0.1 g, 105 °C, 4 時間) (局外規規格: 3.5 % 以下) であった。

9) 定 量

局外規「エストラジオール」の定量法を準用し、ER標準品を対照とし、吸光度測定法による定量を行った結果、100.2 ± 0.8 % (n=4) の値が得られた。

別に、ER標準品を対照としてHPLC法による定量試験を行った結果、99.9 ± 1.8 % (n=3) の値が得られた。

結 論

エストラジオール標準品原料につき、ER標準品 (Control 964) を対照にその品質を検討した結果、両者の間には物質特性に差のないことを確認した。この結果から、本標準品原料は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ものとし、Control 001として製造・配布することとした。

文 献

1) Kitajima, A., Tagashira, Y., Maekawa, K., Yoshii, K., Komatsu, H., Tanimoto, T. and Okada, S.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **115**, 187 (1997)

国立医薬品食品衛生研究所へパリンナトリウム標準品 (Control 991)

斎藤博幸・岩田美保・前川京子・谷本 剛[#]・岡田敏史

Heparin Sodium Reference Standard (Control 991) of National Institute of Health Sciences

Hiroyuki Saito, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Tsuyoshi Tanimoto[#] and Satoshi Okada

The National Institute of Health Sciences Reference Standard for Heparin Sodium (Control 991) was prepared. The potency of heparin sodium for the candidate reference standard was assayed against "Heparin Sodium Reference Standard (Control 871)" by JP Method in collaboration with 4 laboratories, and estimated as $1,453 \pm 25$ units per ampoule. The filling amounts of heparin sodium in ampoule was estimated as 7.46 ± 0.15 mg per ampoule, and the precision of filling into ampoule was about 2.0% as C.V.

Based on the above results, the candidate was defined as 1450 units per ampoule, and was authorized as the Heparin Sodium Reference Standard (Control 991) of the National Institute of Health Sciences.

Keywords: heparin sodium, reference standard, potency

日本薬局方「ヘパリンナトリウム」の定量法に用いられる国立医薬品食品衛生研究所「ヘパリンナトリウム標準品」は、前回製造後10数年を経過し、在庫量も減少したことから、今回、本標準品のロットを更新することとし、国立医薬品食品衛生研究所「ヘパリンナトリウム標準品 (Control 991)」(日本薬局方標準品)を製造したのでその結果を報告する。

1. 標準品原料

本標準品用原料としてのヘパリンナトリウムは清水製薬株式会社より入手した。本原料の供給元の特性値は次の通りである。比活性：203.7単位/mg(湿重量)，乾燥減量：6.65%，窒素含量：2.13%，ナトリウム含量：12.52%。

2. 標準品候補品の製造

標準品用原料(ヘパリンナトリウム)21gを注射用水3000mlに溶かし、メンブランフィルター(0.45 μ m)を用いてろ過する。ろ液1.0mlを正確に量り、バイアル瓶(容量：3ml，無色，ガラス製)に入れ、凍結乾燥した。凍結乾燥条件は次の通りとした。予備凍結：-20 $^{\circ}$ C，4時間，一次乾燥：-10 $^{\circ}$ C，96時間，10~13 Pa，二次乾燥：+30 $^{\circ}$ C，15時間，6~7 Pa。凍結乾燥後、バイアル瓶にゴム

栓及びアルミキャップを施し、密封した。

3. 試験方法

1) 力価測定

日本薬局方ヘパリンナトリウムの定量法に従って力価を測定した。力価を測定する際の標準品には前回ヘパリンナトリウム標準品(1,515単位/アンプル；Control 871)¹⁾を用いた。

2) 充てん量偏差試験

日本薬局方重量偏差試験法の「注射剤(用時溶解又は懸濁して用いる注射剤)」の操作法を準用して内容物の重量を測定した。

4. 試験結果

1) 力価

力価測定は4機関で行い、それぞれ14~24回の測定を行った(Table 1)。各機関での測定値の平均値はよく一致しており、測定値の変動係数(C.V.)も1.0~2.0%の範囲にあった。このことから、全測定値の単純平均値から標準品候補品の1バイアル中の力価を求めることとした。その結果、1バイアル中のヘパリンナトリウムの含有力価は $1,453 \pm 25$ 単位であった。

2) 充てん量の均一性

標準品候補品84バイアルについて、その充てん内容量の重量を測定し、充てんの均一性を検討した。Table 2に示すように、内容重量は 7.46 ± 0.15 mg ($n = 84$)，変動係数(C.V.)は2.0%であり、充てんの精度は十分に管理されて

[#] To whom correspondence should be addressed:
Tsuyoshi Tanimoto; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-6941-1533; Fax: 06-6942-0716;
E-mail: tanimoto@nihs.go.jp

いたと判断された。

結 論

へパリンナトリウム標準品の原料としてのへパリンナトリウムを入手し、これを溶解、分注、凍結乾燥することによって、標準品候補品を製造した。この標準品候補品の1バイアル当たりの内容物重量は $7.46 \pm 0.15\text{mg}$ (C.V.: 2.0%)であったことから、バイアルへの充てん精度はよく管理されたものと判断し、この標準品候補品の1バイアル当たりの含有力価を4機関の共同検定で試験した。試験の結果、1バイアル当たり $1,453 \pm 25$ 単位のへパリンナトリウムを含有するものと推定されたことから、本候補品は1バイアル中に1,450単位のへパリンナトリウムを含有するものと認定し、これを国立医薬品食品衛生研究所へパリンナトリウム標準品 (日本薬局方標準品), Control 991として配布をすることとした。

文 献

- 1) Yomota, C., Hasegawa, R., Komuro, T., Okada, S. and Kimura, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **107**, 148 (1989)

Table 1 Results of collaborative assay for candidate Heparin Sodium Reference Standard

Exp. No.	Potency(unit)/vial			
	Lab. A	Lab. B	Lab. C	Lab. D
1	1,438	1,463	1,495	1,479
2	1,502	1,472	1,504	1,442
3	1,426	1,473	1,490	1,452
4	1,439	1,465	1,502	1,457
5	1,403	1,427	1,454	1,461
6	1,433	1,459	1,460	1,433
7	1,424	1,480	1,421	1,464
8	1,408	1,462	1,450	1,475
9	1,399	1,457	1,432	1,430
10	1,458	1,465	1,471	1,465
11	1,432	1,428	1,475	1,472
12	1,416	1,446	1,435	1,452
13	1,434	1,428	1,429	1,441
14	1,458	1,440	1,381	1,407
15		1,453	1,440	1,465
16		1,456	1,486	1,480
17		1,465	1,471	1,442
18		1,451	1,472	1,470
19		1,446	1,459	1,439
20		1,450	1,485	1,451
21		1,451	1,464	
22		1,450	1,489	
23		1,436	1,496	
24		1,434	1,479	
Mean	1,434	1,452	1,464	1,454
±S.D.	±27	±15	±30	±19
C.V.(%)	1.9	1.0	2.0	1.3
Total Mean	1,453±25			
±S.D.				

Table 2 Variation of filling amounts in vial of candidate Heparin Sodium Reference Standard

	Heparin sodium contents in vial (mg/vial)						n=84
7.30	7.54	7.64	7.23	7.34	7.49	7.28	
7.42	7.47	7.45	7.39	7.62	7.25	7.37	
7.34	7.13	7.46	7.34	7.18	7.34	7.47	
7.40	7.48	7.59	7.73	7.56	7.54	7.54	
7.65	7.41	7.29	7.79	7.52	7.42	7.11	
7.19	7.14	7.62	7.72	7.56	7.60	7.34	
7.53	7.33	7.35	7.42	7.40	7.75	7.42	
7.41	7.65	7.26	7.58	7.66	7.15	7.81	
7.35	7.44	7.80	7.39	7.25	7.41	7.78	
7.66	7.28	7.69	7.65	7.26	7.83	7.46	
7.75	7.54	7.38	7.36	7.51	7.36	7.33	
7.36	7.74	7.52	7.19	7.43	7.29	7.61	
	Mean±S.D.: 7.46±0.15,			C.V.: 2.0%			

国立医薬品食品衛生研究所エンドトキシン 10000 標準品 (日本薬局方エンドトキシン 10000 標準品) (Control 0001)

中川ゆかり[#]・前田秀子・村井敏美・堀内善信*

The Endotoxin 10000 Reference Standard of the National Institute of Health Sciences (the Japanese Pharmacopoeia Endotoxin 10000 Reference Standard) (Control 0001)

Yukari Nakagawa[#], Hideko Maeda, Toshimi Murai, Yoshinobu Horiuchi*

To establish the fourth lot (Control 0001) of the Endotoxin 10000 Reference Standard of the National Institute of Health Sciences (the Japanese Pharmacopoeia Endotoxin 10000 Reference Standard), a candidate standard (CS) was prepared and then evaluated. The potency of the CS was assayed against USP Endotoxin Reference Standard (Lot G-1) and defined as containing approximately 20,000 endotoxin units (EU) per vial by a collaborative study in which 5 laboratories participated. Based on the results, the CS was authorized to be the fourth lot of the Endotoxin 10000 Reference Standard containing 20,000 EU per vial.

Keywords: endotoxin, reference standard

国立医薬品食品衛生研究所エンドトキシン 10000 標準品 (日本薬局方エンドトキシン 10000 標準品) の新ロット (第4回標準品, Control 0001) 候補品を調製し, 力価設定のための共同検定を実施したので報告する. なお, 国立医薬品食品衛生研究所エンドトキシン標準品 (日本薬局方エンドトキシン標準品) は, 平成12年4月1日付で国立医薬品食品衛生研究所エンドトキシン 10000 標準品 (日本薬局方エンドトキシン 10000 標準品) と名称変更された.

実験材料及び方法

1. 標準品原料及び製造

当部において大腸菌 (*E. coli* UKT-B) 乾燥菌体より抽出精製したりボ多糖を原料 (前ロットで使用したものと同一原料) として用いた. 本原料をエンドトキシン試験用水に溶解し, これに賦形剤としてマンニトールを添加した後バイアルに無菌的に分注し (標準品原料 2 µg/vial, マンニトール 40 mg/vial), 凍結乾燥したものを標準品候補品とした (和光純薬工業株式会社に製造を依頼した).

2. 力価 (エンドトキシン単位, EU) の検定

標準品候補品の力価は, 米国薬局方標準品 (USP) エンドトキシン標準品 Lot G-1 (EC-6, 10,000 EU/vial) を基準としてこれに対する相対力価を算出することにより求めた. 力価の検定は, 公的機関として国立医薬品食品衛生研究所大阪支所 (生物試験部) 及び国立感染症研究所 (安全性研究部) の2機関, 国内の主要エンドトキシン定量試薬 (ライセート試薬) 関係企業として和光純薬工業株式会社, 生化学工業株式会社及び第一化学薬品株式会社の3社の計5機関による共同検定で行った.

3. 試薬及び測定

測定試薬のロットを統一するために, 参加各企業から1種類ずつ (計3種類) 同一ロットのライセート試薬が提供された (Limulus ES-II Test Wako, lot KMJ1317; 和光純薬工業, Endospey ES-50M, lot 36M029; 生化学工業, Kinetic-QCL Kit, lot 9L1480; 第一化学薬品). 測定は第十三改正日本薬局方エンドトキシン試験法に準拠し, Limulus ES-II Test Wakoはカイネティックー比濁法, Endospey ES-50M及びKinetic-QCL Kitはカイネティックー比色法により行った.

4. 検定方法

方法及び操作は, 各参加機関とも詳細を規定した同一のプロトコールに従って行った. 検定方法の概略を以下に記す.

USP標準品及び標準品候補品 (17,000 EU/vialと仮定) をエンドトキシン試験用水に溶解し, 5,000及び10,000 EU/ml

* 国立感染症研究所

[#] To whom correspondence should be addressed:

Yukari Nakagawa; 1-1-43, Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540,
Japan; Tel: 06-6941-1533 ext. 21; Fax: 06-6941-5672; E-mail:
yukari@nihs.go.jp

の原液を調製した。なお、これらについてバイアル間ではらつきがある可能性を考慮し、USP標準品は3本分の原液を、標準品候補品は5本分の原液をプールして用いた。このプールした原液から、連続3日間にわたり、それぞれ3希釈系列を各日1回調製し測定を行った。企業各社は自社の測定試薬を用いて測定を行い、国立2機関は3種類すべての試薬を用いて測定を行った。

5. 相対力価の算出

得られた測定値から、用量反応回帰の直線性、平行性が成立する回帰線を用いて、平行線定量法（生物学的製剤基準エンドトキシン試験法第二法）により、USP標準品に対する標準品候補品の相対力価を算出した。得られた相対力価を対数変換したのち、以下の統計学的処理を行った。

1機関で1試薬について行った9回（3希釈系列×1回測定×3日間）の測定を同一条件下での9繰り返し測定とみなし、1機関1試薬単位での対数相対力価の平均値M及びMの分散の推定値Vmを求めた。3機関×3試薬での測定で得られた9個のMにつき、下式によりVmの逆数を重みとする加重平均値wMを求め、全体での平均相対力価とした。

$$wM = \{ \sum (M_i/V_{mi}) \} / \sum (1/V_{mi})$$

結果及び考察

標準品候補品の力価を17,000 EU/vialと仮定し、USP標準品に対する標準品候補品の相対力価を共同検定により求めた。共同検定の実施にあたっては、過去におけるエンドトキシン100標準品候補品の共同検定¹⁾において作成した

プロトコルに準拠し、力価検定用として選定された3種類の試薬を用いて実験を行った。プロトコルの作成に当たっては、偏りとなり得る様々な要因（変動因）をできるだけ排除し、また排除できない場合にはそれらが特定の試料の測定値に偏って働くことのないよう配慮した。

各機関で力価検定を実施し、3種類の試薬についてそれぞれ3機関（国立機関2機関、企業1機関）での測定データを得た。データの集計に際し、得られた測定値が正規性を示すか否かを累積確率プロットにより検討したところ、全データを一括して評価した場合には正規性は否定された（データは省略した）が、各試薬について機関ごとにデータを評価したところ、大部分のデータにおいて正規性が認められた（データは省略した）。そこで、Table 1に示したように、まず各試薬について機関（A～E）単位で対数相対力価（Log RP）の平均値Mを算出し、得られた9個のMについて、測定精度に応じて重みを与えて加重平均し、全体の平均相対力価を求めた。すなわち、Mの分散の推定値Vmを求め、その逆数を重みwとして加重平均値wMを求めた。その結果、wM=0.1081となり、その逆対数として求められる、全体の平均相対力価は1.2825と算定された。この成績より、標準品候補品の力価は21,800 EU/vialと推定された。なお、参考としてゲル化法（Pyrotell; ACC）により、標準品候補品の力価を求めた結果、19,300 EU/vialという値が得られた。

以上の成績に基づき、本標準品候補品の力価を20,000 EU/vialと決定した。

Table 1. Summary of the collaborative study for determining relative potency of the candidate standard against USP endotoxin reference standard

	LAL reagent/Laboratory								
	ES-II			Endospeccy			Kinetic-QCL		
	A	B	E	A	C	E	A	D	E
M	0.1609	0.1937	0.1805	-0.0065	-0.0290	-0.0244	0.0048	0.0769	0.0680
Ve	0.0000465	0.0000047	0.0000769	0.0045158	0.0035566	0.0063236	0.0001366	0.0022869	0.0005625
Vm	0.000171	0.000038	0.000291	0.000315	0.000155	0.000254	0.000112	0.002332	0.000368
w	5852.8	26314.0	3434.7	3176.3	6442.3	3936.1	8911.4	428.8	2718.6
wM	0.1081								
antilog wM	1.2825								

M: mean log R. P. (n=9), R. P.: relative potency, Ve: error variance, Vm: variance of M, w: weight, wM: weighted mean of M.
A-E: laboratories participated in the collaborative study.

結 論

今回新たに製造したエンドトキシン 10000 標準品候補品の方価について、USP エンドトキシン標準品 Lot G-1 を対照として国内5機関による共同検定を行った結果、候補品の方価は 20,000 EU/vial のエンドトキシンを含有するものと認められた。この成績に基づき、本候補品を国立医薬品食品衛生研究所エンドトキシン 10000 標準品（日本薬局方エンドトキシン 10000 標準品）(Lot 4, Control 0001) とし、その1バイアル中にエンドトキシン 20,000 EU を含むものと認定した。

終わりに、本標準品の製造に御協力頂いた和光純薬工業株式会社、生化学工業株式会社及び第一化学薬品株式会社の関係各位に深謝致します。

文 献

- 1) Murai, T., Nakagawa, Y., Maeda, H., Kawashima, K., Tanaka, S., Tamura, H., Tsuchiya, M., Takaoka, A., Matsukawa, M. and Horiuchi, Y.: *Iyakuhinkenkyu*, **31**, 75-79 (2000)

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 (第二次) (平成9年度～平成11年度)

世話人 病理部 広瀬 雅雄

医薬品をはじめとする各種化学物質のヒトに対する安全性確認のために、従来より実験動物を用いた試験法が実施されているが、種々の面で見直しが必要とされている。たとえば、多数の動物を用い、長期間にわたる実験が要求されることに由来する多大な労力と経費の問題、化学物質の代謝などにおけるヒトと実験動物との間の種差の問題、化学物質の曝露を直接的に示す付加体などを検知する鋭敏な指標がまだ実用化されていない問題、動物愛護の問題などが挙げられる。ところで、近年の分子生物学、細胞培養技術、バイオ技術などの進歩は、従来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評価を、細胞レベルまたは分子レベルで判定できる可能性を示唆する。本研究班は、化学物質による生体内の分子変化や微量反応などの測定法を確立し、従来の試験法との比較においてその毒性学的な有意性を明らかにし、新規の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を目的とした。

第一次研究期間(平成6年度～8年度)においては、*in vitro*ないしは*in vivo*の試験系を用いて、分子、細胞および組織レベルでの種々の指標の有用性について検討し、基礎研究段階としていくつかの指標が安全性評価に応用可能であることを明らかにした。第二次研究期間(平成9年度～11年度)では、新しい指標のさらなる探索を含め、各指標が迅速かつ鋭敏な評価手段として有意かどうかをさらに検討した。毒性部では、正常ラットの肝臓、腎臓、脾臓および肝細胞分画中の微量元素(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、各臓器および肝細胞各分画における微量元素の存在パターンの特徴を明らかにした。療品部では、医用材料として使用されるあるいは不純物として混在する可能性のある各種金属イオンは細胞間連絡、神経発生分化および

軟骨分化を阻害し、特に細胞間連絡の最小有効阻害濃度が生物影響評価において有用な毒性指標となる可能性を明らかにした。生物薬品部では、四塩化炭素を投与したラットの肝臓をRT-PCR法を用いて検索し、インヒビン β B、 β C、 β EmRNAが肝障害の指標として有用であることを明らかにした。機能生化学部では、化学物質のもつアレルギー促進活性をマスト細胞を用いて*in vitro*で評価する場合、マスト細胞への情報伝達系への影響を含めて考えることが重要であること、刺激後30分以内に放出されるヒスタミンや β -hexosaminidaseばかりでなく、転写促進活性を伴い刺激後3時間以上たつて放出されるサイトカイン類も有用なマーカーであることを明らかにした。薬理部では、ヒトにおけるジフェニールの代謝に関して、CYP450発現系を用いることで、ヒト肝ミクロソームの関与を推測可能であることを明らかにした。病理部では、環境中の発がん物質である2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4, 5-b]-pyridine (PhIP)をラットに投与して、免疫組織化学的および電子顕微鏡的に検索した結果、強力な発がん物質である4-hydroxyaminoquinoline (4HAQO)と同様に、DNA付加体形成、核小体分離および細胞増殖が標的臓器において連続的に発現することを明らかにした。大阪支所生物試験部では、butyl benzyl phthalate (BBP)およびtributyltin chloride (TBTCI)について検討し、偽妊娠ラットにおける脱落膜反応に対する影響を調べることにより胚致死作用を検出することが可能であることを明らかにした。

以上、各担当部が行った研究の概要について説明したが、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。本研究班は化学物質の安全性評価のための迅速かつ鋭敏な毒性指標を確立することを目的として発足し、そのイニシエーションの任務をおおよそ果たしたものであると思われるが、さらにそれをプロモートする研究を進める

必要がある。

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]

第一次報告¹⁾に継続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、今回はCRJ-F344ラットの26ヶ月までの肝臓、腎臓、脾臓および7ヶ月までの肝細胞分画中の必須元素の分析結果を報告する。

[方法]

- 飼育方法：実験動物は室温 $24 \pm 5\%$ 、照明12時間のバリア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。
- 検体および測定元素：肝臓、腎臓、脾臓、肝細胞分画および参考資料として胃内容物、市販飼料中のカルシウム (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元素を測定した。
- 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 As社製ICAP-61試料分解容器；三菱科学製電気レンジ用試料分析容器

電子レンジ；日立製MR-M26

- 分析法：肝臓、腎臓、脾臓は摘出後、凍結乾燥した。肝細胞分画は組織1gに0.25M ショ糖3mlを加え、テフロン軸ガラスホモジナイザーでホモジナイズした。そのホモジネートを冷却遠心し、核分画、ミトコンドリア分画、マイクロソーム分画および細胞質分画の4分画に分けた。胃内容物は1および2週齢ラットの胃を摘出し冷凍乾燥後、乾燥乳を取り出した。飼料は市販の飼料4種類とした。乾燥臓器、肝細胞分画、乾燥乳、飼料を電子レンジを用いて硝酸・過塩素酸で湿式分解²⁾し、その分解溶液中のCa、Cu、Fe、Mg、Mn、Zn濃度をICPで測定した。

5. 結果：

肝臓、腎臓、脾臓中の必須元素の月齢変動と元素分布 (1ヶ月齢～26ヶ月齢) をFig 1, 2, 3, 4に示した。

肝臓について：Ca、Mn、およびZn濃度は月齢、性差による大きな変化はなく一定の値を示していた。CuおよびMg濃度は18ヶ月齢までは雌が高い値を示したが、その後は逆に雄が高い値を示した。月齢による変化は認められなかった。Fe濃度は月齢に伴って増加し、常に雌が高い値を示していた。

腎臓について：Ca、Cu、FeおよびZn濃度はいずれも雌が高い値を示していた。Fe、Cuについては月齢に伴って増加した。Mg、Mnは雌雄、月齢による変化は認められなかった。

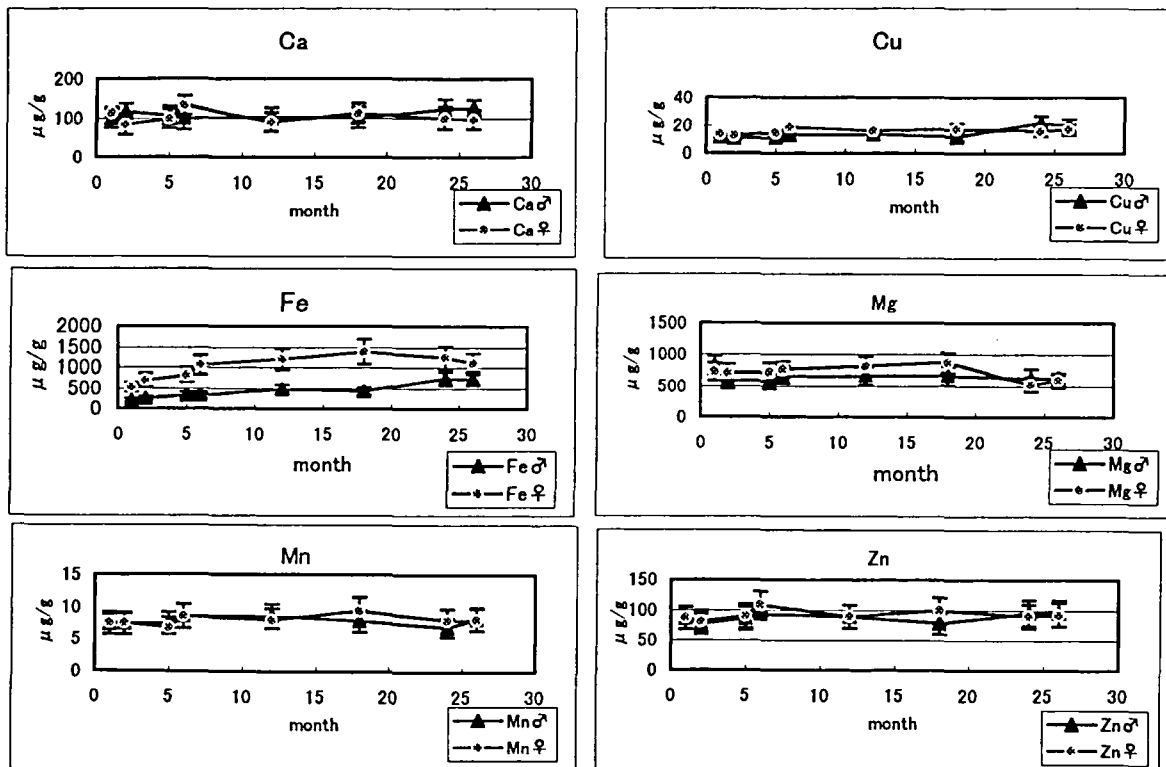


Fig. 1 Changes in Ca, Cu, Fe, Mg, Mn and Zn concentration in the liver of CRJ-F344 rat along with aging

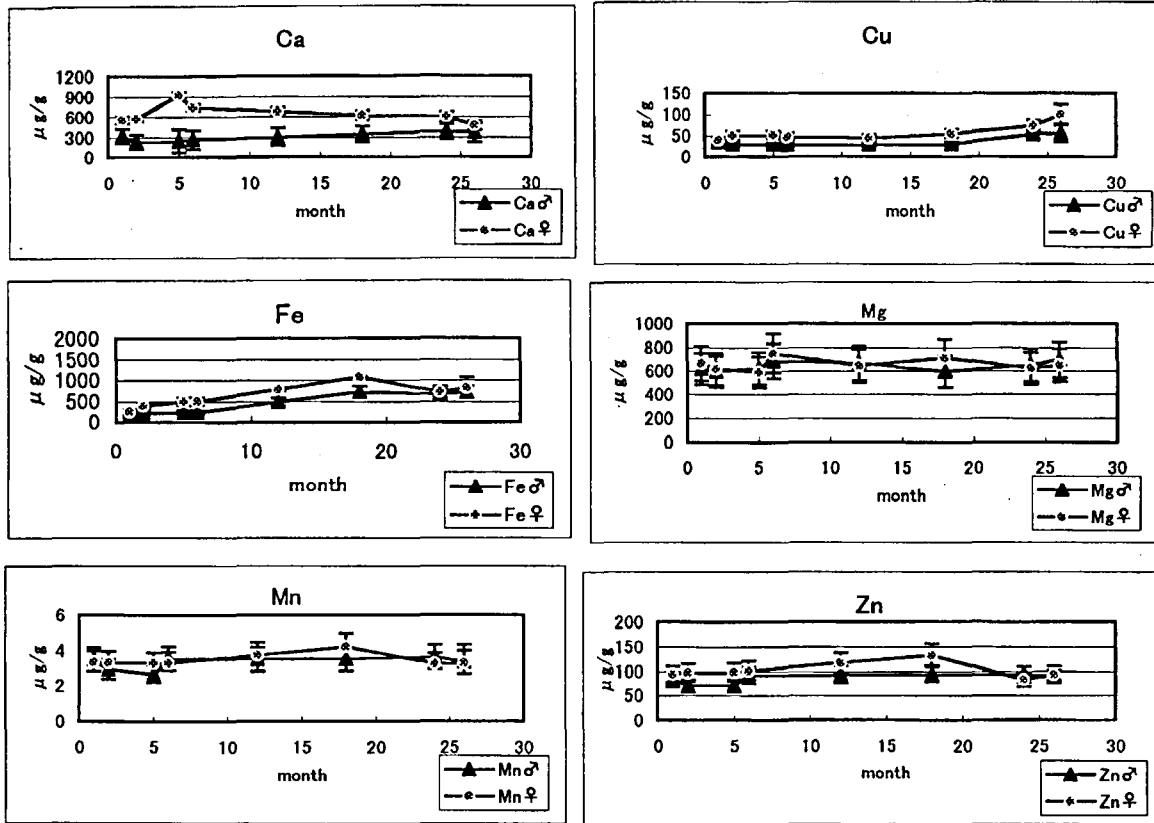


Fig. 2 Changes in Ca, Cu, Fe, Mg, Mn and Zn concentration in the kidney of CRJ-F344 rat along with aging

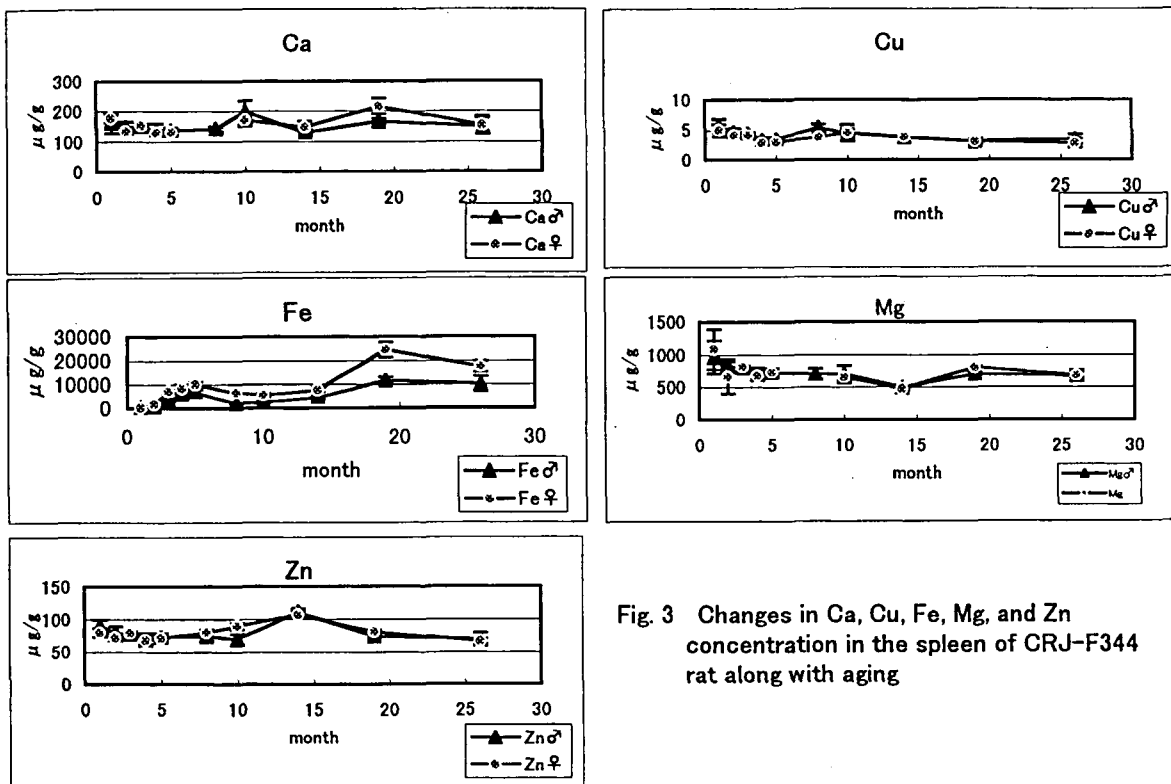


Fig. 3 Changes in Ca, Cu, Fe, Mg, and Zn concentration in the spleen of CRJ-F344 rat along with aging

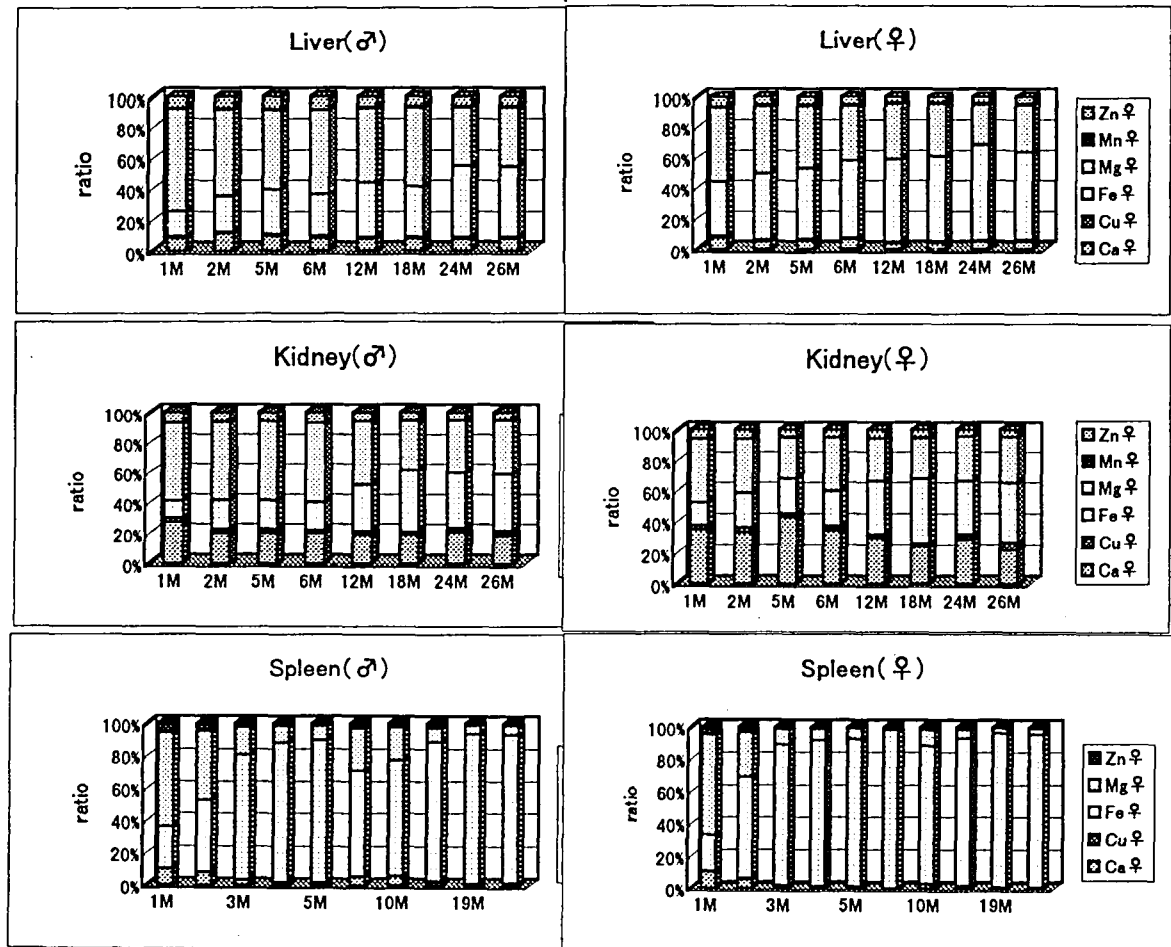


Fig. 4 Changes in 6 or 5 essential metals ratio from male and female rats liver, kidney and spleen

Table 1 Concentration of 6 essential metals in each cellular fraction from male and female rats liver

1ヶ月齢		Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	Zn
male	核・未破碎	97	13.3	158	530	6.35	59.1
	ミトコンド	165	24.7	233	567	6.3	62.2
	可溶性分画	5.3	6.57	83	144	1.24	58
	ミクロゾーム	91.7	8.7	591	827	2.9	66.1
female	核・未破碎	107	11.2	179	542	6.59	55.2
	ミトコンド	163	20.8	285	571	6.3	59
	可溶性分画	5.92	5.47	86	134	1.19	53.7
	ミクロゾーム	87.5	7.78	802	823	2.9	64.4
2ヶ月齢		Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	Zn
male	核・未破碎	98	9.1	121	458	6.57	45.7
	ミトコンド	119	12.2	199	563	7.14	62.9
	可溶性分画	4.39	8.28	81	174	1.45	65.8
	ミクロゾーム	81.1	6.8	492	745	2.9	61.6
female	核・未破碎	95	8.3	273	484	5.49	55.1
	ミトコンド	135	12.4	396	542	6.46	63.5
	可溶性分画	5.46	8.7	156	155	1	71.0
	ミクロゾーム	81.2	7.56	1652	859	2.28	71.0
3ヶ月齢		Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	Zn
male	核・未破碎	111	10	150	520	7.89	56.1
	ミトコンド	119	12.2	190	563	7.14	62.9
	可溶性分画	4.39	8.28	81	174	1.45	65.8
	ミクロゾーム	81.1	6.8	492	745	2.9	61.6
female	核・未破碎	89	9.6	380	527	5.33	58.7
	ミトコンド	135	12.4	532	542	6.46	63.5
	可溶性分画	5.46	8.7	156	155	1	71.0
	ミクロゾーム	81.2	7.56	1652	859	2.28	71.0
4ヶ月齢		Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	Zn
male	核・未破碎	67	10.1	145	455	5.28	47.7
	ミトコンド	117	10.4	190	542	7.07	56.5
	可溶性分画	3.86	8.69	75	162	1.12	60.4
	ミクロゾーム	77.71	5.44	600	697	2.99	65.6
female	核・未破碎	94	9	359	501	7.07	61.1
	ミトコンド	127	15.2	678	615	6.89	61.1
	可溶性分画	5.49	11.2	249	183	1.27	66.8
	ミクロゾーム	84.84	8.49	2499	901	2.7	72.8
5ヶ月齢		Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	Zn
male	核・未破碎	103	8.2	170	538	7.65	52.3
	ミトコンド	137	9.9	197	572	8.51	49.6
	可溶性分画	4.1	7.89	83	177	1.5	57
	ミクロゾーム	73.3	4.88	620	645	3.01	54.6
female	核・未破碎	85	9.9	546	541	6.22	54.6
	ミトコンド	123	13.5	793	647	7.27	58.4
	可溶性分画	4.87	9.95	194	169	1.2	61.6
	ミクロゾーム	79.6	6.58	3588	860	2.3	67.2
6ヶ月齢		Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	Zn
male	核・未破碎	109	9.04	175	542	9.18	54.5
	ミトコンド	128	11.7	179	571	9.04	57.7
	可溶性分画	4.17	9.14	85.0	181	1.59	64.5
	ミクロゾーム	79	5.33	689	740	3.34	61.8
female	核・未破碎	88	10.8	545	534	7.16	55.6
	ミトコンド	112	14.2	889	587	7.21	60.3
	可溶性分画	5.02	10.5	204	154	1.19	60.6
	ミクロゾーム	79	6.97	3512	853	2.72	69.1
7ヶ月齢		Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	Zn
male	核・未破碎	112	7.98	185	489	7.66	51.2
	ミトコンド	122	10.8	278	546	7.09	58.9
	可溶性分画	3.49	8.28	88.0	172	1.39	59.6
	ミクロゾーム	82	5.05	1050	737	2.7	64.4
female	核・未破碎	93	9.1	527	503	6.89	48.6
	ミトコンド	108	12.4	1044	565	6.22	57.6
	可溶性分画	3.56	8.5	228.0	152	1.11	53.9
	ミクロゾーム	72	6.09	3055	832	2.5	64.5

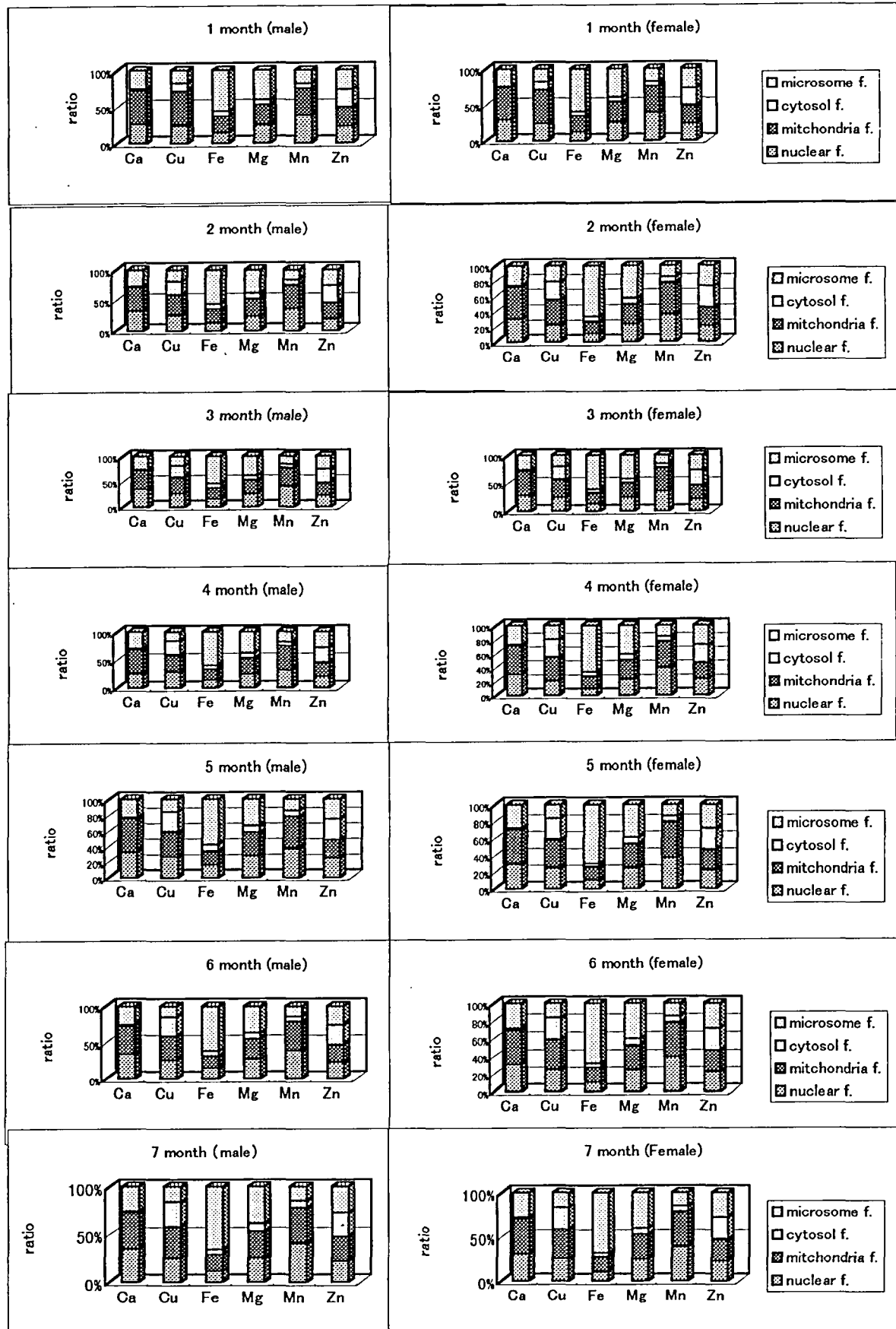


Fig. 5 Ratio of essential metals in each cellular fraction from male and femal rats liver

Table 2 1週齢, 2週齢雌雄ラットの胃内容物 (milk)中の必須元素濃度

1 week ♂	Ca ppm	Cu ppm	Fe ppm	K ppm	Mg ppm	Mn ppm	Na ppm	P ppm	S ppm	Zn ppm
average	9072	13.6	50.0	1919	517	0.40	703	7173	2458	53.2
SD	476	1.16	11.9	145	29	0.07	90	170	108	6.37

2 week ♂	Ca ppm	Cu ppm	Fe ppm	K ppm	Mg ppm	Mn ppm	Na ppm	P ppm	S ppm	Zn ppm
average	10741	12.3	33.0	1683	493	0.68	499	8009	2863	58
SD	481	0.42	2.2	142	38	0.24	75	201	70	5.56

1 week ♀	Ca ppm	Cu ppm	Fe ppm	K ppm	Mg ppm	Mn ppm	Na ppm	P ppm	S ppm	Zn ppm
average	8739	15.1	52.7	2475	638	0.36	836	7164	2342	52.7
SD	426	1.10	0.96	340	26	0.06	120	216	59	3.51

2 week ♀	Ca ppm	Cu ppm	Fe ppm	K ppm	Mg ppm	Mn ppm	Na ppm	P ppm	S ppm	Zn ppm
average	10420	11.8	24.8	2214	577	0.47	753	7460	2761	44.9
SD	946	1.37	3.27	532	87	0.17	116	609	160	4.03

Table 3 市販飼料中の必須元素濃度

船橋 マウス・ラット飼育用

F-2	Ca ppm	Cu ppm	Fe ppm	K ppm	Mg ppm	Mn ppm	Na ppm	P ppm	S ppm	Zn ppm
average	5522	9.0	164	7227	1911	87.8	1507	6382	2270	42.9
SD	439	0.88	22	191	48	27.4	85	329	70	1.11

オリエンタル チャールスリバーフォーミュラー

CRF	Ca ppm	Cu ppm	Fe ppm	K ppm	Mg ppm	Mn ppm	Na ppm	P ppm	S ppm	Zn ppm
average	10935	10.3	138	9220	2429	71.4	2897	8150	2648	69
SD	253	0.75	10	178	54	10.1	104	334	39	5.31

クレア マウス・ラット・ハムスター特殊繁殖用

OA2	Ca ppm	Cu ppm	Fe ppm	K ppm	Mg ppm	Mn ppm	Na ppm	P ppm	S ppm	Zn ppm
average	16095	5.20	285	6565	1732	63.1	2654	10928	2827	45.1
SD	667	0.18	6	81	19	7.5	31	309	131	0.75

クレア マウス・ラット飼育繁殖用

	Ca ppm	Cu ppm	Fe ppm	K ppm	Mg ppm	Mn ppm	Na ppm	P ppm	S ppm	Zn ppm
average	10013	6.9	286	10198	2885	79.7	2439	10064	2667	47.2
SD	358	0.27	6	150	22	7.0	60	219	38	1.59

オリエンタル マウス・ラット・ハムスター飼育用

CE2	Ca ppm	Cu ppm	Fe ppm	K ppm	Mg ppm	Mn ppm	Na ppm	P ppm	S ppm	Zn ppm
average	10648	8.1	106	9558	2492	48.6	2461	9030	2676	54.0
SD	668	0.12	4	145	54	0.5	106	397	17	1.78

脾臓について：Fe濃度は雌が高い値を示し月齢に伴って増加した。Ca, Cu, MgおよびZn濃度には性差および月齢変動は見られなかった。Mnは肝臓、腎臓と比較して低濃度であったため本条件下では検出濃度以下であった。臓器内元素分布 (Fig. 4) で比較すると肝臓にはMg, Fe, 腎臓にはMg, Fe, Ca, 脾臓にはMg, Feが多く、月齢によって変化が認められた。肝細胞分画中の元素濃度 (1ヶ月

齢～7ヶ月齢) をTable 1, 元素濃度分布比をFig. 5に示した。

Ca, Cu, Mn濃度の高い分画はミトコンドリア>核・未破壊細胞>ミクロゾーム>可溶性分画

Fe, Mg, Zn濃度の高い分画はミクロゾーム>ミトコンドリア>核・未破壊細胞>可溶性分画であった。

乾燥ミルクおよび飼料中の元素濃度をTable 2, 3に示し

た。

参考文献

- 1) 特別研究報告(第一次) 国立医薬品食品衛生研究所報告, 116, 119~218 (1998)
- 2) Kojima, I., Uchida T. and Iida, C.: Pressurized microwave digestion of biological samples for metal determination. Analytical Sciences, 4, 211~214 (1988)

細胞間連絡障害活性の重要性

療品部 土屋利江, 中村晃忠

「目的」

ギャップ結合蛋白コネキシンは、ヒトや動物細胞に幅広く存在し、細胞と細胞間の情報伝達に重要な機能を示す膜蛋白である。ギャップ結合構成蛋白分子であるコネキシンの突然変異によって生じた疾患が明らかになり、その重要性が認識されている。正常組織のほとんどすべての細胞間に、ギャップ結合が存在する。ギャップ結合は、直径1.2nmであり、分子量1000以下の物質が通過しうること、また、荷電や、化学的組成の違いによる通過性において、それほど選択性はないと考えられている。しかし、最近、コネキシン分子の種類により、通過する分子量の大きさ等に選択性がみられること、コネキシン分子の細胞内での合成、分解の一連の動的回転と、細胞の生理学的状態との関係が、シグナル伝達分子を中心においた研究の進展により、次第に理解が深まりつつある。更に、コネキシン分子の立体構造と機能変化との関係や、コネキシンのN末、C末側の構造および膜貫通ドメインと機能変化との関係も、細胞工学的手法等により、急ピッチに解析が進み分子的理解が深まりつつある。いずれにしても、ギャップ結合連絡は、細胞のホメオスタシスを維持する上で重要な細胞間装置である。

本特別研究第一次で、医用材料に添加される各種添加剤を中心に、細胞間連絡障害活性の安全性評価上での有用性を検討し、12 well plateを用いた迅速かつ鋭敏な試験方法を確立した。そこで、本研究第二次では、医用材料に使用あるいは、不純物として混在する可能性のある各種金属イオンが、細胞間連絡を阻害する可能性およびその最小有効阻害濃度を明らかにした。さらに、われわれの方法で得られた最小有効阻害濃度が、生物影響評価において、有用な毒性指標として使用可能であるのかを明らかにするために、神経発生分化阻害強度との関係を中心に検討した結果について報告する。また、各金属塩の骨格系の催奇形性発現を予測するために、軟骨分化に及ぼす影響についても併せて評価した。

「方法」

試験化合物：硝酸カドニウム、オルトバナジン酸ナトリウム、塩化亜鉛、硝酸鉛、塩化チタンおよび硫酸銅を入手し、試験に用いた。

細胞株：V79細胞の野生株(HGPRT+)およびその変異株であるTG1細胞(HGPRT-)は、国立医薬品食品衛生研究所・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。

代謝協同阻害試験：前回報告した方法で試験を行った¹⁾。

神経分化阻害試験²⁾：胎齢13日のラット胎児の将来中脳になる領域を切り出し、トリプシン処理を行い、得られた細胞を 5×10^6 /mlに調製後、24wellには、20 μ l、96wellには、5 μ lをスポット状に播種する。細胞を接着させるために、炭酸ガス培養装置内に、1時間程度静置する。培地を24wellには、0.5ml、96wellには、0.2mlを加えて高密度培養を行う。培養1日目に、各種金属塩を種々の濃度で含む培地溶液を加えて、更に6日間培養する。培養開始から7日目に、細胞増殖の程度をニュートラルレッド法で、細胞分化の程度は、ヘマトキシリン染色し、濃染された神経細胞巣の数を顕微鏡下で数えて評価する。コントロールの細胞増殖および細胞分化の平均値を100%とした時、その50%を阻害する試験金属塩の濃度(IC50(μ g/ml))により、金属塩の増殖阻害強度および分化阻害強度を示した。

「結果および考察」

6種の金属塩について試験した結果、代謝協同阻害活性を認めた。最小有効阻害濃度の低い順に示すと、硝酸カドニウム(0.25 μ g/ml) < 硫酸銅(0.75 μ g/ml) < オルトバナジン酸ナトリウム(1.0 μ g/ml) < 塩化亜鉛(10 μ g/ml) < 硝酸鉛(19 μ g/ml) < 塩化チタン(50 μ g/ml)となり、この順に、代謝協同阻害作用が強いことが明らかになった。

一方、胎児の中脳由来の初代細胞を用いて、神経分化阻害能について試験した結果、いずれの金属塩も神経分化を阻害する活性が認められた。細胞増殖阻害強度を、IC50で示すと、硝酸カドニウム(2.6 μ g/ml) < オルトバナジン酸ナトリウム(3.0 μ g/ml) < 硫酸銅(16 μ g/ml) < 塩化亜鉛=硝酸鉛(20 μ g/ml) < 塩化チタン(100 μ g/ml)であった。神経分化強度阻害と細胞増殖阻害強度との関係は、ほぼ強さの順序は同じであり、両者の間で相関性を認めた。しかし、細胞増殖阻害は、神経分化阻害に比べて阻害能が弱かった。IC50値で比較すると、硝酸カドニウムでは、約9倍、硫酸銅およびオルトバナジン酸ナトリウムで約3倍高濃度で、細胞増殖阻害のIC50値を示した。従って、これらの3種の金属塩では、親や胎児全体での毒性が出ない濃度で特異的に神経毒性作用を示す可能性があることが示唆された。

代謝協同阻害との関係について調べた結果、神経分化阻害と良い相関性を示した。硫酸銅以外の4種の金属塩では、代謝協同阻害の最小有効阻害濃度と神経分化阻害のIC50値は、ほぼ同じ濃度域であった。

代謝協同阻害はチャイニーズハムスターの肺由来の細胞を用いた結果である。一方、神経分化はラット胎児の中脳領域の組織由来の細胞である。このように、臓器も種も異なる2種の細胞で試験したにもかかわらず、神経分化阻害と代謝協同阻害とが良い相関性を示したのは、おそらく同じ分子種のコネキシンが両細胞系で働いていることが要因であると考えられる。

ラット脳の神経細胞は、コネキシン43が、ギャップ結合を担っている。一方、V79細胞のコネキシンをウェスタンブロット法で解析した結果、コネキシン43が機能していることを確認している。コネキシンはすでに13種以上の分子が同定されているが、いずれも、N末とC末側が細胞質内に存在し、膜を4回貫通する構造を有している。C末側のアミノ酸配列はコネキシンの分子種により異なり、C末側の配列が組織特異性を示すと考えられている。従って、細胞が異なっても、同じコネキシン43を有している細胞であることから、金属塩による阻害効果も同じアミノ酸配列の分子との相互作用の結果、誘発されたと考えると、同じ濃度域での阻害効果も理解できる。しかし、これらの金属塩がどのように、ギャップ結合を阻害するのか、コネキシンの分子変化や磷酸化修飾の可能性等を更に詳細に検討する必要がある。

試験した金属塩の神経毒性および催奇形性作用について調査した結果、硝酸鉛および硝酸カドミウムは、神経毒性を示し、水頭症を発生する。オルトバナジン酸ナトリウムおよび塩化亜鉛は骨系の奇形を誘発する。硫酸銅はハムスターで、心血管系の欠損が報告されている。オルトバナジン酸ナトリウムについては、胎児の軟骨分化を神経分化の5分の1の濃度で阻害することから、*in vivo*では、より低濃度で阻害される骨形成阻害が催奇形性作用として発現しやすいものと考えられる。同じく塩化亜鉛についても、骨系の奇形や遅延が報告されているが、この場合にも、神経阻害のIC50値の3分の1の濃度で、軟骨分化を阻害した結果を得ている。神経毒性が報告されている硝酸鉛や硝酸カドミウムでは、軟骨分化阻害のIC50値は神経分化阻害のIC50値の3倍高い値を示し、神経組織への催奇形性作用が発現しやすい結果を支持するものであった。硫酸銅は、*in vivo*での心血管系の欠陥や炎症による浮腫が報告されている。硫酸銅をV79代謝協同阻害、神経分化、軟骨分化3種の系で試験した結果、最も低い濃度で硫酸銅が阻害した系は代謝協同阻害試験であった。コネキシン43ノックアウトマウスは、出生直後に死に至ることが報告されている。死因は、心臓に直結した血管の破裂によるものであった。心臓および血管はコネキシン43が存在する器官であり、

この分子がノックアウトされたマウスでは、循環器系の欠陥(血管破裂)を生じると考えられる。すなわち、硫酸銅は、神経分化や軟骨分化への影響に比べて、V79代謝協同阻害で検出可能なコネキシン43からなるギャップ結合機能を強く阻害する作用があるため、コネキシン43の機能が不可欠な心血管系の欠損ハムスターを発生したものと推察した。

塩化チタンについては、酸化されやすいため、添加後、一部は酸化物になっている。催奇形性に関する文献では、Titanocene dichlorideについて、骨化の遅延が報告されている。*in vitro*結果も軟骨の分化阻害の方が、神経分化に比べて阻害されやすい傾向を示す結果を得ている³⁾。

以上、6種の金属塩での結果であるが、3種の*in vitro*系での結果から、それぞれの金属塩の*in vivo*での催奇形性発現⁴⁾の違いを考察することができた。今後は、更に、試験化合物の数を増やして、この考察に基づいた催奇形性発現予測がどの程度正しいのか検証する必要がある。

文献(発表論文を含む)

- 1) Tsuchiya T. and Nakamura A.: Effect of different implant materials on inhibition of gap-junctional intercellular communication as an index of tumor promotion. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 74 Surgical implants and other foreign bodies. pp. 290-294 (1999)
- 2) Tsuchiya T., Oguri I., Nakajima-Yamakoshi Y. and Miyata N.: Novel harmful effects of [60] fullerene on mouse embryos *in vitro* and *in vivo*. FEBS Letters 393, 139-14 (1996)
- 3) Tsuchiya T., Nakamura A., Ohshima Y. et al.: Chondrogenic cellular responses to titanium and zirconium alloys *in vitro*. Tissue Engineering, 4, 197-204 (1998)
- 4) 土屋利江, 安全性評価 発癌性・変異原性・催奇形性: 金属系バイオマテリアルの基礎と応用(筏 義人, 立石哲也, 角田芳衛 編) アイピーシー, 印刷中

肝臓に対する安全性評価のためのRT-PCRを用いた迅速かつ鋭敏な毒性指標の確立に関する研究

生物薬品部 小林 哲, 新見伸吾, 早川堯夫

「目的」

毒物などにより障害を受けた肝臓は自己修復作用により、通常速やかに元の組織に修復再生される。また、さらに障害が進むと修復再生が起こらなくなり、以降障害は急速に進行する。このような過程にはさまざまな増殖因子、サイトカインなどが関与しており、その発現調節により巧妙に調節されている。そこで本研究所においては肝障害において発現が調節される可能性のある因子に着目して、肝障害モデルラットにおけるmRNAの変動を調べ毒性指標と

しての有用性を評価することとした。今回特に着目したのはフォリスタチンとアクチビンAであり、それぞれ肝細胞の増殖を促進そして抑制することが知られている。アクチビンAはインヒビン β A鎖のホモダイマーであり、インヒビン β 鎖にはそれ以外に β B, β C, β Eの存在が知られている。これらインヒビン β 鎖から構成されているタンパクの肝臓における役割については不明であるが、mRNAの発現は知られている。そこで、これらインヒビン β 鎖mRNAについても検討を行った。なお、肝障害は四塩化炭素投与により惹起し、各因子のmRNAレベルは感度及び迅速性において有用性が広く認められているRT-PCR法を用いて測定を行った。

実験方法

RNAの調製

雄性ウイスターラット(200-220g)を1群3匹とし四塩化炭素、オリーブ油の等量混合液を2.0ml/kg腹腔内投与し、1, 3, 6, 12, 24, 48及び72時間後、肝臓から市販のキットを用いてトータルRNAを調製した。

cDNAの合成

一本鎖cDNAはランダムヘキサマーをプライマーとしてトータルRNAから市販のキットを用いて合成した。

PCR反応

cDNAを90℃, 5分処理後、プライマー及びTaq DNA polymeraseを含むPCR反応液を添加し、PCR反応(変性: 95℃, 30秒, アニール: 55℃, 30秒, 伸長反応: 72℃, 60秒)を20-30サイクル行った。なお、用いるプライマーは報告されている各遺伝子に特異的な配列を参考に作成した。

PCR産物の定量

PCR産物は2%アガロースゲルで電気泳動後、サイバングリーンで染色し、蛍光イメージアナライザーで定量した。各バンドの蛍光強度は同様にして求めた常在性遺伝子であるグイセロアルデヒド3リン酸脱水素酵素PCR産物の蛍光強度で補正し、無処置のラット肝臓における補正值と比較した。

結果および考察

フォリスタチンmRNAは四塩化炭素投与3時間後から上昇し始め、6時間から12時間後コントロールの4倍以上に達し、以降徐々に減少した。一方、インヒビン β AmRNAは投与1時間後に減少しはじめ、6時間後にはコントロールの約4分の1に達した。以降12時間後には若干回復がみられ、48時間までほぼ一定であった。これらの結果はホリスタチンおよびインヒビン β AmRNAが肝障害の指標として有用であることを示しているとともに、フォリスタチンとアクチビンAの発現がそれぞれ肝障害に伴う肝細胞増殖の促進及びその後の停止を促すよう調節されていることを

示唆している。

インヒビン β BmRNAは投与1時間後から上昇し、3時間から24時間までコントロールの約4倍のレベルを維持して、以降徐々に減少した。インヒビン β CmRNAは投与12時間から24時間においてコントロールの半分以下に低下し、以降徐々に回復した。また、 β EmRNAは投与3時間後にコントロールの約3倍に達し、6時間以降にはコントロールレベルまで低下した。これらの結果はインヒビン β B, β C, β EmRNAが肝障害の指標として有用であることを示しているとともに、これらインヒビン β 鎖をサブユニットとするタンパクが肝障害において何らかの役割を果たしていることを示唆している。

化学物質によるアレルギー促進活性の評価法の検討

機能生化学部 手島玲子・斉藤嘉朗・池淵秀治・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促進活性をin vitroで評価するための手法の開発を行っている。第一次ではラットがん化好塩基球細胞(RBL-2H3)を用いて、化学物質のマスト細胞の情報伝達系への作用を知る方法がアレルギー促進活性を知るうえで有用であることを示してきた。第二次では、RBL-2H2細胞に加えて、BMMC(マウス骨髄由来肥満細胞)並びにCBMC(人臍帯血由来肥満細胞)を用いて、化学物質による細胞からの脱顆粒反応、細胞内カルシウム濃度上昇、炎症性サイトカイン(TNF- α 及びIL-4)並びにケモカインMCP-1の産生について検討を加え、アレルギー指標としての有用性について検討を行った。

【方法】

(1) 脱顆粒反応の測定: 24ウェルのマイクロタイタープレートに、10% FCSを含むDMEMに 1×10^5 cell/mlの濃度に浮遊したRBL-2H3細胞または、IL-3存在下で1か月以上分化させたBMMC, SCF(80ng/ml)及びIL-6(50ng/ml)存在下で2か月以上分化させたCBMCを1mlずつ加え、37℃で16時間、CO₂インキュベーター中で培養し、小胞体Ca²⁺-ATPase阻害剤DTBHQ(2, 5-di-(t-butyl)-1, 4-hydroquinone), DTAHQ(2, 5-di-(t-amyl)-1, 4-hydroquinone)及びCPA(cyclopiazonic acid)等の刺激剤で、細胞の刺激を行い、刺激後35分後に脱顆粒によって細胞から放出される β -hexosaminidaseの量を、酵素基質を用いる比色法にて定量した。(2) 細胞内カルシウム濃度変化: Ca²⁺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(F₃₃₅/F₃₆₂)でモニターした。(3) サイトカインの産生: 10% FCSを含むDMEMに 1×10^5 cell/mlの濃

度に浮遊したRBL-2H3細胞, BMMC, CBMCを1mlずつ加え, 37℃で16時間, CO₂インキュベータ中で培養後, 各種薬剤による刺激を行い, 刺激後, 3-9時間の細胞培養上清中に放出されてくるTNF- α , IL-4, MCP-1の量をサンドイッチELISA法にて測定を行った。

[結果]

(1) 脱顆粒反応は, 用いた小胞体Ca²⁺ATPase阻害剤と, protein kinase C活性化剤であるフォルボルエステル(TPA)存在下で相乗的に引き起こされた¹⁾。(2) 3種の細胞共, これらCa²⁺ATPase阻害剤で, 細胞内Ca²⁺濃度は用量依存的に上昇した。(3) サイトカイン産生に関しては, TNF- α 産生は, TPA共存下で刺激後3時間で引き起こされたが, MCP-1, IL-4産生は, TPA非存在下でも引き起こされ, それぞれ6時間, 9時間にピークがあった。また, actinomycin Dで阻害されることよりCa²⁺依存性の転写活性促進経路によることが示された。さらに, 免疫抑制剤FK-506またはcyclosporin Aで抑制されることより転写活性化因子NF- κ Bの活性化の関与が考えられた。さらに, MCP-1産生において, Map kinaseであるp38MAP kinaseの関与を示唆するデータが得られた²⁻⁴⁾。

[考察]

(1) 培養マスト細胞から遊離される種々のメディエータ並びに合成誘導されるサイトカイン類には, TPAの共存を必要とする場合と, 細胞内Ca²⁺濃度上昇のみで十分な場合があることが示された。マスト細胞への情報伝達系への影響を含めて考えることが, 化学物質の持つアレルギー促進活性をマスト細胞を用いて*in vitro*で評価する場合重要であることが示された。

(2) マスト細胞から遊離されるメディエータとして, 刺激後30分以内に放出されるヒスタミンや β -hexosaminidaseばかりでなく, 転写促進活性を刺激後3時間以上たって放出されるサイトカイン類も, マスト細胞の活性化, さらにアレルギー促進活性を考えるうえで, 有用なマーカーであることが示唆された。

発表論文

- 1) Teshima R., Onose J., Ikebuchi H., and Sawada J.: Ca²⁺-ATPase inhibitors and PKC activation synergistically stimulate TNF- α production in RBL-2H3 cells. *Inflamm. Res.* 47, 328-333, 1998
- 2) Onose J., Teshima R., and Sawada J.: Ca²⁺-ATPase inhibitor induce IL-4 and MCP-1 production in RBL-2H3 cells. *Immunol. Lett.* 64, 17-22, 1998
- 3) Teshima R., Onose J., Okunuki H. and Sawada J.: Effect of Ca²⁺-ATPase inhibitors on MCP-1 release from bone marrow-derived mast cells and the involvement of p38 Map kinase activation. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 121, 34-43, 2000

- 4) Teshima R., Onose J., Okunuki H. and Sawada J.: The effect of Ca²⁺-ATPase inhibitors on the stimulation of mast cells. *Recent Research Developments in Immunology* (in press)

化学物質の代謝的活性の種差を予測する方法の確立

薬理部 紅林秀雄, 大野泰雄

【緒言】

ヒトおよび各種動物肝組織を用いて代謝的活性化の種差を予測する方法を確立させる目的で, モデル化合物としてジフェニル(DP)を選び, その代謝を*in vitro*および*in vivo*の系で検討した。DPはオルトフェニルフェノール(OPP)とともに輸入柑橘類の防ばい剤として使用されている添加物であり, OPPより毒性は低いものの長期発ガン実験により雌性BDF1マウスで肝臓ガンが報告されている。F344系ラットではなく, 雌性BDF1マウスで肝臓ガンが発生した原因を代謝的活性化の面から検討するとともに, ヒトミクロソーム等を用いることで人における代謝および毒性を考察することとした。

【実験材料および方法】

Diphenyl (DP) とそのモノ水酸化体3種類, 4-hydroxybiphenyl, 2-hydroxybiphenylおよび3-hydroxybiphenyl, またジ水酸化体の4種類, 4,4'-dihydroxybiphenyl, 2,2'-dihydroxybiphenyl, 2,3-dihydroxybiphenyl, および2,5-dihydroxybiphenylは市販品を購入した。

ミクロソームは雌雄未処理のBDF1マウスおよびF344系ラットの肝臓から常法により調製した。ヒト肝ミクロソームは米国IIAM社より購入した。ミクロソームとのインキュベーション溶液は0.1M磷酸緩衝液(pH=7.4), 10mM MgCl₂, NADPH 5mM総量0.1mlで, 基質のDPおよび3種類のモノ水酸化体3種類は0.5mMで通常37℃30分インキュベートし, HPLCで分析した。これらへの代謝活性は代謝物の生成量より, CYP450またはタンパク量(mg)当たりで算出した。

{液体クロマトグラフ(HPLC)での定性および定量}

HPLCは, LC-10AD型ポンプに, 検出器SPD-M10AVP, SIL-10AオートサンプラーおよびCTO-10AC型カラムオーブンを連結したものをを用い, 必要に応じ前処理ガードカラム(Guard Cartridge Capcell MF Ph-1)を組合せて用いた。カラムは2種類の逆相系ODS系カラム, 流速1ml/min, 検出波長260nmで測定した。移動相の設定はアセトニトリル, 水(0.5%酢酸を含む)1:9から20分間でアセトニトリル, 水(0.5%酢酸を含む)80:20の直線的グラジエント, 30分後まで同一条件で測定した。なお3-hydroxybiphenylのHPLC上での保持時間R_tはパラ水酸化体4-hydroxybiphenylのR_tに非常に近接していたため圧倒的に多いパラ水酸化体

に合算した。

[尿および糞への排泄実験および代謝物グルクロノイドないし硫酸抱合体を定性および定量]

尿および糞への排泄実験は、雌雄のBDF1マウスおよびF344系ラット、一群5匹としてDP400mg/kg/10mlコーン油を投与し、代謝ケージで尿および糞を投与後24時間および48時間まで採取した。糞中代謝物は2日分の糞をソクスレー抽出器で3時間アセトン抽出し、尿は濾過後、HPLCで分析した。

抱合体代謝物グルクロノイドないし硫酸抱合体の標準物質としては、BDF1マウスないしF344系ラットにDPのモノ水酸化体3種類、または4種類のジ水酸化体を100mg/kg/10mlコーン油の割合で経口投与し、その24時間尿を採取し、その一部を β -glucuronidase 0.2units/ml、またはarylsulfatase 60 units/mlおよび10 mM sacharolactoneで数時間インキュベート後HPLC上でフリー体を定量することで、酵素処理前のクロマト上で消失したピークをその化合物のグルクロノイドないし硫酸抱合体として定性および定量することとした。なお、市販品のなかった3,4'-dihydroxybiphenylおよび3,4-dihydroxybiphenylおよび3,4,4'-trihydroxybiphenylは近似する類似体で概算した。

今回、3-hydroxybiphenylのグルクロノイド抱合体は、HPLC上での保持時間Rtがパラ水酸化体4-hydroxybiphenylのグルクロノイド抱合体に近く、パラ水酸化体の量と比較しても少ないことからパラ水酸化体に合算した。また、オルト水酸化体2-hydroxybiphenylの抱合体はHPLC上での保持時間Rtが他の水酸化体の抱合体に重なり、パラ水酸化体の

量と比較しても少ないことから除外した。

【結果】

[尿および糞中排泄]

400mg/kgで経口投与されたDPの糞中代謝物はほとんどフリーの代謝物であり、抱合体は検出できなかった。その糞中排泄の割合はマウスおよびラットでいずれも低く、2日間で、雄性ラットでは3%、雌性ラットで2%であり、雄性マウス2%であり、雌マウスで1%程度であった。経口投与されたDPの糞中排泄の割合は低く、DPの主排泄経路は尿中排泄であり、DPはほとんど吸収されたと考えられる。

その2日間の尿中代謝物の割合を比較した (Table 1)。2日目の尿中代謝物の和を100%として、1日目と2日目の和で比較すると、雄性ラットでは1日目56%、2日目44%であり、雌性ラットでは1日目64%、2日目36%であった。雄性マウスでは1日目82%、2日目18%であり、雌性マウスでは1日目74%、2日目26%であった。ラットでは2日目の尿中排泄の割合はまだ高く、体内残留の可能性も残された。マウスでは1日目の尿中排泄の割合が高く、マウスでの排泄がラットより速いことが予測された。

この2日間の尿中代謝物の中では、ラットおよびマウスで共に、パラ水酸化体4-hydroxybiphenylの抱合体の割合がおおよそ半分ぐらいと一番多く、雌雄マウスではそのグルクロノイドの割合が硫酸抱合体より多い。ラットではそのグルクロノイドが少なく硫酸抱合体の割合が多く、雄性ラットで特に顕著であった。また、3,4-dihydroxybiphenylの場合で

Table 1. Urinary metabolites of diphenyl in BDF1 mouse and F344 rat in two days.

		Day	3,4,4'-S	2,5-S	3,4'-S	4,4'-S	4,4'-G	3,4-S	3,4-G	3-S	4-S	4-G	sum(mol)	
rat	male	1	9.01	13.41	4.38	48.9	22.01	17.3	6.0	5.82	129.6	3.4	259.83	56.0
		2	9.72	25.74	7.5	29.9	41.09	31.3	1.6	5.03	42.6	9.8	204.28	44.0
		sum(mol)	18.73	39.15	11.88	78.8	63.1	48.6	7.6	10.85	172.2	13.2	464.11	
		%	4.0	8.4	2.6	17.0	13.6	10.5	1.6	2.3	37.1	2.8		100.0
rat	female	1	5.3	4.4	1.6	19.4	9.6	8.2	22.1	16.17	31.33	27.19	145.29	63.7
		2	3.8	5.8	3.0	9.7	8.4	6.3	17.4	0.5	18.4	9.48	82.78	36.3
		sum(mol)	9.1	10.2	4.6	29.1	18.0	14.5	39.5	16.67	49.73	36.67	228.07	
		%	4.0	4.5	2.0	12.8	7.9	6.4	17.3	7.3	21.8	16.1		100.0
mouse	male	1	2.64	4.16	0.6	3.19	2.7	7.81	1.71	1.54	5.16	30.67	60.18	82.3
		2	1.34	3.05	0.24	1.66	2.3	1.22	0.25	0.11	1.11	1.68	12.96	17.7
		sum(mol)	3.98	7.21	0.84	4.85	5.0	9.03	1.96	1.65	6.27	32.35	73.14	
		%	5.4	9.9	1.1	6.6	6.8	12.3	2.7	2.3	8.6	44.2		100.0
mouse	female	1	1.1	7.1	0.6	3.6	1.3	5.1	1.9	0.95	7.63	20.6	49.88	73.6
		2	1.5	3.9	2.44	1.26	3.6	0.85	0.65	0.11	2.1	1.5	17.91	26.4
		sum(mol)	2.6	11.0	3.04	4.86	4.9	5.95	2.55	1.06	9.73	22.1	67.79	
		%	3.8	16.2	4.5	7.2	7.2	8.8	3.8	1.6	14.4	32.6		100.0

2,5--2,5-dihydroxydiphenyl
3,4--3,4-dihydroxydiphenyl
3,4'--3,4'-dihydroxydiphenyl
4,4'--4,4'-dihydroxydiphenyl

3,4,4'--3,4,4'-trihydroxydiphenyl
3--3-hydroxydiphenyl
4--4-hydroxydiphenyl

S: sulfate
G: glucuronide

も同様に雄性ラットでその硫酸抱合体の割合が多く、雌性ラットではそのグルクロニドの割合が多かった。但し、マウスでは雌雄ともに3, 4-dihydroxybiphenylは硫酸抱合体の割合が高かった。

2番目に多かった代謝物はジ水酸化体の4, 4'-dihydroxybiphenylであり、そのグルクロニドとその硫酸抱合体の和としての割合はラットでマウスより高く、ラットの雄性でより多く排泄された。

また、パラハイドロキノン体でもある2, 5-dihydroxybiphenylの硫酸抱合体が検出され、ラットで雌が雄より高いが、ラットよりマウスが高く、マウスでは雌が雄より高いのが特徴であった。

[ミクロソームを用いた代謝実験]

雌雄のBDF1マウスの肝ミクロソームはNADPH存在下で、DPからそのモノ水酸化体であるオルト水酸化体、パラ水酸化体と、更に水酸化されたジ水酸化体の4, 4'-dihydroxybiphenyl, 3, 4-dihydroxybiphenyl, 2, 5-dihydroxybiphenyl等の生成が見られた (Table 2 & 3)。これらへの代謝活性は全体的に雌が雄より高い傾向が見られ、2, 5-dihydroxybiphenylへの代謝活性は雌マウスが雄より有意に高いことが推定された。

一方、雌雄のF344ラットの肝ミクロソームでもNADPH存在下で、DPからそのモノ水酸化体のパラ水酸化体とオルト水酸化体、更にジ水酸化体4, 4'-dihydroxybiphenylの生成がみられたが、2, 5-dihydroxybiphenylはラットでは検出されなかった (Table 2 & 3)。

更に、すでにモノ水酸化された一次代謝物のパラ、メタおよびオルト水酸化体を基質として、マウスまたはラットの肝ミクロソームとインキュベートし、ジ水酸化体等の代謝生成物を検討した (Table 2 & 3)。

パラ水酸化体からはジ水酸化体4, 4'-dihydroxybiphenylが生成し、この代謝活性は、マウスでは雌雄で同程度、ラットでは雄が高い傾向であった。

オルト水酸化体からジ水酸化体2, 5-dihydroxybiphenylが生成している。この代謝活性はマウスでは雌、ラットでは雄が高い傾向にあった。

メタ酸化体からもジ水酸化体2, 5-dihydroxybiphenylが生成している。この代謝活性も同様に、マウスでは雌、ラットでは雄が高い傾向であった。

ヒト肝ミクロソームでもNADPH存在下で、DPからそのモノ水酸化体のパラ水酸化体とオルト水酸化体、更にジ水酸化体4, 4'-dihydroxybiphenylの生成がみられ、それらの比率はラット、マウスと大差なかった (Table 2 & 3)。一方、

Table 2. Metabolic velocities(/P450/min) of diphenyl and 2-, 3-, or 4-hydroxydiphenyl with microsomal fractions of F344 rats and BDF1 mice

		body weight (g)	liver weight (g)	P450 nmol/mg protein	substrate of Diphenyl /P450/min				4-OH /P450/min	3-OH /P450/min	2-OH /P450/min
					4,4'-diol	4(3)-OH	2,5-diols	2-OH	4,4'-diol	2,5-diols	2,5-diols
Rat	male	191.25.6	7.740.56	1.240.31	0.130.06	0.300.16	ND.	0.140.04	0.220.13	1.010.83	2.261.63
	female	134.63.8	4.320.28	0.910.41	0.030.01	0.390.11	ND.	0.180.03	0.170.04	0.790.66	0.990.19
Mouse	male	26.951.29	1.230.11	1.180.27	0.150.06	0.810.46	0.110.05	0.260.13	0.250.10	0.670.34	1.540.27
	female	19.371.31	0.770.08	0.780.19	0.210.13	1.150.96	0.240.14	0.430.26	0.320.21	1.811.33	3.892.02
Human	Pooled (2female + 2male)			0.462	0.390.27	0.810.23	ND.	0.190.08	0.480.08	0.290.06	1.350.60

Table 3. Metabolic velocities(nmol/mg protein/min) of diphenyl and 2-, 3-, or 4-hydroxydiphenyl with microsomal fractions of F344 rats and BDF1 mice

		body weight (g)	liver weight (g)	P450 nmol/mg protein	nmol/mg protein/min						
					substrate of Diphenyl				4-OH	3-OH	2-OH
					4,4'-diol	4(3)-OH	2,5-diols	2-OH	4,4'-diol	2,5-diols	2,5-diols
Rat	male	191.25.6	7.740.56	1.240.31	0.170.10	0.370.24	ND.	0.180.07	0.260.13	0.920.77	1.870.96
	female	134.63.8	4.320.28	0.910.41	0.020.01	0.290.09	ND.	0.140.04	0.130.02	0.630.44	0.900.41
Mouse	male	26.951.29	1.230.11	1.180.27	0.180.10	0.880.38	0.130.07	0.300.17	0.280.11	0.740.33	1.780.33
	female	19.371.31	0.770.08	0.780.19	0.150.07	0.760.52	0.170.07	0.310.15	0.220.10	1.381.05	2.800.94
Human	Pooled (2female + 2male)			0.462	0.170.13	0.370.11	ND.	0.090.04	0.220.04	0.140.03	0.620.27

2, 5-dihydroxybiphenylはラットと同様検出されなかった。また、各モノ水酸化体を基質としたときは、マウス、ラットと同様に更に水酸化された2, 5-dihydroxybiphenylおよび4, 4'-dihydroxybiphenylの生成がみられた。

【考察】

経口投与されたDPの糞中排泄の割合はマウスおよびラットで低く、主排泄経路は尿中排泄であり、経口投与されたDPはほとんど吸収され、まず水酸化反応を受け、次に抱合化されて尿中に排泄されたことになる。DPの代謝排泄の律速は最初の水酸化反応と二次代謝の抱合化反応等が考えられる。

尿中排泄のほとんどは水溶性のグルクロニドまたは硫酸抱合体の代謝物で、全体的にマウスではグルクロニドの抱合体が多く、ラットではグルクロニドより硫酸抱合体が多く排泄される傾向がみられた (Table 1)。マウスおよびラットで比較すると、ラットでの膀胱結石の原因がパラ水酸化体の硫酸抱合体であったという報告と一致している。

尿中代謝物のグルクロニド抱合体および硫酸抱合体は化学的に安定な水溶性化合物と考えられる。抱合化されていないフリーのモノ水酸化体はDPより水溶性は少し増加するがフェノール性の水酸基のもつ酸性物質であり、ジ水酸化体の水溶性は更に増加しフェノール性の水酸基も増加する。そのため、これら水酸化体の毒性はDPよりも増加すると考えられる。その中でも2, 5-dihydroxybiphenylのようなヒドロキノン体はキノンに酸化され易く、酸素を還元して H_2O_2 などの活性酸素を生成する。またキノンは生体中のフラビン酵素などによりヒドロキノンに還元されやすく、酸化と還元をくりかえすことになり、この酸化還元サイクルにより生成する活性酸素が蓄積することになる。活性酸素はDNAを切断することや発ガンのプロモーター等も知られている。また一般にキノンは不安定な親電子化合物で電子供与性物質とマイケル付加反応で共有結合を生成しやすい性質があり、生体に損傷を生ずることとなる。

DPの肝ミクロソームでの代謝活性を比較した場合、ヒト肝ミクロソームでもマウス、ラットと同様にNADPH存在下で、パラ水酸化体とオルト水酸化体、更にジ水酸化体4, 4'-dihydroxybiphenylの生成がみられた。一方、マウスで認められた2, 5-dihydroxybiphenylはラットと同様に検出されなかった (Table 2 & 3)。

一方、各モノ水酸化体であるオルト、パラ及びメタ水酸化体を基質としたときは、いずれも更に水酸化された2, 5-dihydroxybiphenylおよび4, 4'-dihydroxybiphenylの生成がみられた。なかでは雌マウス及び雄ラットでオルト及びメタ水酸化体から2, 5-dihydroxybiphenylへの代謝活性が高いことが示された。

そこでラットの肝ミクロソームではDPのモノ水酸化反

応はパラ水酸化が中心で、オルト水酸化体およびメタ水酸化体の生成は少ないと考えられる。一方、BDF1マウスの肝ミクロソームではDPのモノ水酸化反応はパラ水酸化のみならずオルト水酸化反応され、これが更に水酸化され2, 5-dihydroxybiphenylを生成する。後者の代謝活性がBDF1マウス雌で雄マウスより有意に高いことが毒性発現の原因の一つであると推定された。また今回使用したヒトミクロソームはどちらかというともウスよりラットに似た代謝活性を様していたが、ヒトの薬物代謝では個体差が大きいと言われており、もう少し例数を増やすことが要求される。また市販され出しているヒトCYP450発現系を用いることでこの代謝における寄与および毒性との関連性が考察可能と思われる。

今回はパラヒドロキノン体の酸化還元サイクルにより生成する活性酸素に注目したが、一般的には、これのみならず、オルト位のキノン-ヒドロキノン体の酸化還元サイクルにより活性酸素が生成する可能性もあり、フリーの代謝物による活性酸素の生成する可能性は高い。フリーの代謝物の生成する肝臓に発ガン性がみられたことと関連する。フリーの代謝物が過剰であったり遺伝的欠損でグルクロニドまたは硫酸抱合体への代謝能力が不足することがあると毒性作用を受けると考えられる。

今回の動物の種差及び性差の代謝実験の結果*in vivo*及び*in vitro*で比較的良好に一致していた。まず、経口投与されたDPの糞中排泄の割合はマウスおよびラットでいずれも低く、主排泄経路は糞中ではなく尿中であった。この1日目の尿中排泄の割合がマウスでラットより高く、マウスで代謝排泄が速いことが予測され、これは、肝ミクロソームでのDP代謝活性でマウスがラットより高い傾向にあったことと一致した。また、その動物の肝ミクロソームによるDPの代謝物の種類およびその生成速度はよく相関しているように思われた。これら*in vitro*および*in vivo*での代謝物の検討から、ラットでのDPの代謝反応はパラ水酸化が中心で、BDF1マウスではDPのパラ水酸化のみならずオルト水酸化が起こり、続いて活性酸素につながる活性代謝物と考えられる2, 5-dihydroxybiphenylが生成することが判明した。この毒性につながる代謝経路への代謝活性速度がBDF1マウス雌で雄マウスより有意に高いことが判明し、毒性発現の原因の一つであると推定された。

但し、今回の代謝実験は*in vitro*では未処理の動物の肝ミクロソームを、また*in vivo*でも未処理の動物の単回投与であった。発ガン実験ではDPを連続投与しており連続投与した場合のDPの生体に与える影響、例えばDPの薬物代謝系に与える誘導効果やその結果としてのDPの代謝物への影響等も考えられる。また、今回ジ水酸化やトリ水酸化体の標準化合物が手に入らないものもあり、尿中代謝物もすべてを同定されたわけではなく、標準化合物があるものでその抱合体を推定して定量した。これらいくつかの改善が

なされることでより正確な代謝が判明するものと思われる。

【結論】

DPの主排泄経路の尿中排泄はマウスでラットより速いことが予測されたが、肝ミクロソームでのDP代謝活性もマウスがラットより高い傾向にあったことと一致した。ラットでのDPの代謝はパラ水酸化が中心で、BDF1マウスではDPのパラ水酸化のみならずオルト水酸化が起り、続いて毒性につながる2, 5-dihydroxybiphenylが生成した。肝ミクロソームのオルト水酸化体から2, 5-dihydroxybiphenylの生成する代謝活性は雌マウスで高いことが肝発ガンの原因の一つと考えられる。一般に薬物代謝では種差、性差、個体差が言われており、代謝酵素のCYP450の発現量でDPの代謝活性や代謝物の変化が考えられる。ヒトにおけるDP代謝でもCYP450発現系を用いることでヒト肝ミクロソームを用いた代謝への関与を考察可能と思われる。

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, 広瀬雅雄

【目的】

我々はすでに強力な遺伝毒性発癌物質である4-Hydroxyaminoquinoline 1-oxide (4HAQO) をラットに単回投与し、経時的に2~48時間の短期間における病理学的毒性指標について検討した結果、4HAQO投与2時間後から標的細胞である膵腺房、小腸上皮、肺上皮および副腎皮質細胞にDNA付加体の形成がみられ¹⁾、ほぼ同時にこれら標的細胞に超微形態学的に核小体分離が誘発されることを明らかにし、遺伝毒性発癌物質などにより誘発される核小体分離はDNA傷害さらに発癌性の指標となることが示唆された²⁾。また、化学物質の発癌性と細胞増殖活性との相関性が高いことから、PCNA免疫組織化学を用いて細胞増殖活性を検索した結果、主標的細胞である膵腺房細胞に対照群と比較して有意な増殖活性の上昇が認められた。このように、化学物質の毒性、特に発癌性評価の迅速かつ鋭敏な病理学的毒性指標としては免疫組織化学的手法によるDNA付加体形成や細胞増殖活性の検索および超微形態学的観察などが有用な検索法となると思われる。2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4, 5-b]pyridine (PhIP) は魚肉類の加熱調理過程で生じる遺伝毒性発癌物質で、前立腺、大腸、膵および乳腺などにDNA付加体を形成し、発癌性を示すことが報告されている^{3~5)}。今回PhIPを用い、前回の実験と同様に経時的に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、PCNA免疫組織化学により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、PhIPをコーン油に混合し、300mg/kg B. W.の割合で単回強制経口投与し、経時的に4, 6, 24, 48, 72時間後に各5匹ずつエーテル麻酔下で屠殺・剖検した。臓器はPhIPの発癌の標的細胞である前立腺および大腸、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、同様に屠殺・剖検した。各臓器は10%中性緩衝ホルマリソ液あるいはブアン溶液で固定後、常法に従いH & E染色を施した。また、一部を2.5%グルタルアルデヒド溶液で固定し、超微形態学的に観察した。

I ブアン溶液で固定した前立腺、大腸および肝については免疫組織化学的にPhIP-DNA付加体に対する抗体を用いてDNA付加体を染色し、各上皮細胞の陽性率を算出し、さらに超微形態学的に各細胞の核小体分離を観察し、その出現率を経時的に比較・検討した。

II 10%中性緩衝ホルマリソ液で固定した前立腺、大腸および肝について、抗PCNA抗体を用いて、免疫組織化学的に各上皮細胞の陽性率を経時的に検索した。

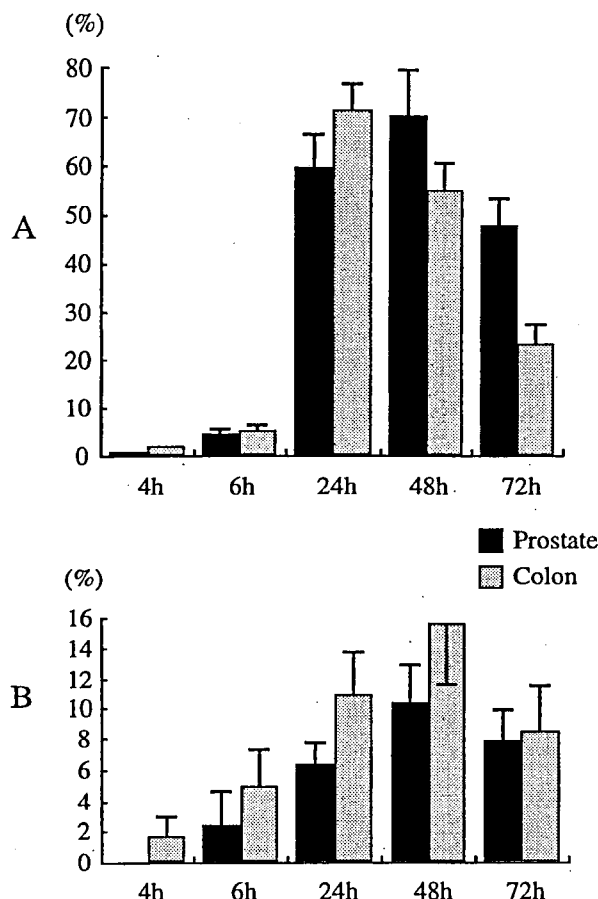


Fig. 1 Summary of sequential changes of PhIP-DNA adduct formation (A) and nucleolar segregation (B) in the rat ventral prostate with PhIP. Data represent mean \pm standard deviation.

【結果】

I PhIPによるDNA付加体形成と核小体分離

Fig. 1に各臓器のDNA付加体陽性細胞および核小体分離の出現率を経時的に示した。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付加体陽性細胞は、前立腺上皮細胞ではPhIP投与48時間後で、大腸上皮細胞では24時間後で平均約70%以上の最高値を示した。一方、肝では陽性細胞はほとんど認められなかった。超微形態学的観察では、前立腺上皮および大腸上皮細胞に核小体分離が観察され、投与48時間後で最も出現率が高く、いずれも10%以上であったが、肝細胞ではほとんど認められなかった。細胞質内にはリボゾムの減少以外には特徴的な変化は認められなかった。

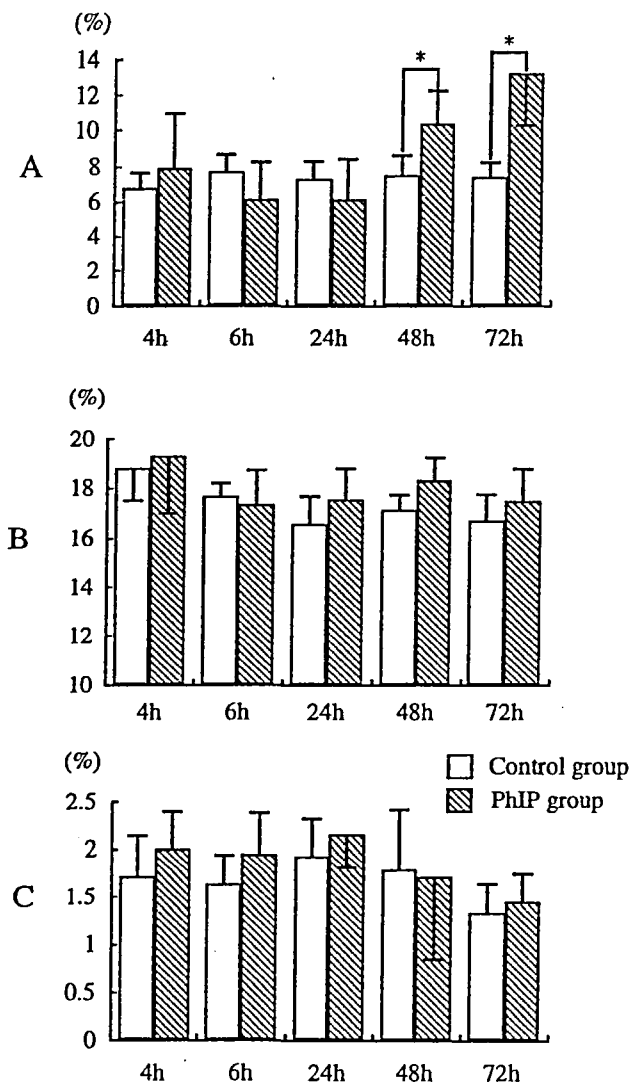


Fig. 2 PCNA labeling index in the rat ventral prostate (A), colon (B) and liver (C) treated with PhIP or vehicle alone. Significantly different at * $p < 0.05$ as compared with the control group. Data represent mean \pm standard deviation.

II PhIPによる細胞増殖活性について

免疫組織化学的染色によるPCNA陽性細胞標識率の結果をFig. 2に各臓器毎に示した。PhIP投与群の前立腺上皮細胞においてPCNA陽性細胞の陽性率は対照群と比較して、投与24時間後までは差がみられなかったが、48時間後以降は有意に高く、投与72時間後で最も高く発現した。投与群の大腸上皮細胞の投与24時間後以降では、対照群と比較していずれも高い傾向を示したが有意差は認められなかった。正常な大腸上皮細胞は生理学的に細胞増殖活性は高いことから、PCNAによる細胞増殖活性の差は検出しにくいものと思われた。PhIPの非標的細胞である投与群の肝細胞は対照群と比べて細胞増殖活性はほとんど差がなかった。

【考察】

前立腺上皮および大腸上皮細胞ではDNA付加体形成および核小体分離のピークは24から48時間後にみられ、その後漸次減少した。また、細胞増殖活性については大腸上皮細胞では高い傾向がみられたが、前立腺上皮細胞においてのみ投与48時間以降有意に高く発現し、最高値を示したのは72時間後であった。PhIP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ったことから、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。また細胞増殖活性は腫瘍形成において高くなることが知られていることから、早期に発癌作用が始まることが示唆された。今回の結果から、PhIP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し後に細胞増殖活性の上昇を示すものと考えられた。今回用いたPhIPは強力な発癌物質である4HAQOと同様に標的細胞の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。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ことから、PhIP投与による標的細胞への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、細胞増殖活性が亢進されることが明らかとなった。

【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環境化学物質のPhIPは4HAQOと同様に標的細胞のDNAと付加体を形成し、その形態的表現としての核小体分離を誘発する。続いて、細胞増殖活性が亢進されることが明らかとなった。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。

文献 (発表論文を含む)

- 1) 今沢孝喜・西川秋佳・高橋道人: 迅速かつ鋭敏な病理学的毒性指標に関する検討, 衛研報告, 特別研究報告, 116, 213-215 (1998)
- 2) 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)
- 3) Takahashi, S., Tamano, S., Hirose, M., Kimoto, N., Ikeda, Y., Sakakibara, M., Tada, M., Kadlubar F. F., Ito, N., Shirai, T.: Immunohistochemical demonstration of carcinogen-DNA adducts in tissues of rats given 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4, 5-b]pyridine (PhIP): detection in paraffin-embedded sections and tissue distribution. *Cancer Res.*, 58, 4307-4313 (1998)
- 4) Ito, N., Hasegawa, R., Sano, M., Tamano, S., Esumi, H., Takayama, S., Sugimura, T.: A new colon and mammary carcinogen in cooked food, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4, 5-b]pyridine. *Carcinogenesis*, 12, 1503-1506 (1991)
- 5) Shirai, T., Sano, M., Tamano, S., Takahashi, S., Hirose, M., Futakuchi, M., Hasegawa, R., Imaida, K., Matsumoto, K., Wakabayashi, K., Sugimura, T., Ito, N.: The prostate: a target for carcinogenicity of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4, 5-b]pyridine (PhIP) derived from cooked foods. *Cancer Res.*, 57, 195-198 (1997)

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 眞, 原園 景, 宮脇英美子

Keywords: developmental toxicity, early embryonic loss, decidual cell response, butyl benzyl phthalate, tributyltin

[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動異常が誘発されることはよく知られており、これ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

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) 及び船底や漁網の汚染防止剤として使われてきた tributyltin chloride (TBTCI) 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 TBTCI のラットにおける発生毒性について検討した。BBP 及び TBTCI 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を明らかにした¹⁻⁸⁾。更に、BBP 及び TBTCI 共にラットの妊娠初期に投与したときには著しい生殖障害、すなわち早期の胚致死、を惹起することを明らかにした⁵⁻⁸⁾。第二次研究期間においては、BBP 及び TBTCI の偽妊娠ラット子宮における脱落膜反応に及ぼす影響について調べ、肺致死作用の検出系としての有用性について検討する。

[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℃, 湿度 55 ± 5%, 12-h 明/暗時に調整した動物室で飼育した。毎日の陰垢検査により 4 日の性周期を少なくとも 2 回示した雌ラットを実験に使用した。妊娠及び偽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 TBTCI (純度 98%, アルドリッチケミカル) はオリーブ油に溶解し、5ml/kg を経口投与した。投与日及び投与量はそれぞれの実験結果の項に記載した。

3. 妊娠ラット

成熟処女ラットを雄ラットと一夜同居した後、翌朝陰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。妊娠ラットは妊娠 20 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。

4. 偽妊娠ラット

成熟処女ラットを精管結紮した雄ラットと一夜同居した後、翌朝陰垢を認めたものを偽妊娠とし、この日を偽妊娠 0 日とした。偽妊娠 4 日に偽妊娠ラットをエーテル麻酔下で回復し、子宮の腔側から先端を曲げた細い針金を挿入して、子宮内膜の反子宮間膜側を卵管端まで創傷することによって脱落膜反応を惹起した。偽妊娠 9 日の子宮重量を測定して脱落膜反応の指標とした。

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の妊娠ラットにおける胚致死作用と偽妊娠ラットにおける脱落膜反応に対する影響

ラットの妊娠0-8日に250, 500, 750または1000mg/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。着床の認められなかった雌ラット(不妊雌ラット)が250及び500mg/kg投与群で10匹中1匹, 750mg/kg投与群で11匹中4匹, 1000mg/kg投与群で12匹中5匹認められ, 1000mg/kg投与群では妊娠率が対照群に比べて有意に低かった。750及び1000mg/kg投与群における着床数は有意に減少し, 1000mg/kg投与群における着床前胚死亡率は有意に上昇した。着床の認められた妊娠成立ラットについては, 黄体数及び吸収胚数にBBP投与群と対照群との間の差はみられなかったが, 1000mg/kg投与群における着床数及び生存胎児数は有意に減少した。1000mg/kg投与群における着床前胚死亡率, 750及び1000mg/kg投与群における着床後胚死亡率は対照群に比べて有意に高かった。500mg/kg以上の投与群における生存胎児の体重は有意に低かった。

ラットの偽妊娠0-8日に250, 500, 750または1000mg/kgのBBPを経口投与し, 偽妊娠9日の子宮重量を測定して脱落膜反応の指標とした。750及び1000mg/kg投与群において対照群に比べて有意に低い卵巣重量が認められた。BBP投与群における黄体数は対照群と同様であった。偽妊娠9日の子宮重量は750及び1000mg/kg投与群において対照群に比べて有意に低かった。偽妊娠ラット血清中プロゲステロンレベルには500mg/kg以上のBBP投与で低下の傾向がみられた。

これらの結果から, BBPをラットの妊娠初期に投与したとき胚致死作用が750mg/kg以上の投与量で認められ, 偽妊娠ラットにBBPを投与したときにも750mg/kg以上で子宮重量の低下が観察された。すなわち, 妊娠初期に投与されたBBPは子宮における脱落膜腫形成の低下を引き起こし, その結果, 胚致死を惹起することが示唆された⁹⁾。

2. TBTCIの偽妊娠ラットにおける脱落膜反応に対する影響

第一次研究期間において, ラットの妊娠0-3日または妊娠4-7日に8.1, 16.3, 32.5または65.1mg/kgのTBTCIを経口投与し, 妊娠20日に開腹して生殖障害作用について調べた。その結果, 妊娠0-3日の16.3mg/kg以上の投与量で有意に高い着床後胚死亡率が有意に上昇し, 妊娠4-7日の投与で16.3mg/kg以上の投与量で有意に高い着床後胚死亡率が認められた。第二次研究期間においては, 同投与量のTBTCIを偽妊娠ラットに投与して脱落膜反応に及ぼす影響について検討した。すなわち, ラットの偽妊娠0-3

日に4.1, 8.1, 16.3または32.5mg/kg, 妊娠4-7日に8.1, 16.3, 32.5または65.1mg/kgのTBTCIを経口投与し, 偽妊娠9日の子宮重量を測定して脱落膜反応の指標とした。偽妊娠0-3日の16.3mg/kg以上のTBTCI投与で対照群に比べて有意に低い子宮重量及び偽妊娠ラット血清中プロゲステロンレベルが認められた。また, 偽妊娠4-7日のTBTCI投与でも16.3mg/kg以上の投与で対照群に比べて有意に低い子宮重量及び偽妊娠ラット血清中プロゲステロンレベルが認められた。しかし, いずれの投与期間においても黄体数及び卵巣重量にはTBTCI投与の影響は観察されなかった。

これらの結果から, 妊娠0-3日及び妊娠4-7日にTBTCIを投与したときそれぞれ着床前及び着床後胚死亡率が有意に上昇する投与量のTBTCIを偽妊娠ラットの偽妊娠0-3日または偽妊娠4-7日に投与したとき子宮重量の低下が認められた。すなわち, 妊娠初期に投与されたTBTCIは子宮における脱落膜腫形成の低下を引き起こし, その結果, 早期の胚死亡を惹起することが示唆された¹⁰⁾。

[まとめ]

BBP及びTBTCIは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り, 妊娠初期に投与したときには著しい胚致死作用を示すことが明らかになった。また, 胚致死作用を発現するのと同量のBBPまたはTBTCIを偽妊娠ラットに投与したときには, 子宮の脱落膜反応を抑制することが明らかになった。これらのことから, BBP及びTBTCIによる胚致死作用は脱落膜反応抑制に起因することが示唆された。受精卵の着床及び胚のその後の生存にとって必要不可欠な子宮の脱落膜反応を抑制する化合物は妊娠早期の胚致死作用を示す可能性があり, 偽妊娠ラットにおける脱落膜反応に対する影響を調べることで胚致死作用を検出することが可能であることが本実験により示された。

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)
- 2) 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)
- 3) 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)
- 4) M. Ema, E. Miyawaki and K. Kawashima : Developmental effects of plasticizer butyl benzyl phthalate after a single administration in rats. J. Appl. Toxicol., 19, 375-365 (1999)

- 5) M. Ema, R. Kurosaka, H. Amano and Y. Ogawa : Embryoletality of butyl benzyl phthalate during early pregnancy in rats. *Reprod. Toxicol.*, 8, 231-236 (1994)
- 6) Harazono, M. Ema and Y. Ogawa : Pre-implantation embryonic loss induced by tributyltin chloride in rats. *Toxicol. Lett.*, 89, 185-190 (1996)
- 7) 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)
- 8) A. Harazono, M. Ema and K. Kawashima : Evaluation of malnutrition as a cause of tributyltin-Induced pregnancy failure in rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 61, 224-230 (1998)
- 9) M. Ema, E. Miyawaki and K. Kawashima : Reproductive effects of butyl benzyl phthalate in pregnant and pseudo-pregnant rats. *Reprod. Toxicol.*, 12, 127-132 (1998)
- 10) Harazono, M. Ema and K. Kawashima : Antifertility effect of tributyltin chloride administered during pre-implantation period in rats : effect on decidual cell response. *J. Toxicol. Sci.*, 23, 231 (1998)

特別研究報告

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 (第一次)

(平成9年度～平成11年度)

世話人 佐竹元吉

生体内酵素, 構成蛋白等の活性部位はその三次元構造が特異性を示す. 例えば, 生体蛋白質のアミノ酸はL体が主で, その組み合わせからペプチドや蛋白質が作られ複雑な三次元構造を形成している. このような構成蛋白によって組織される生物システムに作用する医薬品, 機能性食品, その他の生活環境物質も独自の三次元構造を有している.

したがって, 生体の機能のメカニズムを解明するには両者の立体構造を解析することが不可欠であるにも拘わらず, 蛋白の構造に関する情報が極く一部のものに限られていたため, 少数の医薬品を除いては殆どなされていない. しかし, 近年のコンピューターの高速化による高磁場核磁気共鳴装置や分子力場計算等ハード, ソフト両面の進展により分子の複雑な三次元構造の予測や解析が可能になり, 一方では遺伝子解析による生体タンパクの情報が集積されつつあることから, 低分子化合物と生体蛋白の相互作用を三次元的に解明する環境が整い始めてきた. このような機会をとらえ, 当所で研究対象としている種々の化学物質について生物システムにおける機能と三次元構造相関の研究を行うことは, 生命活動の動的解析の基礎をなすもので, 医薬品をはじめとした化学物質の真の有効性, 安全性の解明に貢献する重要な研究課題と考えられる.

生体構成蛋白や受容体の精製技術, 物理測定機器の精密化, 高速化の発展に呼応して, 種々の生体反応系が解明されはじめ, これらの結果はラショナル・ドラッグ・デザインという新しい医薬品の開発分野に取り入れられている. この手法を発展させれば, かつてはマクロな捉え方しかできなかった低分子化合物と生物システムとの反応を, 分子個体の特異的, 選択的な反応として見直すことが可能であることが示唆される. これまで構造活性相関については専ら置換基の比較による二次元的解析が行われているのみであったものも, メカニズムの本質に迫る三次元解析に期待が寄

せられている. また, 最近, 抗酸化剤が動脈硬化予防に関与することが明らかにされたが, その機能と構造相関, 安全性, 有効性についての研究が急務とされている. さらに, 塩素化エチレン化合物は, 各種産業で広く用いられており, その廃棄や漏出のため, 微量ではあるが環境中にかなり広範囲に検出されている. しかし, 社会的に軽視できない塩素化エチレン化合物の毒性機構はまだ解明されておらず, 代謝活性化に関与するシトクロムP450種の変動をとらえて三次元的に本質を明らかにすることは重要な課題である. 又, 未解明とされている発癌プロモーションの過程を, 複数の化合物を用いてこれらに共通に関わる遺伝子を探査し, その構造に関わる事象を明らかにすることは効果のある発癌制御をもたらしものと期待される. これらの研究を通して得られる結果は, 化学物質の生物システム上の有効性, 安全性を確立するものである.

以上を包括する研究として, 第1期研究期間(平成9年度～11年度)においては以下に記す研究を実施した.

1. 強い生理活性を有する化合物の立体構造と受容体分子の三次元解析
 - (1) 高分解能NMR, CDを基盤とする天然化合物の三次元構造解析の解明
 - (2) 化学計算を用いた環境化学物質の構造と反応性に関する研究
2. 緩和な生理活性を有する化合物の構造と作用発現機構に関する解析
 - (1) ポリフェノールの抗酸化機構
 - (2) 天然に存在するフェノール系抗酸化剤の機能及び生理の解明に関する研究
3. 生体側から見た生理活性物質の構造と関連遺伝子の構造解析
 - (1) 塩素化エチレン化合物によるラット肝シトクロム

P450の変動：その構造活性相関の解明

(2) 化学物質の機能と細胞生物学的活性の間に介在する事象に関する研究

本研究は第II期研究期間として平成12年度から14年度の前定で継続されている。生体システムに關与する化学物質の有効性、安全性の解明に寄与することを目的に、それぞれの課題をより本質に迫るものとして推進させる前定である。

1. 強い生理活性を有する化合物の立体構造と受容体分子の三次元解析

(1) 真菌代謝産物 trichotetronine 類の三次元構造解析に関する研究

生薬部 関田節子, 代田 修, 佐竹元吉

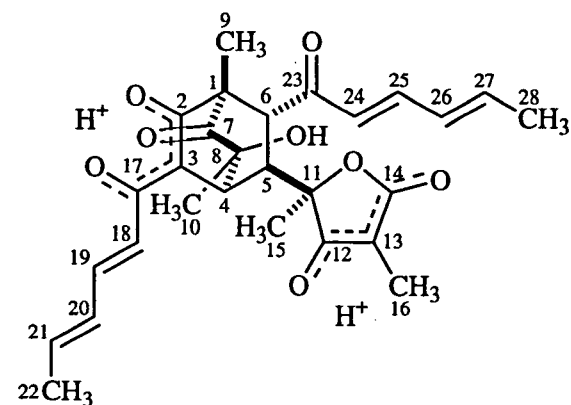
[目的]

真菌代謝産物は多様な立体構造を有していて特異的な生

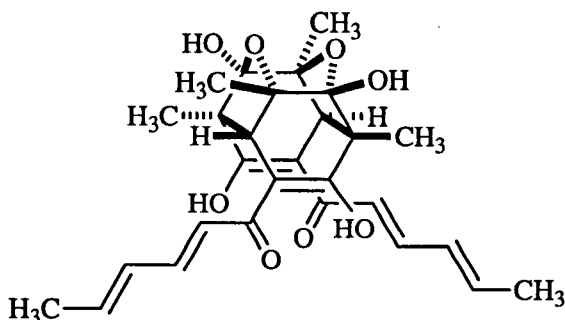
理活性を示すが、フェニルアラニン由来の芳香環と酢酸及びマロン酸由来の11~13員環又はこれからBaeyer-Villigerタイプの酸化を受けてきたと考えられる13~14員環の含酸素環を有するサイトカラシン類はHIVプロテアーゼ阻害活性を示すことが報告されている。マイコトキシン研究の一環として、我々は *Chaetomium globosum* よりトリプトファン由来の13員環骨格を有する新規サイトカラシンとして chaetoglobosin A-J を単離し構造解析を行ってきた。また、これらの化合物が細胞内アクチンに特異的な作用を示すこと、HIVプロテアーゼ阻害活性を示すことを報告してきた。そこで、今回は *Chaetomium* 属の菌類と同様に代謝産物の構造と活性に多様性があることで知られている *Trichoderma* 属について検討し、得られた新規化合物についてNMRやCDスペクトルによる立体構造を含めた構造解析を行った。

[方法]

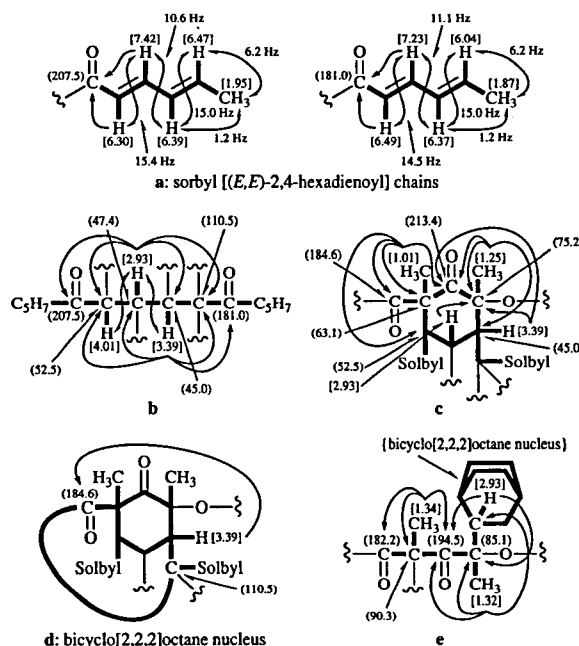
干し草から分離した *Trichoderma* sp. を米培地で25℃、3週間静置培養後、ジクロロメタンおよび酢酸エチルエステルで抽出し、得られたエキスについてシリカゲルカラムならびにODSカラムを用いたMPLCとHPLCを繰り返す、既知化合物 trichodimerol (3) と共に trichotetronine (1), dihydrotrichotetronine (2) と命名した2種類の新規化合物を単離精製した。これらの化合物についてFAB-MSにより分子量と分子式を、UVならびにIRスペクトルにより部分構造を推定し、¹NMR, ¹³NMR およびCD測定により平面構造式と三次元構造解析を行った。



1
2: 24,25-dihydro



3

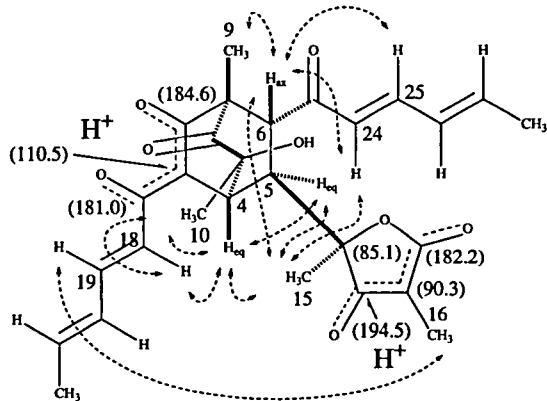


~: H-H coupling correlations []: δ_{H^1} , ppm
- - -: HMBC correlations (): $\delta_{C^{13}}$, ppm

fig. 1 NMR structure connectivities of 1 by H-H cosy and HMBC experiments

[結果と考察]

IR スペクトルより水酸基, 複数のケトン基, 強くキレートしたカルボニル基, 共役二重結合の存在が, UV スペクトルより共役二重結合に隣接するカルボニルの存在が予測された. Fig. 1 に示した ^1NMR , ^{13}NMR のピークの数値から 6 つの部分構造が, さらに H-H COSY, HMBC, NOE, NOESY の測定により部分構造のそれぞれの結合位が明らかとなり, 同時に相対立体構造を推定した (Fig. 2). 又,



--- : NOE correlations from NOESY experiment.
() : δ_{C} , ppm

fig. 2 Gross structure and relative stereochemistry of 1

Fig.3 に示した CD スペクトルにより絶対立体構造が決定した. これらの化合物は, 2, 4-dimethyl-hexaketide を出発物質とした生合成経路で, sorbyl-cyclohexadienone タイプの中

間体が 2 分子結合したものが trichodimerol (3) となり, 一方この中間体と sorbyl-tetronic acid タイプの中間体が Diels-

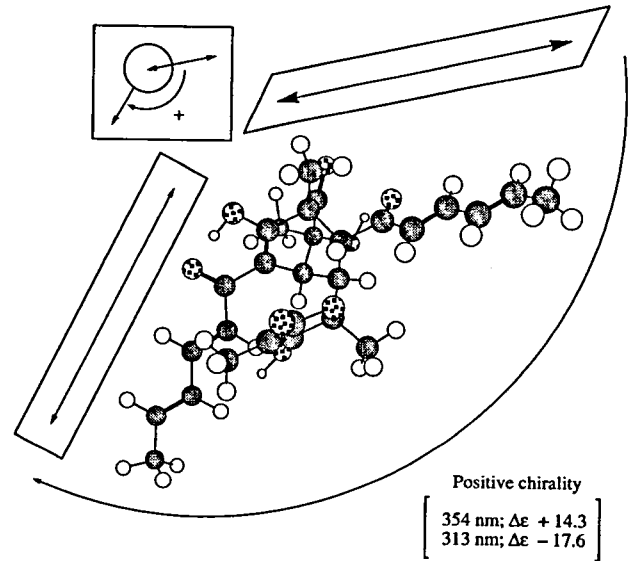
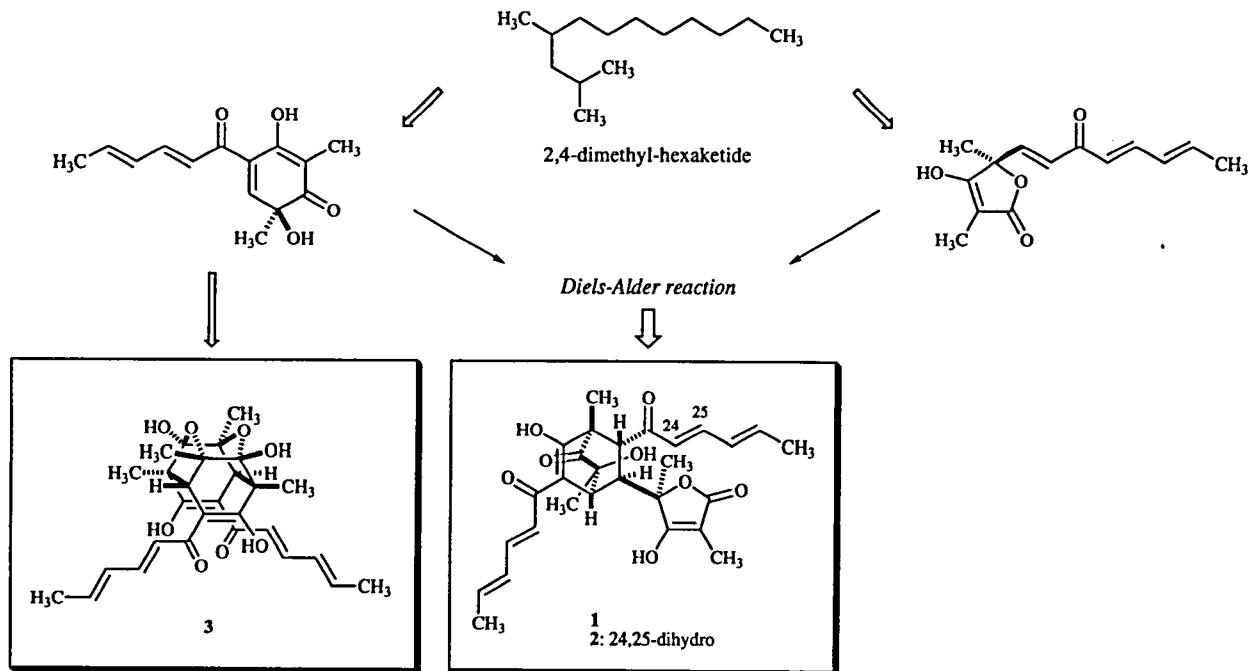


fig. 3 Absolute stereochemistry of 1 by CD spectral analysis

Alder 反応することにより trichotetronine(1), dihydrotrichotetronine (2) となるものと推察された (Scheme 1).

これらのスペクトル解析を, さらに, 立体異性体が複数ある Phytosphingosine 類の CD スペクトルによる構造決定の研究に展開したところ, 三次元構造を決定するには NMR と同様に CD スペクトルが極めて重要であった.

得られた結果は, 今後の生物システムでの活性メカニズム



Scheme 1 Positive biosynthetic route for trichotetronines and trichodimerol

の解明に発展させる予定である。

発表論文

- (1) Osamu Shirota, Vibha Pathak, Chowdhury Faiz Hossain, Setsuko Sekita, Kosuke Takatori and Motoyoshi Satake: Structural elucidation of trichotetrones: polyketides possessing a bicyclo [2.2.2] octane skeleton with a tetronic acid moiety isolated from *Trichoderma* sp., *J. Chem. Soc., perkin Trans. 1*, 2961-2964 (1997)
- (2) Osamu Shirota, Koji Nakanishi and Nina Berova: Phytosphingosines-A facile Synthesis and Spectroscopic Protocol for Configurational Assignment, *Tetrahedron*, **55**, 13643-13658 (1999)

関連する発表論文

- (3) Sekita, S., Yoshihira, K., Natori, S., Kuwano, H.: Structures of Chaetoglobosin A and B, Cytotoxic Metabolites of *Chaetomium globosum*, *Tetr. Letters*, **1973**, 2109-2112
- (4) Umeda, M., Ohtsubo, K., Saito, M., Sekita, S., Yoshihira, K., Natori, S., Udagawa, S., Sakabe, F., Kurata H.: Cytotoxicity of new cytochalasins from *Chaetomium globosum*, *Experientia*, **31**, 435-438 (1975)
- (5) J. V. Silverton, A. Akiyama, C. Kabuto, S. Sekita, K. Yoshihira and S. Natori: X-Ray Analysis of Chaetoglobosin A, an Indol-3-yl-[13] Cytochalasin from *Chaetomium globosum*, *Tetr. Letters*, **1976**, 1349-1350
- (6) I. Low, W. Jahn, Th. Wieland, S. Sekita, K. Yoshihira, S. Natori: Interaction between muscle Actin and Several Chaetoglobosins and cytochalasins, *Anal. Biochem.*, **956**, 14-18 (1979)
- (10) Yahara, I., Harada, F., Sekita, S., Yoshihira, K., Natori, S.: Correlation between Effects of 24 Different Cytochalasins on cellular Structures and Cellular Events and those on Actin Polymerization in vitro, *J. Cell Biol.*, **92**, 69-78 (1982)
- (11) 関田節子, 佐竹元吉: 科学技術振興調整費「エイズ等感染・発症制御のための基盤技術の開発に関する研究」平成7年度報告書

(2) サイトカラシン類 L-696,474 の HIV プロテアーゼ阻害活性作用機構の解析

有機化学部 栗原正明, 宮田直樹

[目的]

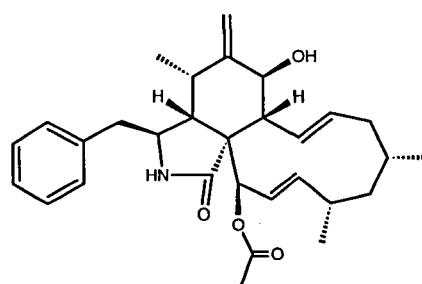
本特別研究では化学計算の手法を用いて以下の3つのテーマについて研究を行った。(1) カテキンの抗酸化作用機構の解析; (2) イソバリンより構成されるホモペプチドのコンフォメーション解析; (3) HIV プロテアーゼ阻害活性を有するサイトカラシン類 L-696,474 の活性作用機構の解析。(1), (2) については, 昨年の本国立医薬品食品

衛生研究所報告で発表したもので, ここでは (3) について報告する。

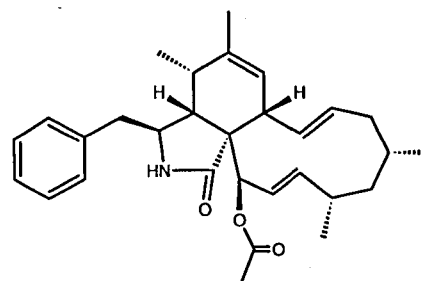
サイトカラシン類 1: L-696,474 は 1992 年メルク社のグループによって糸状菌 *Hypoxyylon fragiforme* から単離され, 強い HIV プロテアーゼ阻害活性を有していた。しかし, この化合物の HIV プロテアーゼ阻害活性のメカニズムについては現在まで, 報告がない。そこで, 化学計算を用いた分子モデリングによりその作用機構の解明を行った。

[方法]

類似化合物である, L-696,475 は阻害活性が非常に低いことより, 6員環上の水酸基が活性発現に重要であることが考えられた。分子力学法によるコンフォメーションサーチ (MacroModel ver. 6.5; Monte Carlo Method; MM2* Force



1: L-696,474



2: L-696,475

fig. 1 Structure of L-696, 474 and L-696, 475

Field) により 1 の最安定構造を求めた (Fig. 2)。多くの HIV プロテアーゼ阻害剤は, プロテアーゼ (ホモダイマー) の 2 つの 25 番目のアスパラギン酸と水素結合する水酸基と, 2 つの 50 番目のイソロイシンのアミド水素と水素結合をつくるカルボニル基を分子内に有している。また, これら水酸基とカルボニルの酸素原子間の距離は 4.7~4.9 Å 程度である。1 の 6 員環上の水酸基と γ -ラクタムの両酸素原子間の距離は先程の計算安定構造では 4.83 Å であった。

[結果及び考察]

1 において, 6 員環上の水酸基が活性発現に重要であり,

この水酸基の酸素原子と γ -ラクタムのアミド酸素原子との距離が4.83 Åと、他の阻害剤と非常に近い値を示すこと

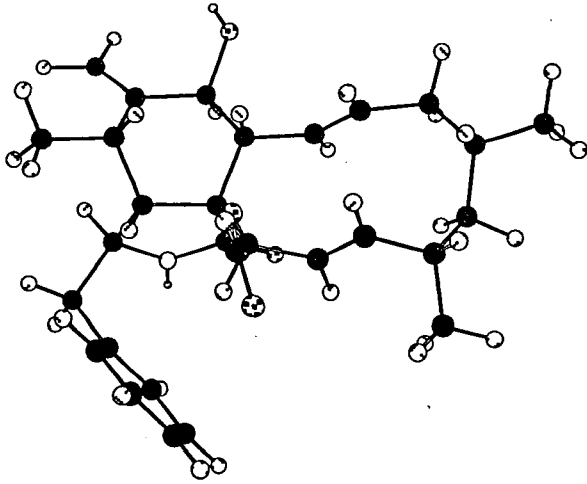


fig. 2 Structure of global minimum energy conformation calculated by Macro Model

より、この水酸基とアミドがプロテアーゼと水素結合を形成していると考えた (Fig. 3).

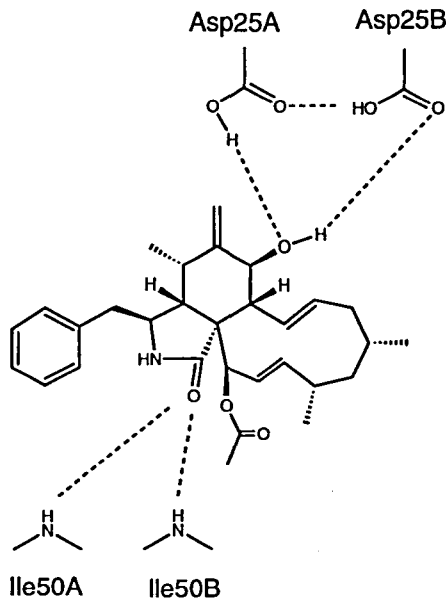


fig. 3 Potential hydrogen bonds between 1 and Asp25, Ile50

さらに、HIVプロテアーゼのX線構造解析より得られている3次元構造と1の安定構造より結合モデルを構築した。(Fig. 4) このモデルでは、25番目のアスパラギン酸と50番目のイソロイシンと1とが水素結合を形成できること、 γ -ラクタム上のベンジル基のベンゼン環及び、11員環部は酵素と疎水相互作用をしていることが推定された。

今後は、更に精密なモデリングを行うとともに、この作

用機構のモデリングを基にして、新規骨格の非ペプチド性のHIVプロテアーゼの設計と合成を行う予定である。

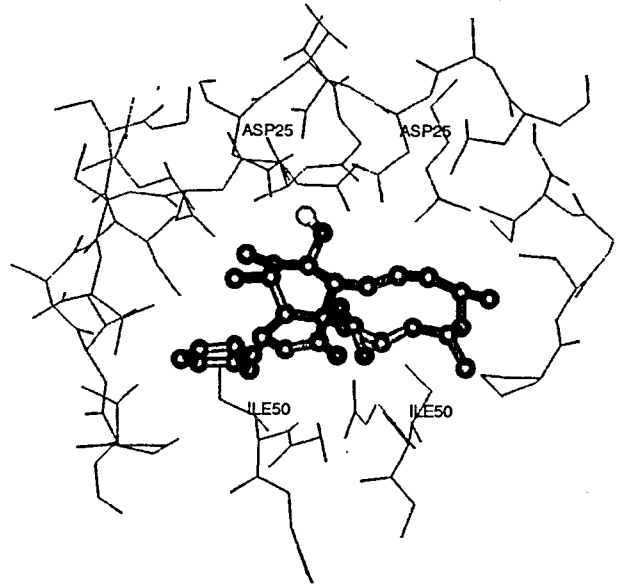


fig. 4 Model of 1 docked into HIV-PR active site calculated by Macro Model

発表論文

- 1) K. Kondo, M. Kurihara, N. Miyata, T. Suzuki, M. Toyoda, *Arch. Biochem. Biophys.*, **362**, 79-86 (1999)
- 2) K. Kondo, M. Kurihara, N. Miyata, T. Suzuki, M. Toyoda, *Free Radical Biol. Med.*, **27**, 855-863 (1999)
- 3) M. Kurihara, K. Kondo, K. Fukuhara, M. Toyoda, N. Miyata, *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 163-165 (1999)
- 4) K. Kondo, M. Kurihara, K. Fukuhara, T. Tanaka, T. Suzuki, N. Miyata, M. Toyoda, *Tetrahedron Lett.*, **41**, 485-488 (2000)
- 5) M. Tanaka, N. Imawaka, M. Kurihara, H. Suemune, *Helv. Chim. Acta.*, **82**, 485-493 (1999)
- 6) M. Kurihara, M. Tanaka, N. Imawaka, H. Suemune, N. Miyata, *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 166-168 (1999)
- 7) M. Kurihara, M. Tanaka, N. Imawaka, H. Suemune, N. Miyata, *JCPE Journal*, **11**, 185-190 (1999)
- 8) M. Kurihara, M. Tanaka, N. Imawaka, H. Suemune and N. Miyata, *Peptide science 1999*, 329-330 (2000)
- 9) M. Tanaka, N. Imawaka, M. Kurihara, H. Suemune, *Peptide science 1999*, 327-328 (2000)

2. 緩やかな生理活性を有する化合物の構造と作用発現機構に関する解析

(1) ポリフェノールの抗酸化作用機構

食品部 近藤一成, 豊田正武

[目的]

ポリフェノールは、カテキンなどフラボノイドとそれらの重合体プロアントシアニンなどのフェノール性水酸基を分子内に数多く有する化合物の総称である。これらは緑茶やブドウ、リンゴの種子や果皮など食品中に多く含まれ、発ガン抑制作用や抗アレルギー作用など興味ある生物活性を有することから現在注目されている。ポリフェノールの発ガン抑制作用は、主として活性酸素消去作用(抗酸化作用)によるDNA等酸化的損傷抑制と考えられている。そして、この抗酸化作用はflavan-3-olのB環上のOH基からラジカルへの1電子供与によるラジカル消去活性に起因しているために、B環上に多くの隣接OH基を有する酸化電位の低い化合物が抗酸化活性には有利と考えられてきた(カテキンではB環 dihydroxyl 構造のECよりB環 trihydroxyl 構造のEGCの方が強い抗酸化作用を示す)。しかし、EGCの抗酸化作用はあまり強くないことやカテキンの一つECの抗酸化作用が類似の構造を持ち、より低い酸化電位

を持つフラボノイド quercetin よりも強いこと、逆に quercetin は酸化を促進し細胞毒性を示すと報告されていることから、ポリフェノールの抗酸化作用には不明な点も多くその実体および反応機構は現在まで全く明らかにされていなかった。その原因には、従来ラジカル研究に威力を発揮したESRがポリフェノールのラジカルに対する最初の反応部位を知ることができるものの、ラジカルをトラップした後のポリフェノール自身の作用や変化を全く捕らえることができないためである。さらに、多くの場合スピントラップ剤を用いるが、これ自体ラジカルでありラジカル反応の研究に別のラジカル種が関与するため本来の反応とは違う反応になる可能性も考えられる。また、ラジカル反応生成物の単離から反応機構を推測することも可能であるが、複雑なラジカル反応物からの単離は容易ではなく、単離した化合物がその単離過程で二次的に生成したものではないことを証明することも難しい。

そこで、今回はポリフェノールのラジカルに対する反応部位とラジカルをトラップした後のポリフェノール自身の変化の両方について多くの情報が得られるフォトダイオード検出器(PDA)と組み合わせたLC/MSに着目し、分子軌道計算の結果と合わせてポリフェノールの抗酸化反応機構について検討した。今回用いたポリフェノールの構造式をFig. 1に示す。

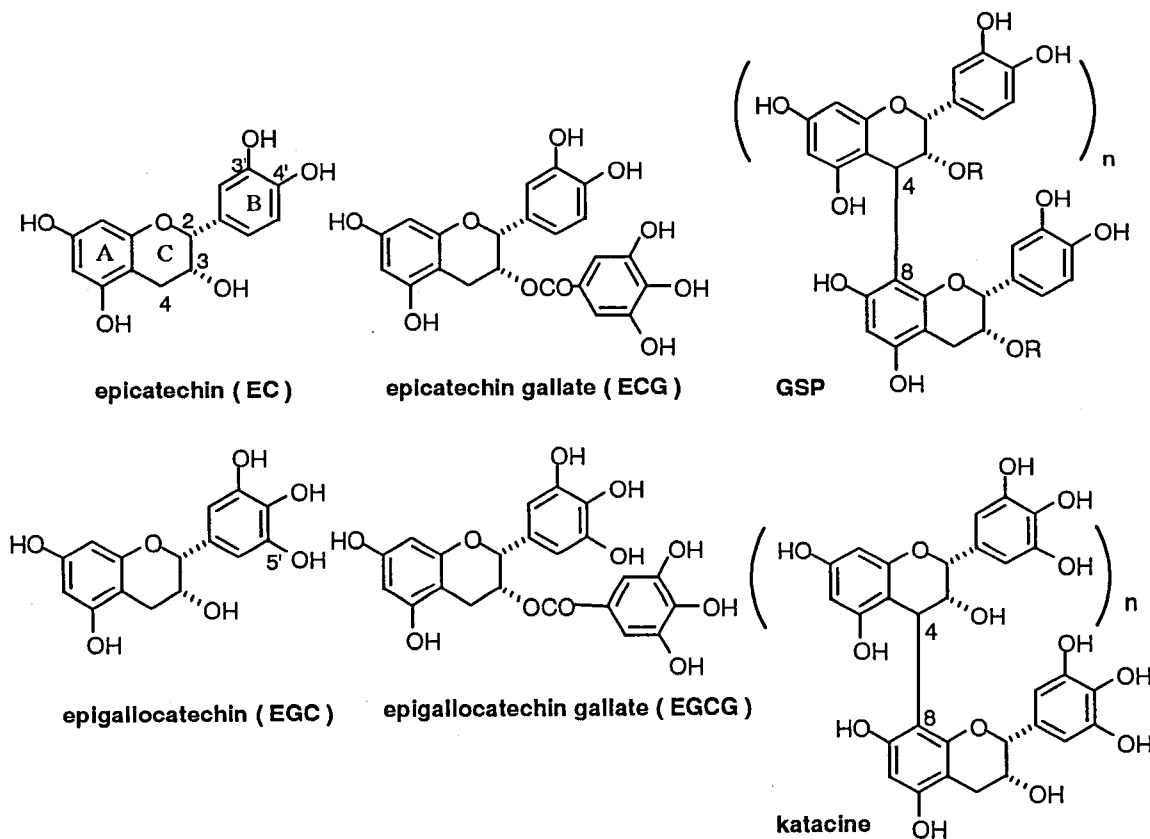


Fig. 1

[方法]

1. 抗酸化作用：リポソーム中およびバッファー中における抗酸化作用について、ラジカル開始剤 AAPH を用いて検討した。また、スーパーオキシドおよび OH ラジカル消去剤として superoxide dismutase (SOD) および mannitol, DMSO を用いても同様の実験を行い関与する活性酸素種を調べた。
2. 抗酸化反応機構：PDA 付き LC/MS (イオントラップ型) によりラジカル開始剤添加によりカテキンから初期に生成するラジカル反応生成物の構造解析を、またサイクリックボルタモトリーでポリフェノールの酸化還元電位を、分子軌道計算 (半経験的分子軌道法 AM1) によりポリフェノールのラジカルに対する反応部位の解析を行い、ポリフェノールの抗酸化作用機構について検討した。

[結果および考察]

1. リポソーム中および水溶液中における抗酸化作用：リポソーム中の実験では、phosphatidyl choline (PC) から調整した一重層リポソームに対して AAPH 添加で生成する PC 過酸化物 PCOOH のポリフェノールに対する抑制作用を指標に調べた。その結果、B 環 trihydroxyl 構造を有する EGC は短時間 (57 min) しか抗酸化作用を示さなかった (Fig. 2)。解析を容易にするためより単純な系である水溶液中で同様にポリフェノールの抗酸化作用を調べたところ、B 環 trihydroxyl 構造を有する EGC は EGCG の抗酸化作用は短時間しか続かず、逆に酸化を促進することが分かった。これは、B 環 dihydroxyl 構造を有する EC や ECG には見られなかった。プロアントシアニジンについても同様の検討をしたところ、B 環 dihydroxyl 構造の重合体 GSP は測定時間中完全にラジカルを消去したのに対し、B 環 trihydroxyl 構造の重合体 katechine は短時間の抗酸化作用の後顕著な酸化促進作用が見られた (Fig. 3)。この B 環 trihydroxyl 構造のカテキンおよびプロアントシ

アニジンの酸化促進作用は、SOD 存在下においては見られないことから、抗酸化反応過程で生じるスーパーオキシドが原因であることが分かった。

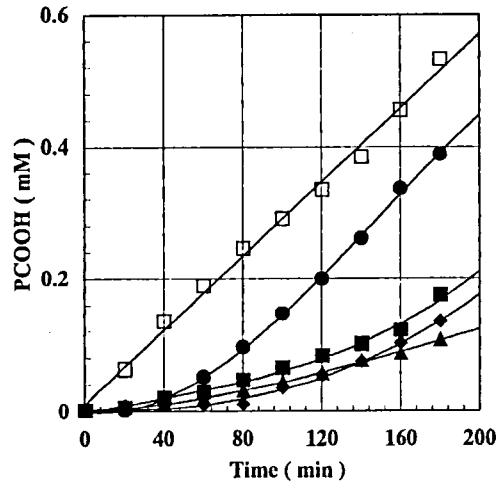


Fig. 2. Inhibitory effect of catechins on the peroxidation of soybean PC liposomes. The reaction system consisted of soybean PC (5 mM) and catechins (5 μM) in 10 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4) containing 0.5 mM DTPA. Control (□), EC (■), EGC (●), ECG (▲), EGCG (◆).

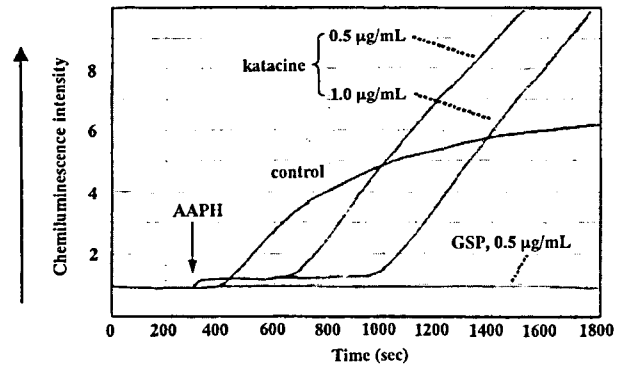


Fig. 3. Effect of GSP and katechine against radical oxidation in phosphate buffer (pH 7.4). GSP and katechine (0.5 and 1.0 μg/mL) were oxidized by the addition of AAPH (5 mM) in the presence of luminol.

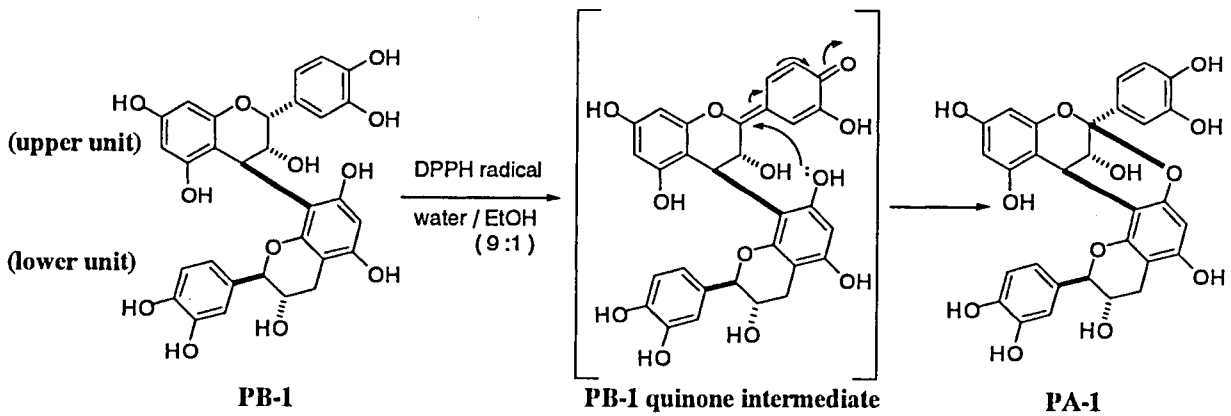


Fig.4. Conversion of PB-1 to PA-1

2. カテキン酸化体の解析による抗酸化反応機構: カテキン酸化体の構造解析からカテキンC-2位プロトンの脱離が示唆され, サイクリックボルタモトリーの結果から2つの酸化波が観察されカテキンは2電子以上の酸化が容易であること, また, カテキン2量体PB-1とラジカルとの反応によりPA-1が生成したことから, カテキンの抗酸化反応にはフェノール性OH基以外, すなわちC-2位のCH基も関与しこれが他のフラボノイドよりも強い抗酸化作用を発揮するのに重要であることが判明した (Fig. 4).
3. 1, 2の結果から, カテキンの抗酸化反応機構は次のように考えられた. すなわち, カテキンECはB環o-dihydroxyl基とC-2位プロトンの存在により2分子のラジカルと反応してアントシアニン様化合物が生成, これはさらに分子内にo-dihydroxyl構造を持つためさらにラジカルと反応してそれを消去できる. そのため, quercetinのようなC-2位プロトンを持たないフラボノイドより強い抗酸化作用を発揮する事ができると考えられた. 一方, EGCも同等以上の強い抗酸化作用を発揮できるものの, 反応過程で7のような還元性の強い化合物が生成し, これが酸素へ1電子供与しsuperoxideが生成してしまうためEGC自身の抗酸化作用が相殺され, 結果として, EGCの抗酸化作用が低下してしまうことが分かった.

発表論文

- a) Kondo, K., Kurihara, M., Miyata, N., Suzuki, T., and Toyoda, M. Mechanistic studies of catechins as antioxidants against radical oxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* **362**, 79-86 (1999)
- b) Kondo, K., Kurihara, M., Miyata, N., Suzuki, T., and Toyoda, M. Scavenging mechanisms of (-)-epigallocatechin gallate and (-)-epicatechin gallate on peroxy radicals and formation of superoxide during the inhibitory action. *Free Radical Biol. Med.* **27**, 855-863 (1999)
- c) Kondo, K., Kurihara, M., Fukuhara, K., Tanaka, T., Miyata, N., Suzuki, T., and Toyoda, M. Conversion of procyanidin B-type (catechin dimer) to A-type: Evidence for abstraction of C-2 hydrogen in catechin during radical oxidation. *Tetrahedron Lett.* **41**, 485-488 (2000)
- d) Kondo, K., Kurihara, M., Fukuhara, K. Mechanism of antioxidant effect of catechins. *Method in Enzymology*, **335**, 203-217 (2001)

(2) 天然に存在するフェノール系抗酸化剤の機能及び生理の解明に関する研究

大阪支所食品試験部 中村優美子・津村ゆかり・
吉井公彦・石光進・外海泰秀

[目的]

ポリフェノール(polyphenol)は植物の二次代謝産物として多種にわたり普遍的に存在する物質であり, ヒトや動物の食餌中に必ず存在する. 単純フェノール誘導体, フェニルプロパノイド誘導体やフラボノイドのように分子量の小さいものから分子量が30,000 Daを越えるタンニン(加水分解性タンニン, 縮合性タンニン)まで多種多様のものがあり, 食品では穀類, 豆類, 種実類, 野菜, 果物, ジュース類, 茶, コーヒー, ココア, ワイン, ビール等の嗜好飲料中に多く含まれている¹⁾.

ポリフェノールは大別して以下のカテゴリーに分類される²⁾.

(1) 単純フェノール(Simple phenols)

(1-1) フェノール酸及びクマリン(Phenolic acids and coumarines), C6-C1 and C6-C3 structure.

(1-2) フラボノイド(Flavonoid compounds, including anthocyanidins), C6-C3-C6 structure

(2) 重合体フェノール(Polymeric phenols)

(2-1) Tannins タンニン (2-1-A) 加水分解性タンニン(Hydrolyzable tannins) (2-1-B) 縮合型タンニン(Condensed tannins) (2-1-C) Phlorotannins

(2-2) リグナン(Lignans)

このうち食品として摂取する量の多いポリフェノールはフラボノイド, 縮合型タンニン及びフェノール酸類である. フラボノイドはdiphenolを基本構造とする化合物の総称で, これまでに4000種類以上の化合物が報告されている. フラボノイドには, 抗酸化作用, 抗菌・抗ウイルス作用, 抗炎症作用, エストロゲン或いは抗エストロゲン作用, 抗変異原性・抗癌作用, 酵素の活性化或いは不活性化作用等様々な生理活性のあることが報告されている^{3,4)}. また, フラボノイド化合物の摂取量と心臓疾患の発症率との間に負の相関のあることが, 疫学的調査で報告されている⁵⁾. 一方, タンニンについては, 経口投与時にタンパク質, ミネラル, ある種のビタミン吸収阻害作用, 生長抑制作用, 肝細胞壊死作用, 腹腔内投与時にメトヘモグロビン血症惹起作用等の毒性⁶⁾のため, 従来は有害物質として考えられてきた. しかし, 近年になって, 縮合型タンニンに抗酸化作用, 抗癌作用, 心臓血管系の病気の治療・予防に有用な作用のあること等が知られるようになり, 機能性食品素材として注目されるようになってきた⁷⁾.

ポリフェノールが脂質代謝に影響を及ぼすことは考えられるが, 報告は非常に少ない. 本研究では, 食物由来として重要と考えられるポリフェノールのうち, ヘスペリジン(hesperidin), ケルセチン(quercetin), ルチン(rutin)の3種のフラボノイドを選択し, ラットに0.01~1.0 g/kgの用量で3週間投与することにより, これらの物質のラットにおける脂質含量, ステロイド排泄及び血清中の過酸化物質等抗酸化作用に関係あると考えられる物質の変動を調べた⁸⁾. また,

化合物の形態による代謝の差を, quercetin及び rutin (quercetinのrutinose配糖体) について調べた⁸⁾。

[方法]

1. 投与試料

投与用の hesperidin, quercetin 及び rutin は Extrasynthese (Geney, France) より購入し, 用時 1%CMC-Na に懸濁して 0.01-1.0 g/5 ml の投与試料を調製した。いずれも実験中は同一ロットのものを使用した。Figure 1 に hesperidin の化学構造式を, Figure 2 に quercetin, rutin 及びその代謝物である isorhamnetin と tamarixetin の化学構造式を示す。

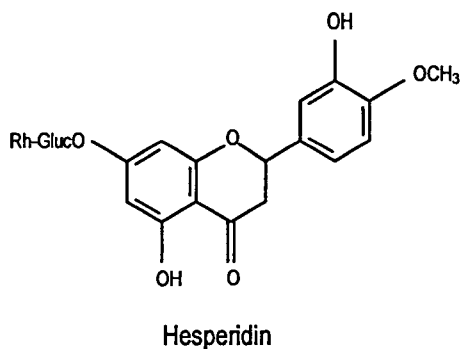


Figure 1 Chemical Structure of hesperidin

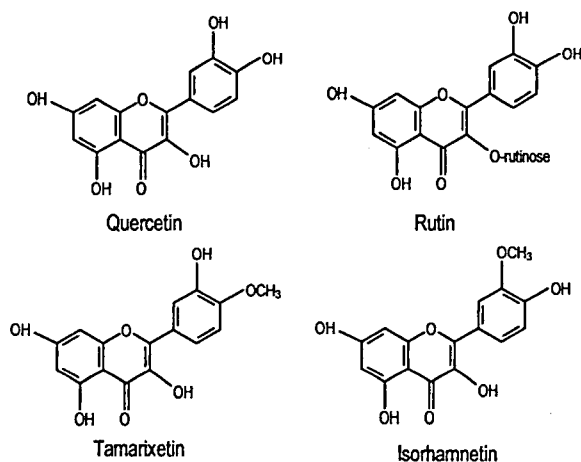


Figure 2 Chemical Structures of quercetin, rutin and their metabolites

2. 動物実験

4週令の Wistar 系雄性ラットを明暗サイクル 12 時間毎 (7:00 ~ 19:00 明), 温度 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 湿度 $55 \pm 5\%$ の動物舎で, 5 頭ずつ金網ケージにて集団飼育した。ラットは実験期間中市販 F-2 固形飼料 (船橋農場, 千葉) 及び水を自由摂取させた。実験では体重 118-149 g のラットを実験に用い, 各実験において 1 群 5 匹ずつとした。

実験 1 ~ 3 では hesperidin, quercetin 或いは rutin を 0.01,

0.05, 0.1, 0.2, 0.5 及び 1.0 g/kg の用量で, 対照群のラットには 1%CMC-Na を 5 mL/kg 体重, それぞれ 22 日間胃ゾンデにて 1 日 1 回強制経口投与した。各試料は全て毎日 10:00 から 12:00 の間に投与した。実験 18-19 日目にラットを代謝ケージに入れ糞及び尿を採取した。ラットは 21-22 日目一晩絶食させた。22 日目にジエチルエーテル麻酔下で心臓より採血し, 放血後心臓を速やかに摘出した。血清及び肝臓は, 分析時まで -20°C 以下で冷蔵保存した。

実験 4 では quercetin 或いは rutin を 1.0 g/kg の用量で上記と同様の条件でラットに 10 日間強制経口投与し, 心臓採血により血清を得た。実験 5 では quercetin 或いは rutin を 1.0 g/kg の用量で, 代謝ケージに 1 匹ずつ静置したラットに 1 回強制経口投与し, 3 日間にわたり尿を採取した。また, 3 日後に心臓採血により血清を得た。

3. 分析法

血清総コレステロール, HDL-コレステロール, リン脂質及びトリグリセライド, TBARS を市販のキットで測定した。肝臓はクロロホルム/メタノール混液 (2:1, v/v) で抽出し, 総コレステロール, トリグリセライド及びリン脂質を市販キットを用いて分析した。採取した糞は 60°C で一晩乾燥し, 粉碎した。糞中中性ステロイド及び胆汁酸を 5 α -cholestane, norDCA 或いは 5 β -cholanic acid を内部標準とし, Grundy ら⁹⁾及び Setchell ら¹⁰⁾の方法の改良法¹¹⁾で分析した。血清及び尿中フラボノイドは, そのまま或いは β -glucuronidase により加水分解を行い flavone を内部標準としてメタノール-塩酸性下で酢酸エチルで抽出し HPLC で測定した。

4. 統計処理

測定値はすべて平均値 \pm SE で示した。実験 1 ~ 3 においては, 各データについて 1-way ANOVA 次いで Dunnett の多重比較検定を行った。実験 4 及び 5 においては, quercetin 投与ラットを対照として Aspin-Welch t test により有意差検定を行った。用量依存性の解析は回帰分析で行った。いずれも場合も, 対照群に対して $p < 0.05$ の場合に有意差ありと判定した。

[結果]

実験 1 ~ 3 において, 投与したフラボノイド類はいずれも, 体重増加量, 肝臓相対重量, 食餌摂取量及び糞乾燥重量に有意な影響を及ぼさなかった。Quercetin 1.0 g/kg 投与ラットの糞及び rutin 1.0 g/kg 投与ラットの尿は肉眼的に明らかに黄色に着色しているのが認められたが, 他の群のラットでは対照群に比べて糞や尿の有意な変色は肉眼では認められなかった。また, rutin 投与ラットの血清は, 投与量が 0.1 g/kg 以上でレモン色に着色しているのが認められ, 投与量が高くなるほど着色が顕著であった。しかし, hesperidin 或いは quercetin 投与時には血清の色調の変化は認められなかった。

1. 血清及び肝臓中脂質に及ぼす影響 (実験1~3, Table 1)

Hesperidin, quercetin 或いは rutin はいずれも肝臓総コレステロール, トリグリセライド及びリン脂質濃度には有意な影響を及ぼさなかった. 血清トリグリセライド濃度は hesperidin 或いは rutin 1.0 g/kg 投与ラットでそれぞれ対照群に

比べて有意に低下, 血清 HDL-コレステロール濃度は rutin 0.5 g/kg 投与ラットで対照群に比べ有意に低下した以外は, これらの化合物の血清脂質濃度に及ぼす有意な変動は認められなかった.

2. 糞中ステロイド排泄に及ぼす影響 (実験1~3, Tables

Table 1 Hepatic and Serum Lipids of Rats Administered Hesperidin, Quercetin or Rutin (Experiments 1-3, Day 22, Food-deprived Overnight)

Experiment 1	Control	Hesperidin 0.01 g/kg	Hesperidin 0.05 g/kg	Hesperidin 0.1 g/kg	Hesperidin 0.2 g/kg	Hesperidin 0.5 g/kg	Hesperidin 1.0 g/kg
Hepatic total cholesterol [mg/g]	2.327±0.075	2.059±0.097	2.286±0.045	2.540±0.069	2.437±0.098	2.430±0.121	2.243±0.113
Hepatic triglycerides [mg/g]	13.51±0.64	13.03±1.81	13.04±0.48	13.52±0.68	13.29±0.55	12.41±1.05	13.11±0.62
Hepatic phospholipids [mg/g]	19.73±0.61	20.41±1.50	20.31±0.92	19.96±0.43	21.02±0.66	20.24±1.54	19.41±1.24
Serum total cholesterol [mg/dL]	72.59±3.67	60.76±3.30	68.41±3.98	69.00±5.87	64.85±3.85	58.28±2.20	63.46±3.92
Serum HDL-cholesterol [mg/dL]	37.11±1.84	35.57±2.12	37.61±1.93	40.39±2.19	34.63±1.83	37.88±3.99	37.26±2.31
Serum triglycerides [mg/dL]	67.13±3.25	74.27±4.88	61.55±6.69	66.80±5.03	64.01±3.84	52.66±6.88	51.79±4.47*
Serum phospholipids [mg/dL]	95.90±4.71	93.83±3.73	92.81±5.15	99.40±8.06	93.15±3.88	86.07±4.36	82.57±3.98
Experiment 2	Control	Quercetin 0.01 g/kg	Quercetin 0.05 g/kg	Quercetin 0.1 g/kg	Quercetin 0.2 g/kg	Quercetin 0.5 g/kg	Quercetin 1.0 g/kg
Hepatic total cholesterol [mg/g]	2.803±0.153	2.915±0.143	2.734±0.096	2.565±0.286	2.448±0.110	2.517±0.157	2.710±0.146
Hepatic triglycerides [mg/g]	15.84±1.01	14.55±0.88	13.10±0.89	16.26±1.17	12.93±1.47	14.34±1.18	14.05±1.57
Hepatic phospholipids [mg/g]	25.27±1.65	21.86±1.13	22.24±1.30	27.83±0.69	23.07±1.00	24.23±1.05	24.21±1.07
Serum total cholesterol [mg/dL]	67.98±6.06	66.16±2.87	65.49±1.61	58.08±1.52	59.27±4.48	62.69±2.23	63.33±2.50
Serum HDL-cholesterol [mg/dL]	35.45±3.09	34.78±2.35	35.94±2.56	28.78±0.96	34.80±3.11	30.28±2.13	29.36±0.92
Serum triglycerides [mg/dL]	61.43±2.77	72.93±3.89	71.28±6.40	67.93±5.83	55.34±3.21	61.83±4.28	52.03±3.50
Serum phospholipids [mg/dL]	105.7±4.3	109.4±4.7	110.9±1.9	102.7±3.2	110.0±4.2	106.4±3.0	106.3±5.3
Experiment 3	Control	Rutin 0.01 g/kg	Rutin 0.05 g/kg	Rutin 0.1 g/kg	Rutin 0.2 g/kg	Rutin 0.5 g/kg	Rutin 1.0 g/kg
Hepatic total cholesterol [mg/g]	2.376±0.106	2.376±0.061	2.380±0.086	2.341±0.079	2.397±0.044	2.450±0.156	2.101±0.067
Hepatic triglycerides [mg/g]	13.48±1.19	13.67±0.84	14.74±1.04	12.42±0.94	14.11±1.62	11.68±0.21	11.14±0.51
Hepatic phospholipids [mg/g]	22.03±0.56	20.63±0.61	19.97±0.35	19.54±1.25	19.57±0.83	20.12±1.30	19.23±0.68
Serum total cholesterol [mg/dL]	69.6±2.47	63.83±4.08	68.16±3.51	67.14±4.80	59.54±4.29	62.22±0.93	60.84±1.67
Serum HDL-cholesterol [mg/dL]	42.34±2.52	39.20±1.73	43.16±2.42	39.87±3.08	37.06±1.46	32.59±1.72* ¹⁾	34.90±2.70
Serum triglycerides [mg/dL]	63.14±7.81	63.34±5.83	48.99±5.54	55.18±11.84	58.83±10.10	39.14±6.14	32.08±4.75*
Serum phospholipids [mg/dL]	108.6±1.8	108.2±7.4	110.6±7.0	111.8±5.8	105.2±3.6	98.05±2.16	101.0±3.4

Data are expressed as mean±SEM (n=5).

1) Different significantly from the control group.

(* p<0.05 vs. Control, ** p<0.01, ***p<0.001 vs. Control, 1-way ANOVA followed by Dunnett's multiple comparison test)

Table 2 Fecal Excretion of Bile Acids in Rats Administered Hesperidin (Experiment 1, Days 18-19)

	Control	Quercetin 0.01 g/kg	Quercetin 0.05 g/kg	Quercetin 0.1 g/kg	Quercetin 0.2 g/kg	Quercetin 0.5 g/kg	Quercetin 1.0 g/kg
Fecal neutral steroid excretion							
Coprostanol (Cp) [µmol/day]	9.01±1.03	13.65±1.43	12.19±0.53	10.91±0.64	14.33±1.62*	10.78±2.31	10.75±1.57
Cholesterol (Ch) [µmol/day]	4.12±0.09	4.26±0.58	4.72±0.36	4.13±0.40	4.46±0.49	4.04±0.37	5.50±0.69
Coprostanone [µmol/day]	0.96±0.13	1.15±0.08	1.10±0.13	1.00±0.19	1.11±0.11	1.01±0.11	0.97±0.04
Total [µmol/day]	14.09±1.12	19.06±1.98* ¹⁾	18.01±0.68	16.15±1.02	19.90±1.69*	15.83±2.38	17.21±1.78
Cp/Ch ratio	2.19±0.24	3.20±0.43	2.58±0.28	2.64±0.37	3.21±0.37	2.67±0.39	1.95±0.34
Fecal bile acid excretion							
Total bile acids [µmol/day]	11.14±1.18	16.23±1.84*	11.86±1.29	11.09±0.99	12.25±1.58	10.98±1.22	14.22±0.59
Compositions of fecal bile acids [%]							
Cholic acid derived bile acids (CAs)							
Cholic acid (CA)	1.58±0.43	0.89±0.09	0.58±0.06	0.79±0.13	0.81±0.32	1.20±0.41	0.60±0.20
Deoxycholic acid (DCA)	12.78±0.56	13.50±0.85	14.09±1.85	13.67±0.60	12.57±0.63	11.15±1.38	11.36±1.03
Isocholic acid (ICA)	3.58±0.44	3.61±0.58	4.48±0.86	4.39±0.25	3.68±0.31	3.31±0.36	3.73±0.43
12-Ketolithocholic acid (12KLCA)	4.80±0.63	4.37±0.63	6.19±1.17	4.33±0.41	6.15±0.41	7.40±0.91	5.93±1.01
7-Ketodeoxycholic acid (7KDCA)	0.49±0.20	0.15±0.15	0.18±0.17	ND ²⁾	0.12±0.11	0.37±0.21	0.66±0.42
12-Ketochenodeoxycholic acid (12KCDCOA)	0.39±0.24	0.07±0.07	0.86±0.39	0.83±0.23	1.58±0.50	0.85±0.51	0.70±0.36
Chenodeoxycholic acid derived bile acids (CDAs)							
β-Muricholic acid (βMCA)	7.38±0.55	4.96±0.77	7.04±0.91	7.24±1.26	6.79±1.17	10.44±2.32	8.29±1.83
Lithocholic acid (LCA)	2.72±0.27	3.86±0.59	4.38±0.43	3.16±0.43	3.89±0.86	2.48±0.63	2.52±0.14
Isolithocholic acid (ILCA)	0.66±0.12	0.57±0.15	0.82±0.11	0.83±0.25	0.90±0.16	0.48±0.14	0.79±0.25
Hydroxycholic acid (HCA)	33.94±7.25	46.93±3.84	37.33±8.23	39.60±3.75	32.28±7.05	33.03±11.21	27.37±6.82
Murodeoxycholic acid (MCA)	ND ²⁾	0.12±0.11	0.56±0.46	0.11±0.10	0.31±0.21	0.25±0.14	0.47±0.47
α-Muricholic acid (αMCA)	0.84±0.17	0.78±0.17	1.21±0.46	0.93±0.15	0.82±0.53	1.68±0.44	1.23±0.52
ω-Muricholic acid (ωMCA)	29.70±7.57	17.62±3.18	19.15±6.14	24.17±2.11	25.94±7.65	24.40±9.44	34.96±5.94
6-Ketolithocholic acid (6KLCA)	1.07±0.41	2.07±0.52	2.15±0.75	1.25±0.40	3.12±0.82	2.25±0.67	0.69±0.22
Others							
3β-Hydroxy 5-cholenic acid	0.57±0.26	0.50±0.26	0.25±0.15	0.18±0.11	0.55±0.19	0.72±0.36	0.70±0.20
CAs/CDAs ratio	0.299±0.025	0.295±0.017	0.364±0.039	0.318±0.014	0.333±0.025	0.327±0.031	0.303±0.025
Ratio of primary bile acids³⁾ [%]	8.96±0.93	5.84±0.82	7.62±0.90	8.03±1.31	7.60±0.88	11.64±2.18	8.90±1.90

Data are expressed as mean±SEM (n=5).

1) Different significantly from the control group.

(* p<0.05 vs. Control, 1-way ANOVA followed by Dunnett's multiple comparison test)

2) ND: not detected.

3) Primary bile acids: Total of CA, CDCA and βMCA.

2~4)

Hesperidin投与時(実験1)には、糞中中性ステロイド排泄総量が0.01或いは0.2 g/kg投与時のみ対照群に比べて

有意に増加したが、糞中コプロスタノール/コレステロール比(Cp/Ch比)については有意な変動は認められなかった。胆汁酸総排泄量は0.01 g/kg投与ラットでのみ対照群に

Table 3 Fecal Excretion of Bile Acids in Rats Administered Quercetin (Experiment 2, Days 18-19)

	Control	Quercetin 0.01 g/kg	Quercetin 0.05 g/kg	Quercetin 0.1 g/kg	Quercetin 0.2 g/kg	Quercetin 0.5 g/kg	Quercetin 1.0 g/kg
Fecal neutral steroid excretion							
Coprostanol (Cp) [μmol/day]	8.55±0.72	7.25±0.76	7.05±0.86	7.95±0.80	8.20±0.58	8.75±0.73	9.46±0.82
Cholesterol (Ch) [μmol/day]	3.95±0.23	4.02±0.69	4.89±0.95	3.92±0.45	4.03±0.39	4.54±0.28	5.15±0.42
Coprostanone [μmol/day]	0.95±0.13	0.88±0.15	0.90±0.15	0.96±0.06	0.78±0.11	1.07±0.11	1.32±0.20
Total [μmol/day]	13.45±0.92	12.15±1.11	12.84±1.16	12.83±1.25	13.01±0.81	14.35±1.07	15.93±1.29
Cp/Ch ratio	2.14±0.09	1.96±0.25	1.63±0.26	2.05±0.09	2.12±0.29	1.92±0.09	1.86±0.13
Fecal bile acid excretion							
Total bile acids [μmol/day]	10.30±0.73	8.87±1.07	10.32±0.99	9.92±0.95	11.13±1.47	12.51±0.73	11.22±1.02
Compositions of fecal bile acids (%)							
Cholic acid derived bile acids (CAs)							
Cholic acid (CA)	0.55±0.16	1.01±0.29	0.63±0.36	0.46±0.13	0.90±0.33	0.88±0.24	0.67±0.24
Deoxycholic acid (DCA)	12.48±0.92	13.89±1.03	14.64±1.69	14.98±0.87	14.90±1.12	17.57±1.27* ¹⁾	13.35±1.81
Isodeoxycholic acid (IDCA)	3.00±0.29	3.25±0.25	3.21±0.49	3.22±0.22	3.06±0.17	5.29±0.53**	3.73±0.43
12-Ketolithocholic acid (12KLCA)	7.51±0.71	5.03±0.70	7.32±0.36	7.60±0.96	5.98±1.08	3.62±0.40**	5.79±0.65
7-Ketodeoxycholic acid (7KDCA)	0.39±0.27	0.19±0.19	0.55±0.34	0.20±0.12	0.56±0.24	0.12±0.12	0.25±0.17
12-Ketochenodeoxycholic acid (12KCDA)	1.44±0.55	1.13±0.24	0.82±0.19	0.65±0.18	0.36±0.19	0.37±0.07	1.32±0.56
Chenodeoxycholic acid derived bile acids (CDAs)							
β-Muricholic acid (βMCA)	9.61±2.75	5.80±1.06	9.66±2.49	7.56±2.13	9.48±1.39	4.58±1.16	5.56±1.97
Lithocholic acid (LCA)	5.50±0.53	5.45±0.57	5.22±0.58	4.90±0.34	4.91±0.38	5.34±0.66	5.52±0.37
Isolithocholic acid (ILCA)	1.16±0.10	0.67±0.24	1.02±0.25	1.02±0.09	0.95±0.08	1.12±0.21	1.13±0.10
Hyodeoxycholic acid (HDCA)	31.31±5.90	45.51±2.14	32.13±3.60	32.25±9.40	21.56±8.56	35.40±4.39	36.62±7.79
Murodeoxycholic acid (MCA)	2.25±0.59	2.47±0.22	3.27±0.83	2.07±0.45	5.01±0.22**	4.98±0.17**	3.72±0.82
α-Muricholic acid (αMCA)	2.01±0.50	1.28±0.24	2.53±0.71	1.69±0.38	4.33±0.54	3.25±0.35	3.15±0.65
ω-Muricholic acid (ωMCA)	17.18±3.09	8.73±0.89	15.53±3.54	19.16±6.60	24.90±6.26	14.28±3.45	14.43±2.48
6-Ketolithocholic acid (6KLCA)	5.26±1.35	5.01±0.48	4.22±0.79	3.91±1.07	2.82±0.32	2.71±0.21	5.25±1.64
Others							
3β-Hydroxy 5-cholenic acid	0.35±0.10	0.60±0.22	0.73±0.26	0.33±0.09	0.29±0.11	0.50±0.18	0.48±0.16
CAs/CDAs ratio	0.341±0.027	0.328±0.022	0.379±0.031	0.378±0.034	0.350±0.026	0.392±0.038	0.320±0.026
Ratio of primary bile acids²⁾ (%)	10.16±2.75	6.06±1.54	10.29±2.58	8.02±2.16	10.09±0.88	5.45±1.34	6.23±1.94

Data are expressed as mean±SEM (n=5).

1) Different significantly from the control group.

(* p<0.05 vs. Control, 1-way ANOVA followed by Dunnett's multiple comparison test)

2) Primary bile acids: Total of CA, CDCA and βMCA.

Table 4 Fecal Steroid Excretion in Rats Administered Rutin (Experiment 3, Days 18-19)

	Control	Rutin 0.01 g/kg	Rutin 0.05 g/kg	Rutin 0.1 g/kg	Rutin 0.2 g/kg	Rutin 0.5 g/kg	Rutin 1.0 g/kg
Fecal neutral steroid excretion [μmol/day]							
Coprostanol (Cp) [μmol/day]	9.51±0.47	7.36±0.49	7.96±0.63	8.17±0.68	8.81±0.93	6.75±1.05	6.59±0.85
Cholesterol (Ch) [μmol/day]	3.94±0.27	3.37±0.29	5.41±0.63	4.17±0.56	3.94±0.39	4.86±0.41	3.85±0.32
Coprostanone [μmol/day]	0.50±0.07	0.54±0.03	0.48±0.08	0.56±0.10	0.54±0.08	0.51±0.18	0.42±0.05
Total [μmol/day]	13.96±0.36	13.31±0.69	12.60±1.17	12.07±1.11	14.20±1.37	11.11±1.54	12.47±1.75
Cp/Ch ratio	2.46±0.24	1.46±0.23*** ¹⁾	1.97±0.14	2.12±0.16	1.80±0.07	1.72±0.12*	1.29±0.21**
Fecal bile acid excretion							
Total bile acids [μmol/day]	12.14±0.41	17.14±0.60*	10.99±0.54	11.25±1.11	11.38±1.26	9.69±1.78	9.96±1.21
Compositions of fecal bile acids (%)							
Cholic acid derived bile acids (CAs)							
Cholic acid (CA)	0.74±0.13	0.86±0.13	0.67±0.24	1.18±0.11	1.02±0.17	1.17±0.27	1.49±0.26
Deoxycholic acid (DCA)	10.58±0.64	12.60±0.58	11.28±2.49	10.96±1.15	14.89±0.51	13.50±1.38	13.07±1.52
Isodeoxycholic acid (IDCA)	2.71±0.12	3.18±0.56	2.57±0.16	2.02±0.24	2.52±0.10	3.15±0.54	2.92±0.34
12-Ketolithocholic acid (12KLCA)	4.80±0.63	4.37±0.63	6.19±1.17	4.33±0.41	6.15±0.41	7.40±0.91	5.93±1.01
7-Ketodeoxycholic acid (7KDCA)	0.20±0.20	0.51±0.35	ND ²⁾	ND	0.12±0.12	0.45±0.45	0.19±0.19
12-Ketochenodeoxycholic acid (12KCDA)	0.54±0.54	0.46±0.27	1.01±0.60	0.34±0.34	0.20±0.20	0.40±0.20	1.11±0.71
Chenodeoxycholic acid derived bile acids (CDAs)							
β-Muricholic acid (βMCA)	11.56±0.58	11.09±2.32	8.61±1.63	6.06±0.50	8.77±1.12	8.99±2.94	9.23±1.74
Lithocholic acid (LCA)	5.77±2.63	5.52±0.69	6.96±0.59	6.13±0.54	5.90±0.53	6.66±0.40	5.73±0.74
Isolithocholic acid (ILCA)	1.05±0.06	0.87±0.04	1.42±0.15	1.32±0.14	0.94±0.28	1.26±0.09	1.01±0.16
Hyodeoxycholic acid (HDCA)	25.00±6.83	34.32±10.37	33.90±4.89	49.56±1.92	41.16±2.88	32.36±14.53	32.01±5.39
Murodeoxycholic acid (MCA)	2.66±0.92	1.50±0.37	1.90±0.45	1.90±0.22	1.75±0.15	1.72±0.51	2.05±0.86
α-Muricholic acid (αMCA)	2.36±0.11	1.96±0.64	1.49±0.16	1.04±0.13*	1.13±0.11*	1.69±0.50	1.88±0.22
ω-Muricholic acid (ωMCA)	25.25±6.71	17.38±6.88	16.50±4.32	8.16±0.44	10.68±2.79	19.36±9.46	17.87±3.80
6-Ketolithocholic acid (6KLCA)	3.32±1.30	1.92±0.97	3.78±1.19	2.14±0.50	1.97±0.53	1.72±1.03	3.32±1.73
Others							
3β-Hydroxy 5-cholenic acid	0.38±0.05	0.20±0.07	0.50±0.06	0.73±0.18	0.81±0.21	0.73±0.24	1.42±0.76
CAs/CDAs ratio	0.289±0.007	0.343±0.040	0.342±0.055	0.304±0.033	0.372±0.014	0.391±0.046	0.349±0.017
Ratio of primary bile acids³⁾ (%)	12.30±0.56	11.95±2.39	9.28±1.64	7.24±0.39	9.80±1.14	11.61±2.79	10.52±1.58

Data are expressed as mean±SEM (n=5).

1) Different significantly from the control group.

(* p<0.05 vs. Control, 1-way ANOVA followed by Dunnett's multiple comparison test)

2) ND: not detected.

3) Primary bile acids: Total of CA, CDCA and βMCA.

比べて有意に増加したが、胆汁酸組成については有意な変化は認められなかった (Table 2).

Quercetin投与時 (実験2) には、糞中中性ステロイド排泄量及びその組成に有意な変化は認められなかった。胆汁酸排泄は対照群のラットと比較して排泄総量には有意な変化はなく、組成については quercetin 0.2 g/kg 投与ラットで MDCA が増加し 0.5 g/kg 投与ラットで DCA, IDCA 及び MDCA が増加し 12KLCA が減少したがコール酸系胆汁酸/ケノデオキシコール酸系胆汁酸比 (CA/CDCA 比) には有意な変化は認められなかった (Table 3).

Rutin投与時 (実験3) には、糞中ステロイド排泄総量には有意な変化は認められなかったが、Cp/Ch 比は 0.01, 0.5 及び 1.0 g/kg 投与ラットで対照群のラットに比べて有意に低かった。胆汁酸総排泄量は 0.01 g/kg 投与ラットでのみ対照群比べて有意に増加したが、胆汁酸組成については、0.1 及び 0.2g/kg 投与ラットで α -muricholic acid (α MCA) が減少した以外は、有意な変化は認められなかった (Table 4).

3. 血清 TBARS 値及びフラボノイド濃度 (実験2及び3, Table 5)

Quercetin投与ラットでは血清 TBARS 値は用量依存的に減少し (r^2 0.4619, $p < 0.001$), 投与量が 0.2 g/kg 以上で対照群に比べて有意に低い値を示した (実験2). 血清から検出された遊離型フラボノイドは quercetin 及び isorhamnetin の2種であったが、いずれも用量依存的に増加し (r^2 0.5963, $p < 0.001$ 及び r^2 0.6681, $p < 0.001$), 血清 TBARS 値と負の相関があった (r^2 0.4951, $p < 0.001$ 及び r^2 0.5318, $p < 0.001$).

Rutin投与ラットにおいても血清 TBARS 値は用量依存的に減少し (r^2 0.7774, $p < 0.001$), 投与量が 0.01 g/kg 以上で対照

群に比べて有意に低い値を示した (実験3). 血清から検出された遊離型フラボノイドは quercetin 及び isorhamnetin の2種であったが、いずれも用量依存的に増加し (r^2 0.1978, $p < 0.01$ 及び r^2 0.2255, $p < 0.01$), 血清 TBARS 値と負の相関があった (r^2 0.1185, $p < 0.05$ 及び r^2 0.1382, $p < 0.05$).

尚, hesperidin投与ラット (実験1) では、血清 TBARS 値及びフラボノイド濃度は調べていない。

4. Quercetin 或いは rutin 高用量投与ラットにおけるフラボノイド代謝の相違について (実験4及び5, Tables 6~8)

実験2~3において、quercetin投与ラットでは 0.1 g/kg 以上、quercetinの配糖体である rutin投与ラットでは 0.2 g/kg 以上の投与量で血清中に遊離型フラボノイドが検出されたため、これらの化合物を各 1.0 g/kg 投与し、両者について投与物の代謝を比較検討した。

10日間連続経口投与ラットでは、血清中に検出された遊離型フラボノイドは quercetin 及び isorhamnetin であり、rutinは検出されなかった (実験4, Table 6). Rutin投与ラットでは quercetin投与ラットに比べて総及び遊離型フラボノイド濃度、総フラボノイドに対する遊離型フラボノイド及び quercetinの割合が有意に高く ($p < 0.05-0.001$), isorhamnetinの割合が低かった ($p < 0.05$).

1回投与ラットでは、投与3日後においても血清より quercetin 及び isorhamnetin が検出された (実験5, Table 7). Rutin投与ラットの方が quercetin投与ラットに比べて総フラボノイド濃度、遊離型総フラボノイド及び isorhamnetin濃度が有意に高かった ($p < 0.01-0.05$) が、組成については有意な差は認められなかった。尿中で検出されたフラボノイドは quercetin, isorhamnetin 及び tamarixetin であった (実

Table 5 Correlation of Serum TBARS and Flavonoids (Experiments 2-3, Day 22)

Experiment 2	Control	Quercetin 0.01 g/kg	Quercetin 0.05 g/kg	Quercetin 0.1 g/kg	Quercetin 0.2 g/kg	Quercetin 0.5 g/kg	Quercetin 1.0 g/kg	Dose-response Significance (r^2)
Serum TBARS ²⁾ [generated MDA nmol/mL]	4.474±0.148	4.742±0.254	5.328±0.179* ¹⁾	4.375±0.358	2.701±0.184***	2.020±0.109***	2.214±0.205***	$p < 0.001$ (0.4619)
Serum free flavonoids [nmol/mL]								
Quercetin	ND ³⁾	ND	ND	0.419±0.171	0.407±0.166	0.903±0.052	1.110±0.093	$p < 0.001$ (0.5963)
Isorhamnetin	ND	0.166±0.055	0.119±0.073	0.594±0.157	0.527±0.135	1.062±0.055	1.326±0.077	$p < 0.001$ (0.6681)
Correlation of serum free flavonoids and TBARS								
Serum free quercetin vs. TBARS			$p < 0.001$ (r^2 0.4951)					
Serum free isorhamnetin vs. TBARS			$p < 0.001$ (r^2 0.5318)					
Experiment 3	Control	Rutin 0.01 g/kg	Rutin 0.05 g/kg	Rutin 0.1 g/kg	Rutin 0.2 g/kg	Rutin 0.5 g/kg	Rutin 1.0 g/kg	Dose-response Significance (r^2)
Serum TBARS [generated MDA nmol/mL]	3.749±0.255	3.082±0.083*	2.974±0.107**	2.753±0.181***	1.834±0.144***	1.535±0.099***	1.680±0.110***	$p < 0.001$ (0.7774)
Serum free flavonoids [nmol/mL]								
Quercetin	ND ³⁾	ND	ND	ND	0.208±0.093	0.830±0.164	10.23±3.35	$p < 0.01$ (0.1978)
Isorhamnetin	ND	ND	ND	ND	ND	0.407±0.176	3.225±0.905	$p < 0.01$ (0.2255)
Correlation of serum free flavonoids and TBARS								
Serum free quercetin vs. TBARS			$p < 0.05$ (r^2 0.1185)					
Serum free isorhamnetin vs. TBARS			$p < 0.05$ (r^2 0.1382)					

Data are expressed as mean±SEM (n=5).

1) Different significantly from the control group.

(* $p < 0.05$ vs. Control, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. Control, 1-way ANOVA followed by Dunnett's multiple comparison test)

2) TBARS: thiobarbituric acid reactive compounds, indicated as malondialdehyde generated.

3) ND, not detected (less than 0.05 nmol/mL).

験5, Table 7). 3日間における尿中へのフラボノイド排泄量は rutin 投与ラットの方が多傾向があったが、データのばらつきが大きかったため有意差は検出されなかった。投与後3日間に尿中へ排泄されたフラボノイドのうち

Table 6 Concentration and Composition of Serum Flavonoids (Experiment 4, Day 10)

	Quercetin 1.0 g/kg	Rutin 1.0 g/kg	Significance ¹⁾
Total flavonoids [nmol/mL]			
Quercetin	9.73±0.87	34.32±5.42	p<0.05
Isorhamnetin	31.57±2.76	69.67±2.12	p<0.001
Total	41.30±3.22	103.99±6.71	p<0.001
Free flavonoids [nmol/mL]			
Quercetin	0.56±0.14	6.37±1.37	p<0.05
Isorhamnetin	1.20±0.16	4.38±0.38	p<0.001
Total	1.76±0.27	10.75±1.71	p<0.01
Composition of flavonoids [%]			
Total quercetin	23.70±1.89	32.36±2.90	p<0.05
Total isorhamnetin	76.30±1.89	67.64±2.90	p<0.05
Aglycone ²⁾	4.25±0.56	10.16±1.09	p<0.01

Data are expressed as mean±SEM (n=5).

1) Significance was compared between quercetin-fed group and rutin-fed group by Aspin-Welch t test.

2) Sum of the percentage of free quercetin and isorhamnetin.

Table 7 Concentration and Composition of Serum and Urinary Flavonoids (Experiment 5, Days 0-3)

	Quercetin 1.0 g/kg	Rutin 1.0 g/kg	Significance ¹⁾
Serum flavonoids (day 3)			
Total flavonoids [nmol/mL]			
Quercetin	3.04±0.36	7.58±1.44	p<0.05
Isorhamnetin	8.77±1.11	20.30±4.02	N.S. ²⁾
Total	11.81±1.40	27.88±5.41	N.S.
Free flavonoids [nmol/mL]			
Quercetin	Not detected ³⁾	0.45±0.23	N.S.
Isorhamnetin	0.35±0.10	0.99±0.09	p<0.01
Total	0.35±0.10	1.44±0.28	p<0.05
Composition of serum flavonoids [%]			
Total quercetin	25.97±1.40	27.42±1.21	N.S.
Total isorhamnetin	74.02±1.40	72.58±1.21	N.S.
Aglycone	3.61±1.64	6.03±1.42	N.S.
Urinary flavonoids (days 0-3)			
Total flavonoids excreted [nmol/3 days]			
Quercetin	308.3±172.1	1012.7±587.6	N.S.
Isorhamnetin	189.1±106.5	666.5±349.7	N.S.
Tamarixetin	231.9±110.6	714.3±264.6	N.S.
Total	729.4±388.9	2393.5±1188.7	N.S.
Free flavonoids excreted [nmol/3 days]			
Quercetin	91.4±35.2	571.4±426.8	N.S.
Isorhamnetin	68.8±33.3	385.2±270.9	N.S.
Tamarixetin	82.3±29.8	426.6±201.5	N.S.
Total	242.5±96.3	1383.1±892.4	N.S.
Composition of urinary flavonoids [%]			
Total quercetin	40.84±6.63	37.46±3.00	N.S.
Total isorhamnetin	24.85±1.41	27.29±3.31	N.S.
Total tamarixetin	34.30±6.33	35.25±5.52	N.S.
Aglycone ⁴⁾	36.71±9.65	58.12±11.47	N.S.

Data are expressed as mean±SEM (n=5).

1) Different significantly from quercetin-fed group by Aspin-Welch t test.

2) Not significant (p>0.05 by Aspin-Welch t test).

3) Not detected (less than 0.1 nmol/mL).

4) Sum of the percentage of free quercetin, isorhamnetin and tamarixetin.

quercetin投与ラットでは94.1%が、rutin投与ラットでは85.6%が1日以内に排泄された (Table 8). 投与されたquercetin及びrutinの投与後3日間における尿中及び3日後の血清中でのフラボノイドとしての検出率は、quercetin投与ラットで各0.13%及び0.03%, rutin投与ラットで各0.89%及び0.13%であった.

[考察]

フラボノイドの血清・肝臓脂質及び糞中ステロイド排泄に及ぼす影響については、hesperidinが通常及び高コレステロール血症ラットで血漿総コレステロール, LDL-コレステロール, 総脂質及びトリグリセライドを減少させ, HDL-コレステロールを上昇させること¹²⁾, catechinがラットの血清及び肝臓中のコレステロール, トリグリセライドレベルを低下させ, 糞中ステロイド排泄を増加させること¹³⁾が報告されている. その他のフラボノイドの脂質代謝に対する影響については報告が少ない.

日本人一人あたりのquercetin及びrutinの1日摂取量はKimiraら¹⁴⁾によりそれぞれ8.3 mg/d, 1.5 mg/dと報告されている. Quercetin及びrutinのLD50はそれぞれ160 mg/kg (PO, マウス), 950 mg/kg (iv, マウス)である¹⁵⁾. Quercetin及びrutinの毒性について, quercetinに変異原性があるとする報告¹⁶⁾とないとする報告¹⁷⁾の両方があり, rutinには変異

原性はないとされている¹⁶⁾. 発癌性についても, quercetinに発癌性があるとする報告¹⁸⁾とないとする報告¹⁹⁾の両方がある. 一方で, rutin, quercetinに抗癌性があるという報告²⁰⁾がある. 一方, hesperidinの1日摂取量及び毒性に関する報告は見あたらない.

実験1~3の結果からみてhesperidin, quercetin或いはrutinを日本人の1日摂取量の5000倍以上に相当する1.0 g/kgの用量で22日間連続経口投与しても体重増加抑制等の有害な作用は認められなかった. また, コレステロールを負荷しない通常食では, hesperidin, quercetin或いはrutinはラットのコレステロール・胆汁酸代謝には影響しないことが明らかになった. また, 血清フラボノイド濃度とTBARS値の間に負の相関が認められたことより, 血清中のフラボノイドが抗酸化作用を顕している可能性が考えられる.

Quercetin或いはrutin各1.0 g/kgを10日間連続 (実験4) 或いは1回投与 (実験5) した場合, rutin投与ラットの方が血清中の総及び遊離型フラボノイド濃度が高く, rutinの遊離型であるquercetinの割合がquercetinの代謝物であるisorhamnetinの割合より高い傾向が認められた. Rutinの分子量(610.53)はquercetinの分子量(302.24)の約2倍であり, 投与した量は遊離型のquercetinとして換算すると約半分となる. 予想に反して血清中のフラボノイド濃度が2倍以上でありまたフラボノイド組成が異なることより, rutinと

Table 8 Percentage of Urinary Excretion and Serum Distribution of Flavonoids (Experiment 5, day 0-3)

	Quercetin 1.0 g/kg	Rutin 1.0 g/kg	Significance
Percentage of urinary excretion [%] (molar ratio)			
Day 0-1			
Quercetin	0.0524±0.0333	0.3261±0.1777	N.S. ¹⁾
Isorhamnetin	0.0336±0.0201	0.2092±0.1016	N.S.
Tamarixetin	0.0408±0.0212	0.2320±0.0774	N.S.
Total	0.1269±0.0745	0.7637±0.3515	N.S.
Day 1-2			
Quercetin	0.0064±0.0016	0.0456±0.0345	N.S.
Isorhamnetin	0.0028±0.0009	0.0336±0.0240	N.S.
Tamarixetin	0.0036±0.0009	0.0307±0.0194	N.S.
Total	0.0128±0.0030	0.1106±0.0776	N.S.
Day 2-3			
Quercetin	0.0005±0.0002	0.0044±0.0020	N.S.
Isorhamnetin	0.0000±0.0000	0.0061±0.0044	N.S.
Tamarixetin	0.0000±0.0000	0.0043±0.0026	N.S.
Total	0.0006±0.0002	0.0148±0.0089	N.S.
Days 0-3			
Quercetin	0.0580±0.0339	0.3761±0.2134	N.S.
Isorhamnetin	0.0355±0.0209	0.2490±0.1281	N.S.
Tamarixetin	0.0436±0.0219	0.2670±0.0968	N.S.
Total	0.1349±0.0769	0.8921±0.4329	N.S.
Percentage of distribution in blood ²⁾ [%] (molar ratio)			
Quercetin	0.0072±0.0008	0.0361±0.0069	p<0.05
Isorhamnetin	0.0207±0.0026	0.0965±0.0189	p<0.05
Total	0.0279±0.0033	0.1326±0.0572	p<0.05

Data are expressed as mean±SEM (n=5).

1) Not significant (p>0.05 by Aspin-Welch t test).

2) Percentage of distribution was calculated by assuming that all flavonoids in blood distributed in serum and that blood weight accounted for 7% of total body weight.

quercetinとでは代謝経路に幾分差のあることが示唆された。また、1回投与実験(実験5)において、投与後3日間で血清及び尿中でフラボノイドとして回収されたのは投与量の1%以下であることについては、1) 腸管より吸収されずにそのまま糞中へ排泄された、2) 腸管より吸収されたフラボノイドが肝臓で分解を受けフラボノイド以外の物質となり速やかに代謝され呼気或いは糞中へ排泄された、或いは血中でHPLCで検出されない物質として存在している、等の可能性が考えられる。

フラボノイドをはじめとするポリフェノール類が生体への機能性の側面から脚光を浴び研究が進んできたのは比較的近年のことであり、その種類のや代謝、生理作用等、未解明な部分が少なくなく、今後の研究が望まれる。

文献(発表論文を含む)

- 1) Bravo, L.: *Nutr. Rev.*, **56**, 317-333 (1998)
- 2) Deshpande, S.S., Cheryan, M., Salunke, D.K.: *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **24**, 401-449 (1986)
- 3) Shahidi, F. ed. (1997): "Natural Antioxidants. Chemistry, Health Effects, and Applications", AOCS Press, Champaign, Illinois, U.S.A.
- 4) Rice-Evans, C.A., Packer, L. eds. (1998): "Flavonoids in Health and Diseases", Marcel Dekker, Inc., New York, U.S.A.
- 5) Hertog, M.G.L., Feskens, E.J.M., Hollman, P.C.H., Katan, M.B., Kromhout, D.: *Lancet*, **342**, 1007-1011 (1993)
- 6) Waterman, P.G.: *Prog. Clin. Biol. Res.*, **280**, 77-91 (1988)
- 7) Diplock, A.T., Charleux, J.-L., Crozier-Willi, G., Kok, F.J., Rice-Evans, C., Roberfroid, M., Stahl, W., Vina-Ribes, J.: *Brit. J. Nutr.*, **80**, S77-S112 (1998)
- 8) Nakamura, Y., Ishimitsu, S., Tonogai, Y.: *J. Health Sci.*, **46**, 229-240 (2000)
- 9) Grundy, S.M., Ahrens, E.H.Jr., Mietinen, T.A.: *J. Lipid Res.*, **6**, 397-410 (1965)
- 10) Setchell, K.D.R., Lawson, A.M., Tanida, N., Sjøvall, J.: *J. Lipid Res.*, **24**, 1085-1100 (1983)
- 11) Nakamura, Y., Tsumura, Y., Tonogai, Y., Shibata, T.: *J. Nutr.*, **129**, 1214-1222 (1999)
- 12) Monforte, M.T., Trovato, A., Kirjavainen, S., Forestieri, A.M., Galati, E.M.: *Il Farmaco*, **50**, 595-599 (1995)
- 13) Valsa, A.K., Ushakumari, B., Vijayalakshmi, N.P.: *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **19**, 175-182 (1995)
- 14) Kimura, M., Arai, Y., Shimoi, K., Watanabe, S.: *J. Epidemiol.*, **8**, 168-175 (1998)
- 15) Budavari, ed. (1996): "The Merck Index. Twelfth Edition", Merck Research Laboratories, Whitehouse Station, N.J., U.S.A.
- 16) Stoewsand, G.S., Anderson, J.L., Boyd, J.N., Hrazdina, G., Babish, J.G., Walsh, K.M., Losco, P.: *J. Toxicol. Environ. Health*, **14**, 105-114 (1984)
- 17) Aeschbacher, H.-U., Meier, H., Rush, E.: *Nutr. Cancer*, **4**, 90-98 (1982)
- 18) Pamukcu, A.M., Yalciner, S., Hatcher, J.F., Bryan, G.T.: *Cancer Res.*, **40**, 3468-3472 (1980)
- 19) Saito, D., Shirai, A., Matsushima, T., Sugimura, T., Hirono, I.: *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, **1**, 213-221 (1980)
- 20) Deschner, E.E., Ruperto, J., Wong, G., Newmark, H.L.: *Carcinogenesis*, **12**, 1193-1196 (1991)

3. 生体側から見た生理活性物質の構造と関連遺伝子の構造解析

(1) 塩素化エチレン化合物によるラット肝シトクロム P450の変動: その構造活性相関の解明

環境衛生化学部 埴岡伸光, 神野透人,
西村哲治, 安藤正典

[目的]

塩素化エチレン化合物は、各種産業で有機溶剤や樹脂原料として広く使用されている。しかし、その廃棄や漏出のため微量であるが、かなり広範囲の地下水や大気から検出され、生体に対する影響が懸念されている¹⁾。化学物質の中には生体内での酵素による代謝がなければ毒化作用を示すことはない例も多数みられ、この毒化現象(代謝的活性化)のなかでシトクロムP450(P450)は、最も重要な役割を担っていることはよく知られている。塩素化エチレン化合物による毒性も代謝的活性化による可能性も考えられ、その毒性発現にはP450が鍵を握っているものと思われる。しかし、塩素化エチレン化合物の代謝および毒性に対して、どのP450分子種がどの程度の寄与があるかという点はほとんど明らかにされていない。本研究は、塩素化エチレン化合物によるP450変動の構造活性相関を解明することを目的として、異物代謝に関与するP450分子種に対するトリクロロエチレン(TCE)、1,1-ジクロロエチレン(1,1-DCE)、cis-1,2-ジクロロエチレン(cis-1,2-DCE)およびtrans-1,2-ジクロロエチレン(trans-1,2-DCE)の影響について検討した。

[方法]

1. 動物および投与

8週齢のWistar系雄性ラットを用いた。1群4匹ずつとし、対照群はコーン油のみを、また投与群はコーン油に溶解したTCE(400, 800および1200 mg/kg)、1,1-DCE(200, 400および800 mg/kg)、cis-1,2-DCE(800 mg/kg)あるいはtrans-1,2-DCE(800 mg/kg)を1日1回4日間腹腔内投与した。いずれの群も最終投与24時間後に屠殺し、常法に従い肝ミクロソームを調製した。

2. P450依存性酵素活性の測定

7-エトキシレゾルフィンO-デエチラーゼ(EROD)、7-メトキシレゾルフィンO-デメチラーゼ(MROD)および7-ベ

ンジルオキシレゾルフィン *O*-デベンジラーゼ (BROD) 活性は、生成したレゾルフィン量を蛍光で測定することによって行った²⁾。7-エトキシマリリン *O*-デエチラーゼ (ECOD) 活性は、生成した7-ヒドロキシマリリンを定量することにより行った³⁾。また、ベンツフェタミン *N*-デメチラーゼ (BZND)、アミノピリン *N*-デメチラーゼ (APND) およびエリスロマイシン *N*-デメチラーゼ (EMND) 活性は、Nashの方法⁴⁾に従い、生成したホルムアルデヒドを測定して求めた。4-ニトロフェノール2-ヒドロキシラーゼ (4NP2H)、クロルゾキサゾン6-ヒドロキシラーゼ (CZ6H)、テストステロン2 α -ヒドロキシラーゼ (TS2AH)、テストステロン6 β -ヒドロキシラーゼ (TS6BH)、テストステロン7 α -ヒドロキシラーゼ (TS7AH) およびラウリン酸 ω -ヒドロキシラーゼ (LAOH) 活性は、それぞれ生成した4-ニトロカテコール、6-ヒドロキシクロルゾキサゾン、2 α -ヒドロキシテストステロン、6 β -ヒドロキシテストステロン、7 α -ヒドロキシテストステロンおよび ω -ヒドロキシラウリン酸を高速液体クロマトグラフィーで定量して行った⁵⁻⁸⁾。いずれのP450依存性酵素活性の測定もラット肝ミクロソームにおける最適反応条件下で行った⁹⁻¹¹⁾。

3. イムノブロッティング

それぞれの肝ミクロソームを7.5% SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動に付した¹²⁾。さらに、泳動されたタンパクをニトロセルロース膜に転写し、抗ラットCYP1A1/2, CYP2B1/2, CYP2C11/6, CYP2E1, CYP3A2/1 およびCYP4A1/2/3抗体をプローブに用いてそれらと認識するタンパクを4-クロロ-1-ナフトールで染色した¹³⁾。バンド強度は、デンシトメーターで測定した。

[結果および考察]

1. TCEの影響

LAOH活性は、いずれの投与量でも有意に増加し、その誘導率は、対照群の2.9~3.0倍であった。また、4NP2HおよびTS6BH活性もTCE投与により用量依存的に増加した(1.2~1.8倍)。しかし、TS2AH活性は、1200 mg/kg TCEで有意に低下した。一方、他のP450依存性酵素活性は、

800あるいは1200 mg/kgのTCE投与により有意に増加したが、それらの誘導率は、LAOH活性のような顕著なものではなかった (Table 1)。また、イムノブロッティングからもTCE投与によるCYP4A1/2/3タンパクの誘導が確認され (Table 2)、この誘導は、TCE代謝物であるトリクロロ酢酸に起因しているものと考えられた¹⁴⁾。

Table 2. P450 protein levels in liver microsomes from control and TCE-treated rats

	TCE (mg/kg)			
	0	400	800	1200
CYP1A1/2	1.00 ± 0.14	0.97 ± 0.19	1.09 ± 0.18	1.07 ± 0.12
CYP2B1/2	1.00 ± 0.33	1.07 ± 0.28	1.91 ± 0.53*	2.49 ± 0.36†
CYP2C11/6	1.00 ± 0.10	1.09 ± 0.04	0.90 ± 0.07	0.65 ± 0.04†
CYP2E1	1.00 ± 0.14	1.03 ± 0.10	1.20 ± 0.05*	1.32 ± 0.13*
CYP3A2/1	1.00 ± 0.17	1.02 ± 0.16	1.28 ± 0.07*	1.31 ± 0.13*
CYP4A1/2/3	1.00 ± 0.10	2.14 ± 0.43†	2.07 ± 0.42†	2.01 ± 0.16†

The immunoblotting results were normalized to those of control rats. Each value represents the mean ± SD of four animals.

*Significantly different from the control ($p < 0.05$).

†Significantly different from the control ($p < 0.01$).

2. 1,1-DCE, *cis*-1,2-DCE および *trans*-1,2-DCE の影響

1,1-DCEは、CYP2C11依存性酵素のTS2AH活性を顕著に減少させ、800 mg/kg群におけるその活性は、対照群の10%以下であった (Table 3)。また、CYP2C11/6タンパクも400および800 mg/kg 1,1-DCEによりそれぞれ36および83%減少した (Table 4)。*cis*-1,2-DCEおよび*trans*-1,2-DCEも

Table 3. P450-dependent monooxygenase activities in liver microsomes from control and 1,1-DCE-treated rats

	1,1-DCE (mg/kg)			
	0	200	400	800
EROD ^{a)}	36.6 ± 4.2	33.2 ± 2.4	36.8 ± 6.6	32.3 ± 6.7
MROD ^{a)}	23.8 ± 2.7	18.1 ± 1.6*	18.2 ± 3.3*	14.3 ± 4.0†
ECOD ^{b)}	0.33 ± 0.02	0.31 ± 0.02	0.30 ± 0.03	0.13 ± 0.01†
BROD ^{b)}	15.6 ± 3.5	13.1 ± 1.8	18.6 ± 2.0	14.3 ± 1.4
BZND ^{b)}	4.27 ± 0.60	4.44 ± 0.16	3.66 ± 0.42	1.49 ± 0.27†
APND ^{b)}	9.18 ± 0.63	9.06 ± 0.32	9.67 ± 1.20	7.66 ± 1.11
CZ6H ^{b)}	1.05 ± 0.10	1.01 ± 0.05	0.92 ± 0.07	0.37 ± 0.05†
EMND ^{b)}	7.67 ± 0.54	7.85 ± 0.39	8.43 ± 1.06	6.42 ± 0.47*
LAOH ^{b)}	0.59 ± 0.08	0.51 ± 0.09	0.68 ± 0.18	0.48 ± 0.13
TS2AH ^{b)}	0.86 ± 0.15	0.91 ± 0.10	0.59 ± 0.08*	0.08 ± 0.02†
TS6BH ^{b)}	0.82 ± 0.06	0.67 ± 0.11	0.72 ± 0.15	0.25 ± 0.09†
TS7AH ^{b)}	0.31 ± 0.04	0.34 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.34 ± 0.04

Each value represents the mean ± SD of four animals.

^{a)}pmol/min/mg protein.

^{b)}nmol/min/mg protein.

*Significantly different from the control ($p < 0.05$).

†Significantly different from the control ($p < 0.01$).

Table 4. P450 protein levels in liver microsomes from control and 1-DCE-treated rats

	1,1-DCE (mg/kg)			
	0	200	400	800
CYP1A1/2	1.00 ± 0.13	0.61 ± 0.05*	0.59 ± 0.08*	0.34 ± 0.09*
CYP2B1/2	1.00 ± 0.27	0.94 ± 0.23	0.89 ± 0.22	0.40 ± 0.17*
CYP2C11/6	1.00 ± 0.12	0.97 ± 0.08	0.64 ± 0.09*	0.17 ± 0.03*
CYP2E1	1.00 ± 0.19	0.92 ± 0.14	0.91 ± 0.12	0.40 ± 0.10*
CYP3A2/1	1.00 ± 0.15	0.81 ± 0.10	0.86 ± 0.16	0.26 ± 0.04*
CYP4A1/2/3	1.00 ± 0.18	0.83 ± 0.12	1.17 ± 0.35	0.96 ± 0.12

The immunoblotting results were normalized to those of control rats. Each value represents the mean ± SD of four animals.

*Significantly different from the control ($p < 0.01$).

TS2AH活性およびCYP2C11/6タンパク量を有意に減少させたが、その減少率は1,1-DCEのような顕著なものではなかった (Table 5およびTable 6)。TS6BHおよびCYP3A2/1タンパク量は、1,1-DCEおよび*cis*-1,2-DCE投与で有意に減少した。*cis*-1,2-DCEおよび*trans*-1,2-DCEは、CYP1A2および

Table 1. P450-dependent monooxygenase activities in liver microsomes from control and TCE-treated rats

	TCE (mg/kg)			
	0	400	800	1200
EROD ^{a)}	43.0 ± 8.1	45.7 ± 2.7	57.3 ± 9.5	64.4 ± 3.4*
MROD ^{a)}	45.4 ± 7.2	44.8 ± 6.0	50.4 ± 11.9	49.6 ± 11.1
ECOD ^{b)}	0.34 ± 0.03	0.35 ± 0.02	0.45 ± 0.04†	0.48 ± 0.06*
BROD ^{b)}	18.8 ± 3.2	23.1 ± 4.6	29.8 ± 6.9*	27.9 ± 6.1*
BZND ^{b)}	3.82 ± 0.50	4.29 ± 0.25	4.71 ± 0.22*	4.50 ± 0.20*
APND ^{b)}	4.02 ± 0.51	4.27 ± 0.15	4.80 ± 0.43	4.91 ± 0.67
4NP2H ^{b)}	0.32 ± 0.03	0.39 ± 0.05*	0.47 ± 0.05†	0.55 ± 0.03†
EMND ^{b)}	7.26 ± 1.10	8.13 ± 0.70	9.41 ± 1.15*	8.40 ± 0.31
LAOH ^{b)}	0.44 ± 0.05	1.34 ± 0.43†	1.28 ± 0.32†	1.31 ± 0.06†
TS2AH ^{b)}	0.60 ± 0.17	0.68 ± 0.12	0.56 ± 0.08	0.35 ± 0.08*
TS6BH ^{b)}	0.88 ± 0.16	1.08 ± 0.26	1.27 ± 0.10†	1.56 ± 0.33†
TS7AH ^{b)}	0.33 ± 0.08	0.34 ± 0.04	0.31 ± 0.05	0.32 ± 0.01

Each value represents the mean ± SD of four animals.

^{a)}pmol/min/mg protein.

^{b)}nmol/min/mg protein.

*Significantly different from the control ($p < 0.05$).

†Significantly different from the control ($p < 0.01$).

CYP2B2の酵素活性およびタンパク量を誘導し、ジクロロエチレンによる肝P450変動パターンは、異性体により異なることが示唆された。

Table 5. P450-dependent monooxygenase activities in liver microsomes from control, *cis*-1,2-DCE- and *trans*-1,2-DCE-treated rats

	Control	<i>cis</i> -1,2-DCE	<i>trans</i> -1,2-DCE
EROD ^{a)}	53.6 ± 4.9	51.7 ± 1.8	76.1 ± 3.5†
MROD ^{b)}	37.8 ± 3.7	36.3 ± 4.7	71.0 ± 7.3†
ECOD ^{b)}	0.42 ± 0.03	0.30 ± 0.08*	0.48 ± 0.06
BROD ^{b)}	21.6 ± 2.3	15.6 ± 0.8†	23.6 ± 3.8
BZND ^{b)}	4.77 ± 0.32	3.43 ± 1.10	4.64 ± 0.55
APND ^{b)}	11.1 ± 1.1	10.4 ± 1.7	12.6 ± 0.9
CZ6H ^{b)}	1.36 ± 0.06	0.90 ± 0.29*	1.09 ± 0.17
EMND ^{b)}	8.29 ± 0.90	6.81 ± 1.33	8.72 ± 0.64
LAOH ^{b)}	0.61 ± 0.13	0.53 ± 0.07	0.56 ± 0.04
TS2AH ^{b)}	0.75 ± 0.10	0.40 ± 0.12†	0.47 ± 0.08†
TS6BH ^{b)}	0.66 ± 0.06	0.27 ± 0.12†	0.74 ± 0.03
TS7AH ^{b)}	0.33 ± 0.02	0.24 ± 0.03†	0.33 ± 0.03

Each value represents the mean ± SD of four animals.

^{a)}pmol/min/mg protein.

^{b)}nmol/min/mg protein.

*Significantly different from the control ($p < 0.05$).

†Significantly different from the control ($p < 0.01$).

Table 6. P450 protein levels in liver microsomes from control, *cis*-1,2-DCE- and *trans*-1,2-DCE-treated rats

	Control	<i>cis</i> -1,2-DCE	<i>trans</i> -1,2-DCE
CYP1A1/2	1.00 ± 0.08	0.78 ± 0.13*	1.38 ± 0.10†
CYP2B1/2	1.00 ± 0.08	0.58 ± 0.09†	1.29 ± 0.12†
CYP2C11/6	1.00 ± 0.16	0.60 ± 0.13†	0.66 ± 0.08†
CYP2E1	1.00 ± 0.06	0.82 ± 0.14	0.89 ± 0.08
CYP3A2/1	1.00 ± 0.14	0.58 ± 0.10†	1.09 ± 0.10
CYP4A1/2/3	1.00 ± 0.13	0.90 ± 0.09	0.97 ± 0.12

The immunoblotting results were normalized to those of control rats. Each value represents the mean ± SD of four animals.

*Significantly different from the control ($p < 0.05$).

†Significantly different from the control ($p < 0.01$).

3. 塩素化エチレン化合物によるP450変動の構造活性相関

本研究で用いたいずれの塩素化エチレン化合物も概ね肝臓の常在性P450分子種に何らかの影響を与えた。すでに我々は、テトラクロロエチレン(塩素数4)は、*in vivo*および*in vitro*系でラット肝のCYP2BサブファミリーP450分子種に強い影響を与えることを明らかにしている^{15,16)}。このように同じ塩素化エチレン化合物でも肝P450に対する影響(誘導・抑制および強弱)は、極めて多様であり、それらの変動が各塩素化エチレン化合物の毒性発現に何らかの形で関わっていることが推察された。

[文献]

- 1) World Health Organization: Guidelines for Drinking-Water Quality (Geneva: WHO) (1996)
- 2) Pohl, R.J. and Fouts, J.R.: *Anal. Biochem.*, **107**, 150-155 (1980)
- 3) Aitio, A.: *Anal. Biochem.*, **85**, 488-491 (1978)
- 4) Nash, T.: *Biochem. J.*, **107**, 416-421 (1953)
- 5) Tassaneeyakul, W., Veronese, M.E., Birkett, D.J. and Miners, J.O.: *J. Chromatogr.*, **616**, 73-78 (1993)
- 6) Lucas, D., Menez, J.F. and Berthou, F.: *Methods Enzymol.*,

272, 115-123 (1996)

- 7) Yoshihara, S., Nagata, K., Wada, I., Yoshimura, H. and Masuda, Y.: *J. Pharmacobio-Dyn.*, **5**, 994-1004 (1982)
- 8) Aoyama, T. and Sato, R.: *Anal. Biochem.*, **170**, 73-82 (1988)
- 9) Hanioka, N., Nakano, K., Jinno, H., Hamamura, M., Takahashi, A., Yoda, R., Nishimura, T. and Ando, M.: *Chemosphere*, **30**, 1297-1309 (1995)
- 10) Hanioka, N., Omae, E., Nishimura, T., Jinno, H., Onodera, S., Yoda, R. and Ando, M.: *Chemosphere*, **33**, 265-276 (1996)
- 11) Hanioka, N., Jinno, H., Nishimura, T. and Ando, M.: *Chemosphere*, **34**, 719-730 (1997)
- 12) Laemmli, U.K.: *Nature (London)*, **227**, 680-685 (1970)
- 13) Towbin, H., Staehelin, T. and Gordon, J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 4350-4354 (1979)
- 14) Zanelli, U., Puccini, P., Acerbi, D., Ventura, P. and Gervasi, P.G.: *Arch. Toxicol.*, **70**, 145-149 (1996)
- 15) Hanioka, N., Jinno, H., Toyo'oka, T., Nishimura, T. and Ando, M.: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **28**, 273-280 (1995)
- 16) Hanioka, N., Jinno, H., Takahashi, A., Nakano, K., Yoda, R., Nishimura, T. and Ando, M.: *Xenobiotica*, **25**, 151-165 (1995)

[発表論文]

- 1) Hanioka, N., Omae, E., Yoda, R., Jinno, H., Nishimura, T. and Ando, M.: Effect of trichloroethylene on cytochrome P450 enzymes in the rat liver. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **58**, 628-635 (1997)
- 2) Hanioka, N., Jinno, H., Nishimura, T. and Ando, M.: Changes in cytochrome P450 enzymes by 1,1-dichloroethylene in rat liver and kidney. *Arch. Toxicol.*, **72**, 9-16 (1997)
- 3) Hanioka, N., Jinno, H., Nishimura, T. and Ando, M.: Changes in hepatic cytochrome P450 enzymes by *cis*- and *trans*-1,2-dichloroethylene in rat. *Xenobiotica*, **28**, 41-51 (1997)

(2) 発癌プロモーターの生化学的作用と発癌プロモーション活性との関連

衛生微生物部 酒井綾子

[目的]

本研究は、化学物質の発癌プロモーション作用と3次元構造相関を解明するための基礎的な知見を得るため、発癌プロモーターが生体に作用して発癌の促進を起こす過程に介在する事象を遺伝子発現変化を解析することによって明らかにすることを目的としている。

発癌は、多段階的な現象であって、イニシエーション、プロモーション、プログレッション等の過程に分けられる。イニシエーションは、遺伝子の損傷に伴って遺伝子に不可逆的な変化が起きる過程であり、これについては多くの優れた研究がある。しかし、一旦体細胞にもたらされたイニ

シエーションを除くことはできない。一方、プロモーション過程は、イニシエーションを受けた細胞がある因子によって長期にわたって刺激された結果、自律的な腫瘍細胞(または細胞集団)に変わる過程であって、ある程度まで可逆的である。プロモーション過程を抑制・制御することができれば、イニシエーションがあっても、最終的な癌の発生を抑えることが出来ると考えられる。しかしながら、イニシエーション過程と異なり、プロモーション過程の分子レベルでの解明は遅れている。

発癌プロモーターは、多様な遺伝子の発現を誘導することが知られているが、それらの遺伝子群のどれが発癌の促進に関与しているかは、明らかにされていない。種々の発癌プロモーターに共通した発現変化を示す遺伝子を見出すことが出来れば、発癌の促進の要となる遺伝子である可能性が高く、プロモーターの作用機序の解明や簡便なスクリーニング法の開発に役に立つと考えられる。BALB/3T3細胞を用いる *in vitro* 2段階形質転換実験系は、実験動物における2(多)段階発癌のモデルとしてプロモーターの検索や発癌過程の解析に用いられている。著者らの実験でも動物を用いた結果とよい相関が認められる。そこで、2段階形質転換試験を2段階発癌モデルとして用い、遺伝子発現変化を解析することを計画した。遺伝子発現の可視化の方法としては、蛍光mRNA・ディファレンシャル・ディスプレイ(DD)法を用いた。

はじめに、種々の化学物質について2段階形質転換試験を実施して形質転換プロモーション作用を調べた。その結果、TPA、オカダ酸、バナジン酸塩が強いプロモーション活性を示したので、この3物質に共通した発現変化を示す遺伝子を検索した。第一次を終えた段階で2つの遺伝子を見出している。

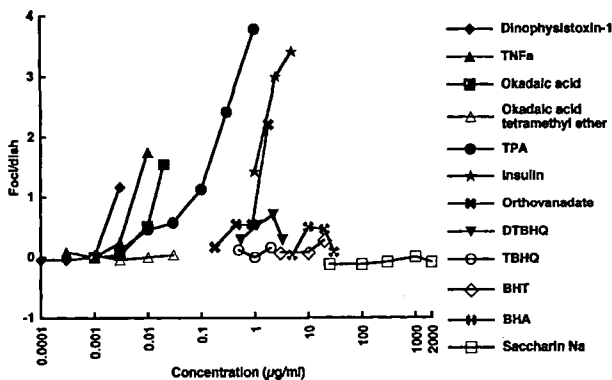


Fig.1 Promoting activity of tumor promoters and related substances in BALB/3T3 cell transformation. Open symbols designate that those substances were negative for promoting activity in the two-stage transformation assay. DTBHQ, 2, 5-di(*tert*-butyl)-1, 4-hydroquinone; TBHQ, 2-*tert*-butyl-1, 4-hydroquinone; BHT, 3, 5-di(*tert*-butyl)-4-hydroquinone; BHA, 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole.

[方法]

1. 2段階形質転換試験

BALB/3T3細胞を10⁴個/dishの密度で播種し、24時間後閾値をわずかに越える濃度の3-メチルコラントレン(MCA, 0.2 µg/ml)を加えて3日間イニシエーション処理を行った。通常培地にかえて3日間培養した後、被験物質を加えた培地で3または4日に1度の培地交換を行いながら2週間プロモーション処理を行った。通常培地でさらに3週間培養し、形質転換フォーカスを計数した。

2. 遺伝子解析

細胞の暴露とRNAの単離 細胞を10⁴個/dishの密度で播種し、途中1回の培地交換を行って1週間培養した。培地にTPA (0.2 µg/ml), オカダ酸 (0.015 µg/ml, 2回目以降は, 0.012 µg/ml) またはオルトバナジン酸ナトリウム (1.8 µg/ml) を加えて2週間プロモーション処理を行った。この間, 0, 4, 7, 11日目に培地交換を行った。この条件は, 形質転換試験におけるプロモーション処理の条件と同一である。プロモーション処理開始後, 0, 24時間後, 3, 7, 8, 14日目に総RNAをTRIzol (ライフテックオリエンタル) 試薬を用いて抽出し, さらにISOGEN試薬(和光)で精製した。

mRNA・ディファレンシャル・ディスプレイ 総RNA 2.5 µgとFITCラベルしたGT₁₅VA, GT₁₅VC, GT₁₅VGまたはGT₁₅VT 50 pmol (Vは, A, CまたはG) とから逆転写酵素反応によってfirst cDNA鎖を調製した。このfirst cDNAの1/50量 (20 µl) に任意の5'側プライマー (10mer) 10 pmolとfirst cDNA調製に用いたプライマー5 pmolを加えてlow stringencyでPCRを行った。PCR産物をポリアクリルアミドゲル電気泳動で分離させ, そのままあるいはSYBR Green Iで染色後, 蛍光イメージアナライザーでスキャンして可視化した。対照と比較して, 作用させた3つのプロモーターに共通した発現変化を示すmRNAのcDNA断片を含むバンドを切り出し, PCRによって再増幅した。

クローニングと塩基配列の決定 再増幅したcDNA断片をpSTBlue-1 Vector (Novagen) のEcoRVサイトにクローニングしてABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer (PE)を用いて塩基配列を決定した。

[結果及び考察]

1. 化学物質のBALB/3T3細胞2段階形質転換試験におけるプロモーション作用

今まで試験した物質のうち主だったものの形質転換促進作用をまとめてFig.1に示した。イニシエーターとしてMCAを用いたときの結果である。グラフには, 参考のために内因性の物質も含めている。

強力な発癌プロモーターであるTPA, オカダ酸, ディノフィシトキシシン-1は, 強力な形質転換のプロモーション作用を示した。ディノフィシトキシシン-1は, オカダ

酸タイプの発癌プロモーターの1つである。オカダ酸テトラメチルエーテルは、マウス皮膚でプロモーション活性を示さないオカダ酸の誘導体であるが、形質転換のプロモーション作用も陰性であった。フェノール系抗酸化剤にプロモーション活性を示すものがあったが、TPAやオカダ酸などの典型的な発癌プロモーターに比べるとプロモーション活性を示す濃度域並びに誘発されるフォーカス数の両方の点で活性は弱かった。

TPAとオカダ酸とは、それぞれプロテインキナーゼC活性化作用とプロテインセリン/スレオニンホスファターゼ阻害作用を有し、いずれもタンパク質のセリン/スレオニン残基での燐酸化を亢進する。また、多くの癌遺伝子産物にチロシンキナーゼ活性があることが知られている。これらのことにヒントを得て、タンパク質のチロシン残基での燐酸化を亢進する物質として、プロテインチロシンホスファターゼ阻害剤であるオルトバナジン酸塩の形質転換プロモーション作用を試験することにした。その結果、オルトバナジン酸塩も強いプロモーション作用を示した。タンパク質の燐酸化と脱燐酸化は、細胞周期や増殖、分化の制御にかかわる細胞内情報伝達系で重要な役割を果たしている。従って、形質転換プロモーション作用の試験で得られた結果は、情報伝達ネットワークに引き起こされた変化の中に癌の進展に導くものがある可能性を示唆していると考えられた。

2段階形質転換試験において、TPAとオカダ酸、オルトバナジン酸塩が強力なプロモーション作用を示したので、この3つのプロモーターに共通した発現変化を示す遺伝子を検索することにした。3つのプロモーターのプロモーション作用がほぼ均しくなる濃度の発癌プロモーターに細胞を暴露し、培養の条件も形質転換試験と同一にして遺伝子発現の状態を比較した。TPAとオカダ酸、オルトバナジン酸塩の濃度は、それぞれ、200, 12-15, 1800 ng/mlとした。

2. mRNA・ディファレンシャル・ディスプレイ法を用いた発現遺伝子の解析

50組のプライマーを用いてDD法を実施した結果、約10のmRNAにプロモーター共通の発現変化が認められた。mRNAの発現変化の再現性、発現の差の顕著さなどを考慮して、2つのcDNA断片G09とC05を分離した。G09は、プロモーターを作用させた細胞に共通して発現の増加が認められるもので、DD法における断片の大きさは、約540 bpであった。C05は、プロモーターを作用させた細胞に共通して発現の低下が認められるもので、DD法における断片の大きさは、約300 bpであった。G09とC05の対照との発現差は、それぞれ、24時間目と7日目にもっとも顕著であった。このときのDD法におけるバンドの蛍光イメージ

をFig. 2に示した。

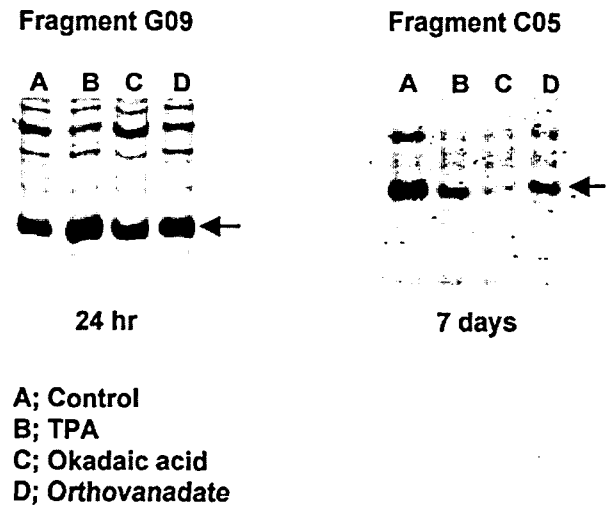


Fig.2 Fluorescent differential display of mRNA from BALB/3T3 cells treated by tumor promoters. Primers: G09, FGT₁₅VG and GGGTAACGCC; C05, FGT₁₅VG and AGGGGTCTTG.

G09とC05をpSTBlue-1 Vectorにクローニングして塩基配列を決定した。G09は、核タンパク質NP95のcDNA (全長3488 bp)の2198-2708と完全に一致した。NP95は、増殖に関連するネズミの核タンパク質として見いだされ、ネズミ lymphoma 細胞株では恒常的に高発現していることが報告されている。C05は、3種のプロモーター共通に発現の低下が認められるもので、297 bpであった。GenBank + EMBL + DDBJ + PDBの塩基配列データベースをEST Divisionsも含めてBLAST検索したが、ホモロジーのあるシーケンスは見つからない。3種のプロモーターに共通した発現変化を示す複数の遺伝子が見いだされたことは、3種の化学物質のプロモーター作用に共通の機序が存在する可能性を示唆している。

発表論文

- 1) Sakai, A., Miyata, N. and Takahashi, A.: Promoting activity of 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole (BHA) in BALB/3T3 cell transformation. *Cancer Letters*, **115**, 213-220 (1997).
- 2) 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).
- 3) Suganuma, M., Okabe, S., Marino, M.W., Sakai, A., Sueoka, E. and Fujiki, H.: Essential role of tumor necrosis factor α (TNF- α) in tumor promotion as revealed by TNF- α -deficient mice. *Cancer Res.*, **59**, 4516-4518 (1999).

総務部

部長 長田 守

1. 組織

平成九年七月、医薬品等の承認審査体制の強化及び効率化を図るため、当所に医薬品医療機器審査センターが設置されたことに伴い、3年計画でその体制整備を行ってきている。

平成十一年度は、審査第四部の設置が新たに認められ、より一層の審査体制の充実強化が図られた。

2. 定員

平成10年度末の定員は315名であったが、審査支援体制の充実強化に伴う増として1名、承認審査体制の充実強化に伴う増として10名、ダイオキシン及び内分泌かく乱物質の分析と評価研究業務の強化に伴う増として1名、計12名の定員増が認められた。その一方で、第9次定員削減計画に基づき研究職2名の定員が削減されたことにより、平成11年度末の定員は、指定職2名、行政職（一）48名、行政職（二）18名、専門行政職60名、研究職197名、計325名となった。

3. 予算

平成11年度予算の概要は次のとおりである。

(1) 一般予算

予算額は、5,239,630千円で前年度に比較して495,969千円（10.5%）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 | 77,946千円 |
| ② 経常事務費の研究費の増
(研究員当積算庁費単価アップに伴う増@1,438千円
→@1,468千円等) | 24,512千円 |
| ③ 施設管理事務経費の減
(自動車交換差金に伴う減△3,400千円、庁舎管理費に係る人件費アップに伴う増580千円) | △2,820千円 |
| ④ 摘出埋植医療用具の適合性解析法研究費の増 | 26,284千円 |
| ⑤ 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 | 3,969千円 |
| ⑥ 内分泌かく乱化学物質のリスク評価のための分子発生毒性学的手法開発研究費（新規事項）の増 | 31,060千円 |
| ⑦ 内分泌かく乱性化学物質のリスク評価手法開発研究費の減 | △32,201千円 |
| ⑧ 新規食品等のアレルゲン性評価法の基盤研究費の減 | △32,039千円 |
| ⑨ 医薬品医療機器審査センターに必要な経費の増 | |

56,586千円

⑩ 国立医薬品食品衛生研究所施設整備経費の減

△18,106千円

等が挙げられる。

(2) 移替予算

予算額は、185,464千円で前年度に比較して22,485千円（13.8%）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2課題（①大気中多種化学物質暴露による疾病発生要因解明と寄与率評価に関する研究21,779千円、②環境中の内分泌障害性物質が生体防御系に与える影響に関する研究22,931千円）、国立機関原子力試験研究費が4課題（①血液脳関門を透過する放射性組換え抗体の開発6,800千円、②γ線照射による穏やかな重合を利用した精密な放出制御機能を有する刺激応答性薬物送達システムの設計8,098千円、③新規ペプチド標識法を用いるアレルゲン性試験法の開発に関する研究6,337千円、④突然変異の誘発を促進する蛋白質の構造と機能に関する研究18,464千円）認められた。

なお、平成11年度事項別予算額は別紙のとおりである。

4. 施設整備等の状況

平成11年度の施設整備等については、以下のとおり整備を行った。

(1) 予算関係

- ① 北海道薬用植物栽培試験場堆肥舎改修工事
- ② 本所8号館屋上冷却塔改修工事

(2) 補正予算関係

- ① 本所11号館内装改修等工事
- ② 本所3号館培養細胞研究資源保存施設拡充工事
- ③ ダイオキシン類研究のためのケミカルハザード動物実験施設等設置工事
- ④ 本所14号館空調設備等改修工事

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「スウェルチアマリン標準品」、
「ニコチン酸トコフェロール標準品」を追加した。

これにより、当所が製造し、交付している標準品は医薬品等試験用標準品75品目、色素試験用標準品38品目、計113品目となった。

6. 移転関係

(1) 本所

当所の移転については、昭和63年7月19日「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ついて」の閣議決定、翌平成元年8月24日「国の行政機関等移転推進連絡会議」において移転先地が府中市米軍基地跡地に決定された。移転に向けて今日に至るまでの間、関係省庁

別紙

平成11年度予算額

事 項	平成10年度 (A)	平成11年度 (B)	対前年度差 引増△減額 (B)-(A)	備 考
	(千円)	(千円)	(千円)	
(組織) 厚生本省試験研究機関	4,743,661	5,239,630	495,969	
(項) 厚生本省試験研究所	4,057,814	4,515,253	457,439	
国立医薬品食品衛生研究所 に必要な経費	4,057,814	4,515,253	457,439	
既定定員に伴う経費	2,732,053	3,094,415	362,362	
人件費	2,732,053	3,094,415	362,362	
増員要求に伴う経費	0	77,946	77,946	
人件費	0	76,385	76,385	
人当経費	0	790	790	
研究費	0	771	771	
経常事務費	314,653	338,369	23,716	
人当経費	9,518	10,394	876	
一般事務経費	42,247	40,615	△ 1,632	
研究費	254,780	279,292	24,512	
官庁会計事務データ通信 システムに必要な経費	8,108	8,068	△ 40	
特別研究費	16,110	16,118	8	1. 安全性評価のための迅速かつ鋭敏な 毒性指標の確立に関する研究 (9,005千円) 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 (7,113千円)
標準品製造費	42,490	42,490	0	
安全性生物試験研究 センター運営費	185,353	185,145	△ 208	
薬用植物栽培試験場運営費	97,398	97,969	571	
施設管理事務経費	105,203	102,383	△ 2,820	
受託研究費	107,430	107,521	91	1. パイテクロニクによるワカシの創製と改良 技術の開発 (3,500千円) 2. パイテクロニク-応用医薬品の評価技術の 開発 (6,261千円) 3. パイテクロニク-を利用した食品の開発と 安全性評価技術の開発 (4,200千円) 4. パイテクロニク-を応用した毒性・薬効の 新評価技術の開発 (9,518千円) 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 (8,261千円) 6. 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 (13,240千円) 7. 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 (7,000千円) 8. 医用材料と生体の相互作用の総合化 技術の開発 (4,470千円) 9. 先端技術による廃棄物処理技術の開 発 (3,200千円) 10. 薬用植物の科学的研究 (10,921千円) 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 (16,900千円) 12. 神経系の機能・病態の解析と医療へ の応用 (11,950千円) 13. レセプターなどの細胞膜を介した生 体調節機構の解明と医療への応用 (3,500千円) 14. 代謝調節機能に及ぼす環境要因の解 析 (4,600千円)

(大蔵省、建設省、国土庁)、東京都及び府中市と種々折衝を進めてきたが諸々の要因(府中市の市民斎場問題、都市計画法の改正等々)により殆ど進展はみられなかったことに加え、平成7年4月には国立試験研究機関重点整備・再構築(案)の提示、さらには中央省庁等改革基本法に基づく省庁再編等の要素が生じたこと等から移転への作業が進

展しなかった。

しかしながら、中央省庁等改革に係る大綱が平成11年1月に示されたことから、今後は、移転に向けた作業を精力的に進めることとなる。

(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

事 項	平成10年度	平成11年度	対前年度差 引増△減額 (B)-(A)	備 考
	(A)	(B)	(千円)	
乱用薬物基礎研究費	17,086	17,010	△ 76	薬物乱用、特に依存性薬物の強化効果の修飾ならびに薬物依存性の評価法に関する基礎的研究 (17,010千円)
総合化学物質安全性研究費	118,166	118,026	△ 140	1. 安全性点検体制支援システム経費 (71,865千円) 2. 安全性試験法開発等研究費 (18,041千円) 3. 生活環境暴露評価基盤研究費 (28,120千円)
移転調査検討費	2,381	1,408	△ 973	
共同利用型高額研究機器整備費	90,409	90,413	4	
培養生物資源保存管理基盤整備費	38,149	38,046	△ 103	
研究情報活動基盤整備費	78,345	78,333	△ 12	1. 研究情報ネットワークシステム基盤整備費 (21,387千円) 2. 研究情報整備費 (18,994千円) 3. 情報を基盤とする化学物質安全性国際協力事業費 (37,952千円)
摘出埋植医療用具の適合性解析法研究費	18,450	44,734	26,284	
遺伝子治療薬の品質、安全性等確保のための基盤研究費	29,898	33,867	3,969	
内分泌攪乱化学物質のリスク評価のための分子発生毒性学的手法開発研究費	0	31,060	31,060	
内分泌かく乱性化学物質のリスク評価手法開発研究費	32,201	0	△ 32,201	
新規食品等のアレルギー性評価法の基盤研究費	32,039	0	△ 32,039	
(項) 血清等製造及検定費	641,618	698,254	56,636	
医薬品等の承認審査、国家検定及び検査等に必要経費	641,618	698,254	56,636	
一般事務経費	12,936	12,986	50	
事業費	109,991	109,991	0	
医薬品医療機器審査センターに必要な経費	518,691	575,277	56,586	
(項) 厚生本省試験研究所施設費	44,229	26,123	△ 18,106	
国立医薬品食品衛生研究所施設整備経費	44,229	26,123	△ 18,106	本所8号館屋上冷却塔改修工事
(移替予算)				
(組織) 厚生本省試験研究機関	162,979	185,464	22,485	
(項) 国立機関公害防止等試験研究費	64,992	73,715	8,723	
(項) 国立機関原子力試験研究費	97,987	111,749	13,762	
	4,906,640	5,425,094	518,454	

* 予算額については両年度とも当初予算額

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にないこと。

③ 更に、国立試験研究機関の重点整備・再構築（案）に示された大阪支所業務を東京に集約するとともに【国立厚生科学基盤技術開発研究所（仮称）】に拡充改組する方針がうちだされたこと。

等から、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つとしていたが、中央省庁再編成等の大きな環境変化の中で、具体的な動きが取れない状況であった。

薬 品 部

部 長 小 嶋 茂 雄

概 要

平成11年度にも、昨年度に引き続いて、医薬品の品質規格に関する研究、製剤評価に関する研究、ならびに麻薬および依存性薬物に関する研究について試験・研究を実施した。医薬品の品質規格に関する研究では、医薬品の分析法に関する研究、ならびに日本薬局方の規格および試験方法に関する研究を行った。製剤評価に関する研究では、生物学的同等性の評価に関する研究や溶出試験のキャリブレーションに関する研究、ならびに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毛髪への乱用薬物の移行に関する研究などを行った。今年度から5省庁の共同プロジェクトとして始められたミレニアムプロジェクト（薬剤反応性遺伝子解析による疾病・創薬推進事業）にも、薬品部として積極的に参加することとし、ターゲットとする疾病の患者における薬物動態の検討を担当して、このプロジェクト研究に寄与するとともに、今後、薬品部が医薬品の有効性、安全性に関わる種々の研究課題に生化学的な側面からもアプローチしていける体制を整えていく端緒としたいと考えている。

厚生省試験研究機関の再編に関しては、国立公衆衛生院の工学系部門の当所への移転が中止されるなど、再編の規模が平成7年のグランドデザイン案に比べて縮小されたものの、国立公衆衛生院研修部門の和光移転（平成14年4月）に伴い、医薬品部門では同院の衛生薬学部を当所が受け入れることになっていること、また、同じ時期に当所大阪支所をベースに基盤技術研究センターを設立して、独立行政法人化するとの構想も急浮上してきたことなど、これまでまだ先のことを考えてきた変化の波が間近に迫ってきており、これを乗り越えていくための積極的な対応が求められている。こうした中で、現在薬品部で行っている業務についても見直しを図っていく必要があると思われる。

人事面に関しては、米国FDA医薬品評価センター薬物動態部門次長の Henry J. Malinowski 博士が、第4期マンズフィールド研修員として来日し、平成11年11月～平成12年3月の5ヶ月間、第1室において、日本と米国の生物学的同等性ガイドラインの間に違いがあるのは何故か、また、米国と日本で同じ医薬品の服用量が違いがあるのは何故かなどの課題について調査・研究するとともに、日本における医薬品の審査システム（特に、その中で国立衛研の果た

している役割など）についての理解を深めた。また、科学技術庁のSTAフェローとして、平成10年8月から麻薬室においてベンゾジアゼピン系向精神薬の毛髪への取り込み機構に関する研究を行っている Karen S. Scott 氏（英国）の研究期間が平成12年7月まで1年間延長された。

森原元彦氏が、医薬安全総合研究推進事業（若手研究者育成活用事業）のリサーチレジデントとして、平成10年9月より、第1室において医薬品の品質保証基準及び品質判定システムに関する研究を行っている。また、中島由起子氏が、ミレニアムプロジェクト/薬剤反応性遺伝子解析による疾病・創薬推進事業の医薬品機構からの派遣研究員として、平成11年4月より、第1室においてターゲットとする疾病の患者における薬物動態に関する研究を行っている。

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）：

青柳室長は、国際薬学連合（FIP）主催の生物学的同等性評価に関する国際会議（平成11年9月）において講演するため、英国に主張した。中原室長は、第37回国際法中毒学会（平成11年9月）への参加のため、ポーランドに出張した。

小嶋部長、青柳室長および吉岡室長は、ICH5準備会議（品質分野）（平成11年10月）に出席するため、米国に出張した。伊豆津主任研究官は、米国薬剤学会第13年会（平成11年11月）における研究発表のため、米国に出張した。また、鹿庭主任研究官は、米国薬学会主催の生体試料分析のバリデーションに関するワークショップ（平成12年1月）において講演するため、米国に主張した。

業務成績

1. 特別審査試験

新薬67件について試験した。

2. 一斉取締試験

塩酸クロルプロマジン錠（溶出試験） 8品目

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16件、輸入あへん119件、合計135件）。

4. 標準品の製造

次の向精神薬標準品を製造した：

4.メチルチオアンフェタミン（10g）

ガンマヒドロキシ酪酸（10g）

5. 国際協力

国際厚生事業団の第15回アジア諸国薬事行政官研修（平成11年6月）および第10回必須医薬品製造管理研修（平成11年10月）に協力して、アジア諸国の薬事行政官ならびに医薬品製造管理者に対する研修を行った。

青柳室長は、国際協力事業団の中国天津医薬品検査技術

プロジェクトの短期専門家（バイオアベイラビリティに関する技術援助）として、中国天津市薬品検験所に1ヶ月間（平成11年11月）出張した。また、医薬安全総合研究事業の外国人研究者招へい事業により、天津市薬品検験所唐元泰副所長を日本に招へいし、当所薬品部などにおいてネットワーク化に関する共同研究を行った（平成11年10～11月）。

6. その他

中央薬事審議会の医薬品の承認審査ならびに再評価における審議（医薬安全局審査管理課、国立医薬品食品衛生研究所医薬品医療機器審査センターおよび安全課）、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。

処方異なる製剤の生物学的同等性試験ガイドラインおよび含量異なる製剤の生物学的同等性試験ガイドラインを作成した（平成12年2月公布）。また、剤形異なる製剤の生物学的同等性試験ガイドライン（案）の作成を行った（平成11年12月内示）（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

希少疾病（熱帯地域からの輸入感染症および輸入寄生虫症）用の未承認医薬品であるグルコネートキニーネ注射液およびアーテスネート製剤（4製剤）の品質に関する研究を行い、国内における緊急供給体制を確保した（官民共同プロジェクト研究／創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業）。

指定検査機関（地衛研）の検査結果の信頼性確保を目的に、溶出試験に関する精度管理を実施した。また、標準品の配布を行った（医薬安全局監視指導課委託研究費）。

国立衛研をキーステーションとし、監視指導課、国研及び地方衛研の間に57機関、190名参加の双方向ネットワークを構築して試験的運用を行い、検査データや試験法などに関する情報交換を実施し、ネットワークの有用性を検証した（厚生科学研究／医薬安全総合研究事業）。

2. 日本薬局方の規格および試験方法に関する研究

一般試験法の残留溶媒試験法、窒素定量法、吸光度測定法および赤外吸収スペクトル測定法に関する研究を行い、改正作業を行った。また、確認試験のための参照紫外可視吸収スペクトルおよび参照赤外吸収スペクトルを作成した（日本公定書協会／医薬品の規格及び試験方法に関する研究）。

不純物（類縁物質）の分析方法について検討し、医薬品各条の表記を整備した（厚生科学研究／医薬安全総合研究事業）。

3. 医薬品の有効性、安全性に関する薬剤学的研究

インドメタシンを酸性医薬品のモデル薬物として用い、*in vitro/in vivo* 相関性はpH6.5の溶出試験条件が優れていること、ならびに生物学的同等性を保証するためには、水を試験液として、パドル法の50rpmで溶出試験を実施するのが望ましいことを明らかとした（厚生科学研究／医薬安全総合研究事業）。

溶出試験器の振動キャリブレーションの開発を目指して検討した結果、アセトアミノフェン顆粒の有用性が示唆された。また、溶出挙動の同等性の判定法について検討し、 f_2 関数による判定結果と「後発医薬品の生物学的同等性ガイドライン」の方法による判定結果との間に大きな差はないことを明らかとした。溶出試験のデータの再現性は、サンプリングノズルの大きさやビーカーの形状の違いによって影響を受けることを明らかとした。さらに、吸入剤の生物学的同等性試験について検討し、許容域を拡げるのが望ましいことを示した（医薬品機構／生物学的同等性の評価に関する研究）。

ICHで合意されている工程内試験の我が国への導入を目指して、適用し得る試験項目や実施上の課題などについて検討した結果、最終製品に至るまで品質特性が基本的に変化しない試験項目であれば、新薬のみならず、既存薬においても適用可能であること、行政的にはGMPの枠内で運用可能なことなどを明らかにした（厚生科学研究／医薬安全総合研究事業）。

薬剤学的手法の一つである母集団ファーマコカイネティクス／ファーマコダイナミクスを用いてリスクの高いサブ集団を検出する方法を確立することを目的として、生体試料中の降圧剤ロサルタンの分析法を確立した（医薬品機構からの受託研究）。

4. 医薬品の物理・化学的安定性に関する研究

高分解能13C固体NMRを用いて、タンパク質凍結乾燥製剤中のタンパク質分子およびデキストラン分子の運動性を測定した結果、分子運動性の限界温度以上になると、デキストランの運動性が急激に高まり、それに連動してタンパク質の分子運動性も高まることが明らかになった（厚生科学研究／医薬安全総合研究事業）。

ニフェジピン、フェノバルビタール、フロプロピオンなどの非晶質医薬品について、NMR緩和時間に基づいて分子運動性を測定した結果、ニフェジピンはその他の医薬品に比較して、室温においても高い運動性を持つことが明らかとなり、その高い運動性が保存時における速い結晶化速度に繋がること示唆された（官民共同プロジェクト研究／創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業）。

γ 線照射による方法によって調製したイソプロピルアクリルアミドなどのモノマーから成る刺激応答性ハイドロゲルの膨潤速度は、重合開始剤を用いる従来法によって調製したゲルに比べて小さいことが明らかとなり、 γ 線照射に

よる方法によって調製したゲルにおいては均一なゲルネットワークが形成されていることが示唆された(国立機関原子力試験研究費)。

各種タンパク質や電解質高分子と非イオン性高分子間を含む単相の初期溶液が、凍結することにより、混合相として濃縮する、あるいは各高分子を主とする相に分離することを熱分析から明らかにした。高分子や共存物質の選択が混合性制御の有用な手段であることが示唆された。

5. 麻薬および依存性薬物に関する研究

フェニトイン、フェノバルビタールなど、薬物中毒の頻度の高い薬物をそれぞれラットに投与し、毛髪から投与薬物およびその水酸化代謝物を確認した。フェニトイン、フェノバルビタールにより薬物中毒を起こしたヒトの毛髪からも使用薬物とその代謝物を検出し、毛髪によるそれらの薬物中毒診断の有効性を示した(厚生科学研究/厚生科学特別研究事業)。

動物を用いたあへんの吸入実験に先立ち、目的とするあへん成分の高感度同時分析法を検討した。また、あへんの気化実験について基礎的検討を行った(厚生科学研究/医薬安全総合研究事業)。

Deprenyl, 4-MTA, GABA および Quazepam について、呈色反応、赤外吸収スペクトル分析、薄層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)。

LSD について動物実験を行うとともに、GC-MSを用いた毛髪中の LSD およびその代謝物である 2-Oxo-3-hydroxy LSD の定量法を確立した(乱用薬物基礎研究費)。

生 物 薬 品 部

部 長 早 川 堯 夫

概 要

先端性と国際性が依然としてキーワードである遺伝子、タンパク質、細胞などから構成される生物薬品の創製は、先端的生命科学研究や技術的進展の所産である。従って、その品質・安全性評価の科学を最も適正に行うには、自ら先端的研究の渦中において問題点の把握と、解決策の検討を行うことが肝要であると思われる。

国際社会は、人々の保健衛生に資するよう、科学行政の整合性、わが国からの優れた科学的データやコンセプト、人や情報の継続的交流を求めている。21世紀を展望するさまざまな場面において、糖タンパク質糖鎖の最新解析技術や、タンパク質性バイオ医薬品、遺伝子治療薬、細胞治療薬等の評価科学に関わるメッセージを世界に向けて発信し、本分野における国際貢献に寄与してわが国の存在感を示す

ことが出来たのは幸いであった。

健康は人間生活の基本であり、どのような社会(国家)であれ、保健衛生に関する行政機構、及び衛生科学に関する研究機関は、最重要な社会的システムとして設置されている。行政機構と研究機関という互いに異なる機能体が、共通目標を持ちながらも自律したものとして国に存在するには必然の理がある。保健衛生の確保が行政と科学を基盤としている以上、こうした多重構造、多層構造の存在は、国内的にも、国際的にもきわめて重要な意義がある。当部は生物薬品分野でその一翼を担うべく活動してきた。その際、評価科学といえども、使命感のみならず、科学者の精神的な自由度をいかに確保するかが、その発想、創造力、洞察力、創意工夫、そして時間を惜しまぬ努力などを相乗的に増幅して発揮できるか否かの重要な鍵であることを改めて認識した年であった。当所の他の部門と同様、活動成果は国際的に高い評価を得ていると思われるが、これは限られた人数が力を増幅して得た結果に他ならない。

人事面では、平成11年7月1日付けで日向昌司氏が主任研究官として採用された。平成11年7月1日付けで福田めぐみ氏が重点支援研究員として派遣され、平成11年12月31日付けで退所された。ヒューマンサイエンス振興財団よりヒトゲノム・遺伝子治療研究推進事業の流動研究員として派遣された細野哲司氏が平成12年1月1日付けで重点支援協力研究員として採用された。中国より日中笹川医学研究者(中国医学研修生)として徐志利氏を平成11年4月1日より1年間受け入れた。

海外出張は以下のとおりであった。早川部長：国際シンポジウム“2000年以降の生物薬品”で講演及び日米欧三極薬局方調和検討委員会に出席(フランス：平成11年9月22日～平成11年10月2日)、国際討論集会“ICHとカナダの医薬品規制システム”で講演及びカナダ衛生省を訪問及び講演(カナダ：平成11年11月13日～平成11年11月20日)；水口裕之研究員：American Society of Gene Therapy, 2nd Annual Meetingに出席(米国、平成11年6月9日～13日)

業務成績

1. 特別審査試験 5件
2. その他

第13改正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)、厚生科学審議会専門委員会、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) 糖タンパク質製剤の特性・品質評価法としてLC/MS及びLC/MS/MSを用いた糖鎖マッピング法及び糖ペプチドマッピング法を開発し、モデル糖タンパク質エリスロポエチン

の糖鎖構造及び部位特異的糖鎖不均一性を解析できることを確認した (HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業)。

ii) 新規医薬品候補フォリスタチン(FS)の糖鎖の構造解析を目的として、ヒトFS発現ベクターをCHO細胞に導入することによってFSを安定かつ高発現する細胞株(CHO-FS)を樹立し、組換えFSの大量調製法を確立した。また、LC/MSやHPAECを用いてFSの糖鎖構造を解析し、主にシアル酸が結合したフコシル二本鎖型糖鎖であることを明らかにした (HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業)。

iii) FSの糖鎖の機能解析を行うために糖鎖構造を改変することを目的として、N-アセチルグルコサミン転移酵素III(GnT-III)発現ベクターをCHO-FS細胞に導入し、GnT-III安定発現株(CHO-FS/III)を樹立した (HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業)。

iv) アクチビンAとHGFが肝転移を起こしやすい癌細胞の運動能を相乗的に促進することを明らかにした (HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業)。

v) ガングリオシドGD1aはHGF受容体c-Metのチロシンリン酸化を抑制することにより、HGFにより誘導される細胞運動及びアクチンフィラメントの形成を抑制していることを明らかにした (HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業)。

vi) ガングリオシドGD1aは高転移性癌細胞による血管内皮増殖因子VEGFの分泌を抑制することを明らかにした (HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業)。

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の一環として、DMSO処理したHL-60細胞の増殖性を指標とするG-CSFの生物活性測定法について、マウス細胞を用いる測定法と比較検討した。viii) 時間分解蛍光法を用いるための糖タンパク質をランタノイドと錯体を形成する標識剤で標識する方法を開発した。

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、ホスファターゼ阻害剤のcalyculinAが存在するとfMLP刺激による好中球活性酸素生成はCaイオン非要求性になることを明らかにした。

ii) ADPがP2TACサブタイプを介してプラスミンによる血小板凝集をpotentiateすることを見だし、血栓溶解剤の副作用抑制にP2TACアンタゴニストが有効である可能性を示唆した (HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業)。

iii) 海馬神経細胞における高濃度グルタミン酸処理によるイオン濃度調節機構の異常は、フルクトース等のエネルギー産生を賦活する物質により抑制されることを明らかにした。

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) ヒト肝癌由来細胞株HepG2においてアクチビンC及びEが発現していることをRT-PCRによって確認した。

ii) 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(HA)依存的なグルココルチコイド受容体(GR)の減少に関与するプロテアーゼについてさらに検討を行った。

その結果、既に関与を明らかにしているプロテアソーム以外に関与するプロテアーゼは見いだせなかった。従って、HA依存的なGRの分解においてプロテアソームが特異的に作用していることが示唆された。

iii) 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の研究に関して、HL-60細胞を用いた検討を行った。その結果、HL-60細胞の好中球分化の過程でトランスフェリン陽性細胞と陰性細胞が出現すること、前者は増殖型であり後者は分化型であることを明らかにした。

iv) 初代培養肝細胞の細胞内貯蔵部位からのイノシトール-3リン酸によるカルシウムイオン放出の濃度依存性は、細胞間では大きな違いがあるが細胞内の部位差は小さいことを、画像化によって明らかにした (HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業)。

v) 初代培養肝細胞におけるカルシウムウェーブの開始点は、細胞内イノシトール-3リン酸受容体が密に存在する領域と一致することを明らかにした (HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業)。

vi) 心室筋細胞と心房筋細胞の細胞内貯蔵部位からのカルシウムイオン放出を高分解能で超高速に捉え、比較した (HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業)。

vii) 数種のタンパク質由来のSrc homology 2領域と緑色蛍光タンパク質(GFP)との融合タンパク質発現プラスミドを作製するとともに、各種細胞内で発現させ、チロシンリン酸化刺激に伴う細胞内の蛍光変化を検討した (文部省科学研究費補助金)。

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) プラスミドDNAを核に送達する機能を有するキャリアタンパク質の作製方法について検討した (厚生科学研究費補助金)。

ii) EBウイルスベクターの自律複製領域をプラスミドの複製、安定性に寄与するヒトの染色体DNA断片と置換したベクターを構築し、遺伝子発現の持続性を検討した (厚生科学研究費補助金)。

iii) 非ウイルスベクター類による細胞への遺伝子導入量と遺伝子発現効率の関係について検討し、安全性評価指標に関する知見を得た (厚生科学研究費補助金)。

iv) gutless adenovirus vectorの作製が可能なシステムを構築し、染色体外での自律複製を可能とするEBNA1とOriP配列を有したgutless adenovirus vectorを作製した (厚生科学

研究費補助金)。

v) トランスジェニック動物を利用して製造された医薬品の品質・有効性・安全性の評価法の素案を作成するとともに、医薬品生産のためのクローン動物利用の現状と問題点を調査した(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においてインヒピン β A, β B, β C, β E mRNAの変動を見だし、これらmRNA量の変動が肝毒性指標として有用であることを明らかにした(厚生省特別研究)。

ii) 新規グルココルチコイド受容体の検索及びその臨床応用に関する基礎的検討として、新規グルココルチコイド受容体は既知の受容体と免疫化学的に異なることを明らかにした(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。エンドセリンET_A受容体の脱感作機序の解明を行った。国際的交流としてはWHOの伝統医薬の研究及び評価指針の作成、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行った。

行政との対応では、14改正日本薬局方の作成試験、いわゆる合法ドラッグの生薬類の解明、タバコの煙の成分、大麻の鑑定法、けしがら濃縮物(CPS)のモルヒネ含有量、国際調和の観点から食薬成分の見直しを行った。

海外出張は佐竹元吉部長、関田節子室長、川原信夫主任研究官が平成11年7月18日から7月25日まで中国に出張し、第2回日中生薬標準規格検討会に参加した。佐竹部長はWHOの伝統医薬の研究・評価のためのガイドライン作成のための会議に出席のため、平成12年4月10日から4月12日まで香港に出張し、フィリピン薬局方作成のためのシンポジウム参加のため、平成12年2月28日から3月1日までフィリピンに出張した。

代田修研究員がアメリカコロンビア大学化学研究室での研究交流を修了して平成12年3月23日帰国した。淵野裕之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、尹淑永氏を長寿財団フェロー流動研究員として、下村裕子氏を客員研究員としてそれぞれ引き続き受け入れ、中根孝久氏を公定書協会流動研究員として平成11年10月1

日に受け入れた。アメリカからFDAのコンラッド・チェン氏(Dr. Conrad Cheng)を科学技術庁流動研究員として、平成11年8月より3カ月間受け入れた。中国から李書淵氏を日中医学研究交流生として、平成12年4月1日より1年間受け入れた。

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副秘書長周福成氏及び一室副主任齋平氏、薬品生物製品検定所副秘書長王国榮氏、中薬室副主任薬師田金改氏、中薬室主任薬師趙淑杰氏を平成12年3月13日から3月17日まで受け入れ、第3回当部主催の薬局方生薬に関する日中国際共同研究シンポジウム(3月14日、16日)で討議を行った。

研究業績

i) 漢方処方薬の効能、効果の評価として炎症の治療に用いられている漢方処方薬の構成生薬であり、抗炎症作用があることを既に示した、連翹の70%メタノールエキスの抗炎症作用を示す活性成分を単離、同定し、さらにその作用形態を解明した。

i) 第14改正日本薬局方の微生物限度試験法

細菌及び真菌、特定微生物に対する生薬の微生物限度試験法を検討し、限度値の設定を計り日本薬局方フォーラム9(3)への収載案を作成した。

ii) 第14改正日本薬局方のトウガラシ、トウガラシ末、エンゴサク、センブリ、センブリ末、サンシシの定量法、成分含量測定法、及び確認試験法について検討し、日本薬局方フォーラム9(3)への収載案を作成した。

iii) 理化学試験用標準生薬としてウイキョウ、シャクヤク、シャゼンシ、シャゼンソウ、オウギ、オウゴン、トウキ、センキュウ、ソウフツ、トウヒ、ハッカ、ポウイ、ポウコン等について産地の異なる数ロットの形態を比較検討すると共に成分比較のためのTLC法を試みた。

iv) アリストロキア酸に起因する副作用報告が続いている。アリストロキア酸についての動物実験を計画しているが、多量のサンプルが必要で、なおかつ、アリストロキア酸には多くの類縁体が存在するため、製剤中の定量法の確立ならびに作用メカニズムの解明には純度の確実な化合物を用いることが要求されることから、これらの化合物の分離と純度試験法について検討した。(薬効成分を有する天然物-生薬、漢方製剤-の安全性に関する研究)

v) 未規制薬物の成分の分析を行い、エフェドリン類、カワイン、メラトニン、リドカインの各製品にはいずれも含有量に大きな差があることを明らかにし、麻黄入りタバコ中のエフェドリン類の肺吸収の可能性は低いと推定した。マジックマッシュルームの幻覚成分シロシン、シロシピンの簡易分析法を開発すると共に市場品の定量を行った。フユアオイ健康茶に関して、その原植物はセンノシド類を含まず、製品中の成分はセンナに由来することを明らかにした。(未規制薬物の乱用防止に関する研究)

vi) ヒアルロニターゼ, プラスミン等に作用する薬用植物を検索し, 阻害活性を示す植物 19 種を見出した. 湯温負荷後の精子形成促進作用と性行動障害改善作用を検討し, ツルニンジン抽出フラクションに顕著な改善作用を認められた. ペルー産生薬マカには同作用は認められなかった. (HS 薬用植物の開発研究)

vii) 日本薬局方, 中国薬典の生薬に関する規格の調和を目指して共通テーマで研究を行い, 品質規格ならびに安全性に関する規格を討議した. それぞれの国の独自性を尊重しながら, 共通点については今後両国の追補作成時に記載の統一を検討することとした. (生薬に関する日本薬局方と中国薬典の調和に関する研究)

viii) 薬用生物資源の保存・保護を目的に, 薬用植物の基原植物の解明, 計画的増殖・国内の自生地調査を行い, データベース化を進めて分布図を作成した. 国外の薬用植物に関しても土壌等の環境調査を行い成分への影響を解析した. さらに, 薬用植物の品質や増殖と関連ある微生物の性質を明らかにするため, 生化学的性状や代謝産物について検討を行った. (薬用生物資源の分布調査とその活用に関する研究)

ix) 大麻の乱用防止を目的に, 鑑別方法の開発のため世界各地より導入した *Cannabis sativa* 種子をファイトトロン内で播種し, 人口気象条件下で, 種子を発芽生育させ, 第 1 節から第 2 節の葉を RAPD 法による解析, 第 3 節から第 5 節の葉は CBD, CBN, THC の成分分析を検討した. また種子の外部形態と植物体の第 5 葉の形態から葉の容態を比較し, 種子の根端細胞における染色体を観察した.

南米産薬用植物の抗原虫活性成分

x) ペルー産及びブラジル産のキク科の植物 “Lingua de vaca” (*Elephantopus mollis* H.B.K.) に含有されている抗リーシュマニア活性成分として, 6 種類の新規化合物を含む 10 種類のセスキテルペノイドを単離しその化学構造を決定した.

xi) 生薬の滅菌法の一つとして, 放射線照射滅菌の有効性・安全性の検討を行った. 滅菌効果については, 検討を行ったほとんどの生薬が, 10kGy の照射で, < 10(cfu/g) の効果が得られた. 成分に関しては, 低分子化合物は, 照射前後で含量に大きな変化は認められず, ロット間の差より小さかった. 別に, オウバクのゲルクロマトグラフィーで変化の認められた部分の精製を試み, それは高分子多糖と推定された. (科技厅・原子力)

xii) 骨代謝を制御する骨芽細胞分化促進因子及び破骨細胞形成因子の遺伝子発現変動をモニターするバイオアッセイにおいて活性を示したブラジル産薬用植物 *Luffa operculata* の成分検索を行い, 2 種類の新規 cucurbitacin 誘導体を単離・構造決定した. またペルー産薬用植物 *Gantianella nitida* の成分研究を行い, IL-2 遺伝子発現増強活性を有する新規 xanthone 誘導体を単離し, その構造を決定した.

xiii) 円二色性分光法を用いた微量成分の絶対構造決定法

の確立と生体成分および新規天然医薬分子への応用に関する研究と題し, 生体常成分であるファイトスフィンゴシン及びファイトセラマイドの微量分析法確立と, スクワレンセンターゼ阻害活性やファルネシルトランスフェラーゼ阻害活性を有する天然有機化合物である CP-225, 917 の絶対構造解析について研究を行った.

xiv) 薬用植物栽培・品質評価指針 (part VIII) 収載生薬 (クチナシ, センブリ, トウスケボウフウ, ハナトリカブト, ブクリョウ) の調査を行い, 指針原案を作成した.

xv) モルヒネ製剤原料としてあへんに替るもとと考えられるけしがら濃縮物 (CPS: Concentrate of Poppy Straw) のモルヒネ含量を測定し, これらが阿片の代替品として十分なモルヒネ含量を有することを示した.

xvi) 麻黄の中国から日本への輸出規制に伴い, 今後生薬の確保が困難になることが予想される. そこで中国産麻黄の代替品として他の地域に自生する麻黄及び国内に於ける栽培品の経時変化によるエフェドリン含量をそれぞれ測定し, 栽培条件による影響を検討した.

xvii) たばこ含有物質による健康増進に及ぼす影響に関する研究. ガラスフィルターに捕集されたたばこの煙を MeOH で抽出した後, シリカゲルカラムおよび ODS HPLC により分離・精製を行った. 精製された化合物は各種分光機器を用いそれらの構造を決定した結果, Cigatin A 及び B という新規化合物が単離された. その他, 4 種類の化合物がたばこ煙から初めて単離された.

療 品 部

部 長 (副所長事務取扱) 三 瀬 勝 利
前部長 中 村 晃 忠

概 要

療品部長として, 長年国内・国外で活躍された中村晃忠博士は, 2000年3月31日付けで定年退官された. また, 同博士は, 審査センター第4部長を併任されて, 医療用具の審査体制作りにも力を注がれたが, その任も同時に解かれた. なお, 中村晃忠前療品部長は, 長年の医療用具の生物学的評価の標準化と国際調和に関する努力と成果の功績を認められ, 2000年度日本バイオマテリアル学会科学功績賞を受賞された.

5月末日現在, 後任は選考中であり, 三瀬副所長が療品部長事務取扱となっている.

1999年1月より科学技術特別研究員として採用されている市川明博士, および, 1999年4月より HS 流動研究員として採用されている朴正雄博士は, とともに, 1年間延期することとなった.

1999年12月24日付けで Md. Shahidur Rahman 博士が STA

フェローとして採用され、また、2000年4月1日付けで長田和浩博士が医薬品機構からの派遣研究員として採用され着任された。

業務報告

1. 家庭用品関係

例年通りに、家庭用品に係わる毒性試験計画の一環として、(1) 計画の策定、(2) 分析法作成、(3) 試験物質の純度検定と安定性試験、(4) 細胞毒性試験を担当した。平成11年度の分析法設定および細胞毒性試験品目は下記の通りであった。

分析法設定：ゴム加硫促進剤 N-(1-methylheptyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine(MHPPD)、抗菌剤 2,3,5,6-tetrachloro-4-(methylsulfonyl)pyridine(TCMSP)

細胞毒性試験：ゴム加硫促進剤 zinc isopropylxanthate (ZIPX)、抗菌剤 N-n-butyl-1, 2-benzisothiazoline-3-one(BBIT)、2-(thiocyanomethylthio)benzothiazole(TCMTBT)、4, 4'-tetramethylenebis(4-carbamoyl-1-decylpyridinium bromide) (TMBCDPB)

2. 国際調和、国際基準など

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「医療用具生物学的評価」の2000年度年次総会を、5月23日-27日の5日間、湘南国際村センターで開催し、国内外から約80名が参加した。組織委員会は、療品部第三室が主体となり、朝8時からの講演、引き続き、各WGと密度の濃い内容であり、国際調和と親善に、参加した部員一同活躍できた(参加者、療品部：中村前療品部長、土屋、配島、中岡、伊佐間、長田、朴、審査センター：鈴木、志村、厚生省：長谷川、田村)。

ii) 国際調和関連会議への参加：Regulatory Affairs Professionals Society:

Global tissue regulations (Washington, D.C.,1999,10,中村), NIH technology assessment conference on improving performance through retrieval information:Challenge and opportunities (Bethesda, 2000,1,佐藤)

研究業務

I. 医用材料などの生体適合性に関する研究

I-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

口腔アレルギー症候群と診断された患者のIgEが認識する果物抗原の多くは、人工胃液で容易に消化される蛋白質であることを示した。また、天然ゴムラテックスに含まれる塩基性 β -1,3-グルカナーゼが、交叉反応性糖鎖抗原を有することを確認した(経常研究費)。

I-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

ウサギ発熱活性を指標としたコラーゲン製品のサーベイ試験において2製品が陽性を示した。両製品中に含まれる発熱性物質を同定するために、化学分析および各種の生物学的実験を行った結果、両製品ともに、相当量のエンドトキシンを含有していることが明らかになった(厚生科学研究費)。

研究費)。

I-3. 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

低分子量ポリL-乳酸は、正常ヒト骨芽細胞の骨分化を抑制させることを明らかにした(原子力研究費)。

I-4. 金属酸化微粒子の生体適合性評価に関する研究

酸化ジルコニウム微粒子は、細胞間連絡能を阻害したが、細胞形質転換活性は認められなかった(科学技術振興調整費)。

I-5. 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

各種分子量サイズのヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸およびアルマタン硫酸の正常ヒト皮膚繊維芽細胞機能に及ぼす影響を調べた結果、多糖類の分子量や導入方法の違いによって細胞の接着・伸展・増殖・ギャップ機能への影響が異なることが明らかになった。また、PET材料の細胞形質転換活性は陰性であった(HS受託研究費)。

I-6. 医療用具・医療材料の有効性・安全性・品質評価に関する研究

合成した硫酸化ポリウレタンのV79代謝協同阻害活性を調べ、動物での発癌試験用フィルムを作製した。ポリエーテル型ポリウレタンのソフトセグメント部分が炭素数の異なるポリオールからなるポリウレタンについて代謝協同阻害活性を調べ、阻害陰性を示す材料要因を明らかにした(厚生科学研究費)。

I-7. 発生毒性物質の安全性評価のための迅速・鋭敏な毒性指標の確立に関する研究

3種の金属塩のギャップ機能阻害強度と神経分化阻害強度とは高い相関性があることを明らかにした(特別研究費)。

I-8. マイクロマスカルチャーを用いた催奇形性の*in vitro*試験に関する研究

マイクロマスカルチャー法による*in vitro*細胞分化培養システムは、金属イオンの催奇形性を迅速に評価できるシステムであることが明らかになった(経常研究費)。

I-8. 医療材料などにおけるエンドクリン阻害物質に関する研究

ポリカーボネート及びポリスルホン製血液透析器からのビスフェノールA溶出動態を明らかにした。また、血清と同等のビスフェノールA溶出を与える疑似溶媒組成について検討した結果、17.2%エタノール水溶液が血清の代替溶媒として使用できることを明らかにした。

II. バイオ人工臓器に関する基礎的研究

II-1. QOLを指向した生体融和材料の新創出に関する研究

前年度の方法で各種粒子が細胞機能に与える影響を検討したところ、粒子と細胞との接触時間も影響が大きいことが明らかとなった。また、セラミックスからなる粒子においても、高分子粒子同様、その形状が細胞機能に影響する

ことがわかった(科学技術振興調整費)。

II-2. 自己化を獲得する機能組織の再生技術

ポリ乳酸は材料に接触した細胞のコネキシンをチロシンのリン酸化修飾により、阻害することが明らかになった。ポリ乳酸で形質転換したクローンは、著しい軟寒天増殖能を示した。ポリウレタンの腫瘍発生強度と高い相関性のあったギャップ結合機能阻害は、コネキシン遺伝子の変異ではなく、早期には、翻訳後修飾が、後期には、遺伝子発現が顕著に抑制されて、機能性のコネキシン蛋白が減少する事が *in vivo* 阻害の要因であることを明らかにした(医薬品機構基礎研究プロジェクト)。

III-3. 遺伝子組込型人工臓器の安全性・有効性評価に関する基礎的研究

発現ベクターに組み込んだコネキシン43遺伝子をラット癌細胞株に導入し、コネキシン43を安定に高発現する細胞株を樹立した。マウス軟骨前駆細胞株に導入し、コネキシン43を安定に高発現する細胞株を樹立した(科学技術振興調整費)。

III. 微生物および微生物由来物質に関する研究

III-1. 成人性歯周炎に関する基礎研究と薬物開発への応用

抗原量、アジュバンド活性などを評価するため、Pg線毛/rCTBコンジュゲートの血清IgG、IgAおよび分泌型IgA抗体誘導能を詳細に検討した。また、鼻腔粘膜・肺組織への影響を病理学的診断したと共に、Pg-LPS/rCTB化学結合型コンジュゲートを調製した(HS受託研究費)。

III-2. 新課題医療廃棄物の処理システム構築に関する研究

日本の医療施設におけるTSE廃棄物の取扱方法および処理方法の実態を明らかにすると共に、医療および医療廃棄物分野におけるTSE汚染物処理の世界的動向を調査した(厚生科学研究費)。

IV. インプラント用具の適合性解析法開発に関する研究

IV-1. 医用材料の物性・生物試験データベースに関する研究

既承認の医療用具に用いられている医用材料のデータベースに、試験用データを追加入力した。また、材料マスターファイルの雛形を試作した(経常研究費)。

IV-2. インプラント用具の埋植情報の集積と分析に関する研究

骨セメント使用状況調査、眼内レンズ摘出事例のデータベースの作成を各学会に依頼して行った(経常研究費)。

IV-3. 摘出インプラントの分析法の開発に関する研究

眼内レンズ屈折手術学会を中心として、物理的・化学的分析を行い、分析手法を検討すると共に、標準的分析法を模索した(経常研究費)。

IV-4. 医療用具の不具合報告データベースに関する研究

国内の不具合情報に関するデータベースを作成して平成年度の約1100件のデータを入力し、米国の報告例と共に、イントラネットでの利用を可能にした(経常研究費)。

V. 医療用具の適正使用に関する研究

V-1. コンタクトレンズ、眼内レンズの適正使用に関する研究

摘出された眼内レンズについて組織学的検討を行った、また、コンタクトレンズ(CL)による眼障害に関して検討を行い、ケア不良、過剰使用など多くは使用者の問題であったが、説明不足もみられた(厚生科学研究費)。

V-2. 医療用具等の添付文書記載要領に関する研究

医療用具等の添付文書記載要領ガイドを厚生省クラス分類の立場で評価することができた(厚生科学研究費)。

V-3. 医療用具の不具合情報等の適正管理に関する研究

医療機関におけるリスクマネジメント委員会の組織化および医療用具の不具合の現状を明らかにできた。不具合が発生しているにも関わらず、厚生省へ報告されていない現状が明確になった(厚生科学研究費)。

VI. 医療用具の滅菌バリデーションにおけるバイオバーデン菌抵抗性の変動要因の究明

昨年度までの研究で確定した再現性の得られる培地を用いて生物指標の性能の変動要因について研究した。担体、一次包装ならびに菌懸濁液の可能性が考えられるため、それらを変えて実験した結果、担体ならびに/あるいは一次包装が変動要因の原因と考えられたが、更に、詳細に検討する必要がある。菌懸濁液は原因ではなかった(厚生科学研究費)。

VII. 家庭用品に含まれる化学物質の安全性情報に関する研究

VII-1. 接触アレルゲンに関する情報の収集・提供に関する研究

日本接触皮膚炎学会が刊行している「接触アレルゲン解説書」において、家庭用品関連化合物のうち、染料、着色剤、抗菌剤等について日本における接触皮膚炎の発生状況、原因化学物質に関する情報収集を進め、日本語版、英語版の作成準備を行った(移替予算)。

VII-2. 抗菌防臭加工剤に関する情報の収集・提供に関する研究

市販抗菌防臭加工製品の市場調査を行い、データベース化した(移替予算)。

VII-3. 広域ネットワークを利用した家庭用品の安全性情報の収集・提供に関する研究

家庭用品規制に関わる公定分析法の問題点の指摘と改良法について、地方衛研との間で意見の取りまとめを行った(移替予算)。

VIII. 家庭用品に含まれる化学物質の呼吸器系暴露の安全性に関する研究

VIII-1. 家庭内空気汚染物質と化学物質過敏症の関連性に関する研究

ホルムアルデヒドをマウスに28日間連続吸入暴露させたところ、TMAによる感作誘導が増強したが、IgE抗体価の変化はなかった。一方、DNCBによる感作誘導にも著し

い変化はなかった。また、マウスの系統差による反応性の差も認めなかった(厚生科学研究費)。

VIII-2. 家庭用エアゾル製品の急性中毒事故防止に関する研究

トリガータイプの家庭用エアゾル製品について、製品の情報収集を行った結果、フッ素系樹脂を配合された製品はなくなった。

VIII-3. 家庭用品による家庭内空気の汚染に関する研究

化学物質過敏症の患者情報をもとに、家庭用芳香消臭脱臭防臭剤に配合される香料成分について、文献情報と共に、症状との関連性を検討したが、明らかにできなかった(移替予算)。

IX. 家庭用品に含まれる化学物質の皮膚暴露の安全性に関する研究

膝補強用ポリクロロブレン製パッドによる接触皮膚炎事例において、ゴム加硫促進剤のdiethylthiourea (DETU) が主要な原因化学物質であることを確認した(移替予算)。

環境衛生化学部

部長 安藤 正典

概要

当部が行っている生活関連化学物質の安全性評価研究は、経気道、食品経由を除く経口及び経皮の三大暴露経路からの媒体特有の変化などによる生物学的あるいは分析化学的に評価する研究を実施しているが、最近新たな動きがみられている。平成11年度の研究業務は、その時々におけるそれぞれの分野における課題に対する研究の他、経口、経気道、経皮暴露の観点からの課題に対応する研究が実施された。

室内空気に係わる課題では、昨今の室内空気質の国民の関心の高さが増し、生活環境への国の関与がガイドラインなどの形で求められている。このため、揮発性有機化学物質の個人暴露調査を室内空気中化学物質安全対策事業(厚生省生活衛生局化学物質安全対策室)と当所暴露評価研究との研究組織と内容を合わせて実施し、厚生省から発表された。さらに、これを受けて、現在室内空気中化学物質のガイドライン作りが進行し、その基礎的研究を実施している。

水道に係わる課題では、2003年のWHO飲料水ガイドラインの大改正に向けて関連する化学物質の調査研究(農薬類、金属類、マイクロシスチン、非イオン界面活性剤等)を開始した。

経皮に係わり医薬部外品・化粧品関連分野では、長年にわたって取り組んできた包括協議や種別許可基準等の問題がほぼ解決したことなども踏まえて、本来実施しなければ

ならない皮膚に関連する基礎的研究として科学技術庁振興調整費による研究である「日常生活においてひふを守る総合研究」として皮膚と生活環境とを結ぶ疾病であるアトピー性皮膚炎を主体とした研究を多くの皮膚科医と共に開始した。また、生活環境に由来する多くの化学物質による経皮に係わる皮膚アレルギーや皮膚機能に与える影響などの新しい研究に取り組んでいる。

また、暴露研究では、室内空気に係わる研究として室内化学物質の分析方法の開発やそれを用いた全国の状況についての研究を地方衛生研究所と共同で研究を実施した。ヒ素の暴露に関しては、インド・バングラディッシュ・日本との多国間共同研究を実施していくための予備的研究を西ベンガル州Jadavpur大学と研究を開始し、Jadavpur大学post-doctoralを3ヶ月招聘したこと、Madurai Kanaraj大学post-doctoralをSTAフェローで2年間研究に従事させたこと及び本格的にインド・バングラディッシュヒ素汚染地域の人の血液、尿、爪、毛髪及び食物等の試料についてヒ素の形態分析を行った。また、UNEP及びWHO主催によるヒ素モニタリング作成会議が行われ、地下水ヒ素汚染の指針となるプロトコルの作成作業が進展している。

平成10年に引き続き内分泌攪乱物質の生活環境における存在量調査が室内空気、水道水及び化粧品について実施された。一方、内分泌攪乱性化学物質の一つである、ダイオキシン類の水道水質の指針値が示され、極微量の測定方法及び精度管理マニュアルのための体制についての在り方が検討された。

業務成績

1. 空気関係

前年度に引き続き、大気汚染の調査研究として東京都内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. 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い、わが国の飲料水水質基準を見直すため、未規制農薬類、1,4-ジオキサン等の測定方法の策定と実態調査及びそれらの毒性データの収集を昨年に引き続き行った(厚生省生活衛生局水道整備課)。

水道水及び水道原水に含まれる可能性がある内分泌攪乱性を疑われている化学物質の測定方法を設定した。また、水道用資材から溶出する可能性のある内分泌攪乱性を疑われている化学物質の測定方法を設定し、模擬溶出試験を行った(厚生省生活衛生局水道整備課)。

水道水質検査機関が規制緩和に伴い民間機関でも検査が可能となったことから、精度管理のあり方について検討し、

全国的精度管理の実施に向けた組織や実施要領等の具体案を作成した（厚生省生活衛生局水道整備課）。

3. 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副腎皮質ホルモン、塩酸ピロカルピン及びビタミンL1の試験法を作成した。（厚生省医薬安全局審査管理課）

研究成績

1. 室内空気関連

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) 建築物の多様化に対応した新たな維持管理手法の構築に関する研究では、ビル管理法が制定以来、30年近くになり維持管理上、種々の問題点が浮上してきている。又、新たな基準項目の追加等も含めてビル管理法の改正に向けて問題点の抽出、検討を行った。

(2) 近年、社会福祉施設（特別養護老人ホーム）において脱臭目的の観点からオゾン脱臭装置が使用されている。本研究においては特養ホームにおけるオゾン脱臭装置の設置状況、健康影響に関するアンケート並びに実態調査等を行い、ビル管理法の改正に向けての基礎的資料の蓄積を図った。

2) 建築物内空気質の安全性に関する研究

(1) 喘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では、建材、内装材等から放散する有機リン酸エステル類の放散量試験を行い、トリブチルホスフェート、トリス（2-クロロエチル）ホスフェート、トリクレジルホスフェート、トリス（ブトキシエチル）ホスフェート等の放散量を明らかにした。

(2) 室内空気中の化学物質が起因とされる疾患と化学物質との関連性に関する研究では、化学物質過敏症等の発症に関与が指摘されているVOCs、HCHO、有機リン化合物等の実態調査を改築住宅を中心に行った（厚生科学研究補助金）。

3) 空気中の汚染物質の分析法に関する研究

(1) 空気中のアルデヒド類の拡散型サンプラーの開発研究の一環として、今回は市販のDNPHカートリッジを用いて、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドのサンプリングレイトの算出、温度の影響、標準測定法との同時測定等の基礎的検討を行い、実用性を検証した。

(2) 神経毒性や発がん性が指摘されている有機リン化合物の粒子状及びガス状の形態別測定法並びに粒径別測定法の開発を行い、その実用性を明らかにした。

(3) シックビルディングシンドロームや化学物質過敏症等の発症に関与が指摘されているホルムアルデヒドと揮発性有機化合物について、可搬型の自動計測器の開発を行うと共に基礎実験を行い、その実用性を検証した（環境庁国立機関公害防止等試験研究費）。

(4) 内分泌攪乱性化学物質として注目されているフタル酸エステル類の形態別測定法の基礎的検討を行った。特に、

捕集媒体のロシブランクの低減化に重点をおいて検討した。

(5) 居住環境内のホルムアルデヒド濃度がガイドライン値に適合しているか否かを評価する際、現場サイドで簡単にホルムアルデヒド濃度を測定できる簡易計測器の開発と評価試験を行い、その実用性を明らかにした。

2. 水道水質関連

1) 水質基準及び試験方法の設定に関する研究

(1) 水道水の標準分析方法に関する研究（厚生科学研究費）

水質標準分析法として高速液体クロマトグラフ法による農薬ジクワット、アセフェート、メタミドホス、メソミル、ベノミル、カルバリルの測定方法を設定した。ベノミルについては、加水分解後その生成物を分析する方法を設定した。また、農薬グリホサートおよびアミノメチルリン酸については、誘導体化を行った後、高速液体クロマトグラフ法により測定する方法を設定した。グリホサート、アミノメチルリン酸および農薬カルボフランについて、高速液体クロマトグラフーポストカラム法による測定方法を設定した。エンドスルファン α および β 、トリフルラリンについてGC/MS法による分析方法の検討を行った。

(2) 水中の環境汚染物質の分析方法に関する研究（厚生科学研究費）

非イオン界面活性剤、陰イオン界面活性剤およびそれらの環境中での分解産物について、LC/MS法による分析結果と従来から使用されている発色法による分析結果を比較検討し、個別分析のための情報を提供した。

(3) 水中生物の検査方法の開発に関する研究

標準計数板（特許申請中）を作製し、一昨年までに確立した再現性が高く精度のよい水中生物の定量法の実態調査に向けた検討を行った。さらに、測定方法に関する手引きとしてCD-ROMを作成した。

(4) 未規制物質の水質ガイドライン策定のための評価に関する研究

内分泌系をかく乱する疑いのあるエンドスルファン α および β 、トリフルラリン、ベノミル、メソミル、カルバミル、カーボフラン等の農薬類について、ヒトに対する健康影響に関する文献調査を行った。

2) 水道用薬品または水道用品の安全性に関する研究

(1) 水道用品等の安全性に関する研究

水道用品から水道水に溶出する恐れのあるビスフェノールA、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ジ-n-ブチル、ノニルフェノールなどの溶出の程度を調べた。水道用資機材のアクリルアミドモノマー、二酸化塩素、銀の分析方法と安全性に関して検討した。

(2) 水道用塗料の衛生性に関する研究

水道用ダクタイル鋳鉄管内面エポキシ樹脂粉体塗料と鋼管用無溶剤型エポキシ樹脂塗料の水道水への溶出の程度

と、塩化ビニルモノマー、スチレンモノマー、エピクロロヒドリンの溶出に関して検討した。

3) 水道水の安全性評価に関する研究

(1) 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 (国立機関公害防止等試験研究費)

シトクロム P450A1 遺伝子制御領域に対するペルオキシゾーム増殖因子受容体結合活性を指標として確立した環境汚染物質評価法を用い、河川水抽出物、塩素処理河川水抽出物および一般焼却場排水等の環境試料に対する応答を調べた。塩素化有機化学物質に対する応答と濃度の間に相関関係が認められた。

(2) 界面活性剤の水道水水域及び利水過程における挙動と適正管理に関する研究 (国立機関公害防止等試験研究費)

1,4-ジオキサンの肝シトクロム P450 に対する影響を初代培養ラット肝細胞を用いて検討し、1,4-ジオキサン暴露によって CYP2B1/2 が濃度依存的に誘導されることを明らかにした。

(3) ダイオキシン等内分泌系攪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 (国立機関公害防止等試験研究費)

オクチルフェノールポリエトキシレート of 生物分解物であるオクチルフェノールモノエトキシレートやオクチルフェノキシ酢酸のエストロゲン様活性について酵母 Two-Hybrid System 法を用いて検討した。この試験法では、これらの化合物はエストロゲン様活性が極わずかにのみ認められることを明らかにした。

(4) 水道水における化学物質の毒性、挙動及び低減化に関する研究 (厚生科学研究費)

二酸化塩素処理マイクロシスチン-LR 溶液中にマイクロシスチン様の活性を持つ未知化合物が残存していることを、初代培養ラット肝細胞を用いて明らかにした。

(5) 内分泌かく乱化学物質の水道水からの暴露などに関する調査研究 (厚生科学研究費)

モデル浄水処理過程の各段階から分取した試料水の抽出濃縮試料中に含まれるエストロゲン受容体結合親和性を有する化学物質の挙動を、蛍光偏光競合アッセイ法を用いて調べた。抽出濃縮試料に含まれる蛍光物質が測定を妨害する可能性を示した。蛍光物質またはエストロゲン受容体結合物質は、高度浄水処理で削減されていること示唆する結果を得た。

酵母 Two-Hybrid System 法による化学物質のエストロゲン様活性の比較検討結果から、ベンゼン環の官能基の位置に対してパラ位に水酸基が存在することが活性の強さに重要であることを明らかにした。

(6) ラット肝細胞及び肝ミクロソームのエストロゲン代謝に対する環境化学物質の影響に関する研究 (文部省科学

研究費)

HPLC-ECD によるエストロゲン代謝物の測定法を確立し、4-tert-オクチルフェノール関連化合物によるシトクロム P450 の誘導とそれに伴うエストロゲン代謝の変化を初代培養ラット肝細胞を用いて明らかにした。

4) 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

我が国で行われている外部精度管理の現状を調査し、具体的な実施例をまとめた。諸外国での外部制度管理の制度、国際規格に基づく認定制度を調査した。これらの調査結果を基にして、我が国で水質検査における外部制度管理を実施の際の要綱の一提案例をまとめた。また、今後精度管理を実施する際の問題点を整理し、まとめた。

全国的に同一試料で行われた分析結果に関して、測定技術や測定結果の解析方法等について、精度向上や信頼性の確保に必要な点を解析した。(厚生省生活衛生局水道整備課)

(2) 水質危機管理システムの構築に関する研究

我が国で実施されている水道水質の危機管理システムの現状を調査し、まとめた。現在使用されている危機管理システムの原理と対象物質の種類、適用範囲、実際の使用状況を想定したモデル実験の結果を検討し、今後の危機管理システムを考察した。

(3) 水道原水中の有害物質監視に関する研究

農薬類等、水道原水中に含まれている可能性のある有害化学物質約 150 種類についての実態調査結果をまとめ、検出頻度、最高濃度、測定の定量下限値などについて検討した。

3. 化粧品など経皮暴露関連

1) *In vitro* 試験法を用いた化粧品の安全性評価法およびその国際ハーモナイゼーションに関する研究では、試験項目として、OECD ガイドライン化が検討されている経皮吸収試験を城西大学薬学部森本教授と共同して実施した。実験方法は、縦型の Franz 型拡散セルを用い、防腐剤の一種であるメチルパラベンおよびエチルパラベンが 32℃ でモルモットの腹部剥離皮膚を透過する際の透過速度、lag time および市販化粧水にそれら防腐剤を添加したときの透過速度、lag time の変化を検討した (厚生科学研究補助金)。

2) 医療材料などにおけるエンドクリン阻害物質に関する研究では、化粧品および医薬部外品に含まれると想定されるエンドクリン阻害物質として爪化粧品の溶剤に用いられるフタル酸ジエチルを取り上げた。0.05% フタル酸ジエチルの 20% エタノール溶液 1.0ml をモルモットの腹部剥離皮膚が装着された Franz 型拡散セルに加え、32℃ で receptor 側に透過するフタル酸ジエチルを測定したとき、フタル酸ジエチルは 12.4 時間の lag time の後、receptor 側に現れ、その透過速度は $2.1 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ であった。界面活性剤のドデシル硫酸ナトリウムあるいは塩化ベンザルコニウムで 2 時間処理された剥離皮膚を透過するフタル酸ジエチル量は約

2倍増加した（厚生科学研究補助金）。

3) 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では、スクワレンモノヒドロペルオキシド（SQOOH）の正常ヒト表皮ケラチノサイト及び3次元培養細胞に対する細胞毒性への影響について検討し、SQOOHがラジカル連鎖反応により細胞膜脂質を過酸化し、IL-2あるいはIL-4放出量の増加を引き起こして細胞毒性を発現することを示唆した。更にSQOOHの肥満細胞の脱顆粒に与える影響についても検討し、SQOOHが細胞毒性を生じない濃度でも脱顆粒を引き起こすことを示唆した。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粒子径によるOHラジカルの生成量及び細胞毒性の差違並びに抗酸化剤の影響について検討した。

4) 生活環境からのアトピー性皮膚炎等の増悪化学物質の検索と評価法に関する研究 化粧品、家庭用品で接触皮膚炎あるいはアトピー性皮膚炎等の報告がなされている化学物質の検索を行うと同時にそれら化学物質の肥満細胞の脱顆粒への影響について検討した（科技厅生活・社会基盤研究のうち生活者ニーズ対応研究）。

4. 暴露評価研究関連

1) *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

環境中に存在する約100種以上の有害化学物質の肥満細胞を用いる免疫異常亢進効果およびPokweed mytogenで活性化されたマウス脾臓細胞が産生するIgM産生能を指標とした評価を実施すると共に未知の環境水および2種類の化学物質を任意濃度で混合した複合試料のアレルギー誘発性およびIgM産生能への影響を評価する試みを行った。その結果環境試料および複合試料のいくつかから有意なアレルギー誘発効果およびIgM産生能を抑制する物質の存在が認められた。このようなことから本研究で用いた*In vitro* 評価系は複雑な試料の評価にも有用であることが明らかとなった（環境庁未来環境創造型基礎研究推進制度）。

2) 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研究

インド西ベンガル州では、近年地下水のヒ素汚染を招き、ヒ素汚染地下水を引用に供する数百万の住民の皮膚ガンを始めとする深刻なヒ素被害が発生している。インド国側の協力機関として、インド西ベンガル州のJadavpur大学Dr.Chakrabortiとの共同研究を実施し、ヒ素中毒患者からの尿、毛髪、爪中のヒ素含量測定およびヒ素形態分析を実施した（科技厅国際共同研究総合推進制度：二国間型）

3) カドミウムの閾値設定に関する研究

JECFAでは、長年にわたって懸案となっているカドミウムの閾値設定について2000年6月に結論を出すの方針を打ち出したが、我が国でもこれに対応した閾値設定の根拠となる研究を1997年より病理部、国立環境研究所、東京都立衛生研究所等と実施し、その中間報告をJECFAに提出し

た。

4) WHOヒ素モノグラフ作成について

この10～20年来、発展途上国等で未開発地域での地下水汲み上げによるヒ素汚染問題が大きな問題となっている。これを受けてUNEP及びWHOでは、地下水ヒ素汚染とそれの飲用による人のヒ素慢性中毒の広がりを防止する観点から、ヒ素モノグラフ作成会議が行われ、地下水ヒ素汚染の指針となるプロトコルの作成作業が進展している。

食 品 部

部 長 豊 田 正 武

概 要

平成11年度の食品衛生分野において特記すべき事は、組換え食品の安全性に対する消費者の不安感が高まり、また農林水産省の組換え食品の表示への動きと相まって、輸入食品中における組換え食品の検知技術の開発が必要となったことである。当部も厚生省のバイオ食品に関する研究班に分担研究班として参加し、検知法の開発を行うとともに消費者団体より指摘されたスナック菓子への安全性未確認遺伝子組換えトウモロコシ混入の有無について分析を実施した。食品化学課は西暦2000年までに200農薬に残留基準値を設定する目標を立てていたが、当部は分析法作成及び曝露評価の精密化の部分に全面的に協力し、199農薬の残留基準値の設定が可能となった。引き続き、食品保健課、乳肉衛生課と協力しダイオキシン類等の食品汚染実態調査及びトータルダイエツスタディーによる1日摂取量を調査し、平成10年度の食事由来のダイオキシンの1日摂取量は22年前の約1/3であることを初めて明らかにした。また食品中ダイオキシンの測定法暫定ガイドラインを新規に作成した。

通常業務として、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、照射食品の検知法に関する研究、また組換え食品のアレルゲン性の実験動物による評価に関する研究、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。

人事面では、平成12年3月31日付けで鈴木隆室長が割愛となり京都府立大学へ教授として赴任することとなった。これに伴い4月1日付けで松田りえ子主任研究官が室長に昇格した。また平成10年12月1日よりHS財団流動研究員として派遣されていた佐久嶋順一郎博士を、平成11年12月1日より科学技術特別研究員として受け入れた。さらに六鹿元雄博士をHS財団流動研究員として平成12年4月1日より受け入れた。

海外出張では豊田正武部長は、GEMSのトータルダイエ

ットに関するワークショップに発表のため米国・カンサス市に出張(平成11年7月25日~8月1日)した。また組換え食品に関するEU委員会の現状視察のためベルギー・ブリュッセルのEU本部及びイタリア・イスプラのEUジョイントリサーチセンターに出張(平成12年4月9日~15日)した。鈴木隆室長は、第6回ハイフネーテッドクロマトグラフィー国際シンポジウムに発表のため出張(平成12年3月8日~13日)した。宮原誠主任研究官は、食品の安全性と品質を保証する照射に関する国際会議に出席のためトルコ・アンタリアに出張(平成11年10月17日~24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

超臨界流体抽出を用いた茶葉中の残留農薬の多成分分析法を開発し、有機溶媒抽出法と比較した(厚生省生活衛生局生活安全総合研究)。

ロ) 残留農薬基準値未設定農薬の残留分析に関する研究

アシベンゾラルSメチル及びシプロジニ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)。

ハ) 残留農薬告示分析法見直しに関する研究

酸化フェンブタズ、シヘキサチン、イナベンフィド、キノメチオネート及びクロフェンテジンについて、コラボラティブ・スタディーを行って分析法を評価した(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

キザロホップのLC/MS測定について検討した。

ホ) 農作物における複数農薬の残留実態調査研究

輸入農産物について複数農薬残留実態調査を実施した(厚生省生活衛生局生活安全総合研究)。

2) 内分泌攪乱化学物質に関する研究

食品中ビスフェノールAの微量分析法を開発し、各種食品について汚染実態を調査した(厚生省生活衛生局生活安全総合研究)。

3) 有機スズ化合物の衛生化学的研究

マダイの塩化トリブチルスズ代謝に及ぼすPCBの影響を検討した(科学技術庁)。

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

オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン、テトラサイクリン、ジクラズリル、ナイカルバジンの検査法を確立すると共に残留実態調査を実施した(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に関する研究

イ) ダイオキシン類の分析法に関する研究

食品中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの測定法ガイドラインを作成した(厚生省生活衛生局生活安全総合研究)。

ロ) ダイオキシン類の外部精度管理に関する研究

14機関について標準試料を用いて外部精度管理を実施した(厚生省生活衛生局生活安全総合研究)。

ハ) ダイオキシン類の汚染実態調査に関する研究

36種食品中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの汚染実態調査を行った(厚生省生活衛生局生活安全総合研究)。

ニ) ダイオキシン類の1日摂取量の経年変化に関する研究

昭和52年から平成10年の間の6トータルダイエツト試料により1日摂取量を推定し、1/3に減少していることを明らかにした(厚生省生活衛生局生活安全総合研究)。

6) かび毒の分析法及び汚染実態調査に関する研究

アフラトキシンの分析法の改良と広範な食品への応用性を検討した(厚生省生活衛生局生活安全総合研究)。

2. 汚染物モニタリングと情報

1) 全国から収集されたモニタリングデータは約253万件に達した。これらデータの保存用のサーバを食品部に設置した(厚生省生活衛生局生活安全総合研究)。

2) 全国10機関からのトータルダイエツト試料をもとに農薬・重金属等汚染物について摂取量調査を行った(厚生省生活衛生局生活安全総合研究)。

3. 新開発食品等の評価に関する研究

1) バイオテクノロジー応用食品の安全性評価に関する研究

イ) 組換えトウモロコシからの品種特異的な組換え遺伝子の検知法を開発した(厚生省生活衛生局生活安全総合研究)。

ロ) スナック菓子からの組換え遺伝子の検知を行った(厚生省生活衛生局生活安全総合研究)。

ハ) 遺伝子組換え食品の腸内分解性及びアレルギー性を試験管内で調べ、動物実験でアレルギー性の有無を検討した(厚生省生活衛生局生活安全総合研究)。

2) 新開発食品の食品化学的特性の解析と評価に関する研究

人参、赤大根、リンゴ未熟果及びリンゴ酒における抗アレルギー活性を検索した(HS財団受託研究)。

3) 抗酸化性物質の生理機能解明に関する研究

カテキンとプロアントシアニジンについて細胞内活性酸素の関与とCaチャンネルへの影響を検討した(特別研究)。

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、コメットアッセイ法の基礎的検討を行なった(国立機関原子力試験研究費)。

食品添加物部

食品添加物部長事務取扱(副所長) 三 瀬 勝 利
前部長 山 田 隆

概 要

当部の主要業務は化学的合成添加物、既存添加物、器

具・容器包装、玩具等に関する試験、研究業務であるが、他に、第7版食品添加物公定書英文版の作成や、既存添加物名簿収載品目リストに対して、平成11年度に追加・訂正の申出があった事項につき、その妥当性を確認するための調査を行った。また、ヒューマンサイエンス振興財団の受託研究として、「食品添加物の開発手法及び食品添加物の品質・安全性の評価・試験方法に関する研究」を行っている。

人事面では、山田隆前部長が平成12年3月31日付で定年退職し、三瀬勝利副所長が平成12年4月1日付けで食品添加物部長事務取扱となった。STAフェローとして受け入れたKavita Shah氏が平成11年6月30日退職した。ヒューマンサイエンス振興財団流動研究員の劉宏民(Liu Hong-Min)教授が平成12年1月31日で退職した。

海外出張としては、河村葉子室長が第53回FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会に出席のため、イタリアに出張した(平成11年5月30日～6月12日)。山田隆部長、石綿肇室長、佐藤恭子主任研究官は、AOAC国際学会に出席のため米国に出張した(平成11年9月26日～9月30日)。杉本直樹技官は、第8回国際天然物化学シンポジウムで発表のため、パキスタンに出張した(平成12年1月18日～1月24日)。米谷民雄室長と秋山卓美技官は、HPCE2000(第13回キャピラリー電気泳動及び関連技術に関する国際シンポジウム)で発表のため、ドイツに出張した(平成12年2月19日～2月26日)。

業務成績

(1) 地方衛生研究所、厚生省指定検査機関の協力の下に、食品中からの食品添加物分析法の検討を行った(食品添加物規格基準設定費、生活衛生局食品化学課)。

(2) 地方衛生研究所、指定検査機関等との共同により、マーケットバスケット方式で食品添加物の摂取量調査を行うため、食品中の食品添加物の分析を行った(食品等試験検査費、生活衛生局食品化学課)。

(3) 輸入アップルシロップ中の着色料の試験を行い、表示と異なり、カルミン酸ではないことを確認した(食品等試験検査費、生活衛生局食品保健課検査所業務管理室)。

(4) 天然甘味料テンリョウチャ抽出物及びラカンカ抽出物の主甘味成分を同定し、定量した(食品添加物規格基準設定費、生活衛生局食品化学課)。

(5) 灰干しワカメに使用される木灰中の重金属含量について検討した(生活衛生局食品化学課)。

(6) 特別用途食品評価検討会第2部会および第5部会(生活衛生局食品保健課新開発食品保健対策室)、食品衛生調査会食品規格部会精度管理分科会(生活衛生局食品保健課)、医薬品添加剤規格の国際調和作業(医薬安全局審査管理課)に協力した。

研究業績

1. 食品添加物等の規格基準設定に関する研究

(1) アセスルファミカリウムの新規試験法による試供品の品質、純度、含量等について検討した(食品等試験検査費、生活衛生局食品化学課)。

(2) 「食品中の食品添加物分析法」の中で、人体や環境に有害な試薬を使用している項目を拾い出し、今後の改訂の資とした(厚生科学研究費、生活衛生局食品化学課)。

(3) クチナシ赤色素製品のメタノール含量、分子量につき検討した(厚生科学研究費、生活衛生局食品化学課)。

2. 食品添加物等の安全性に関する研究

(1) 食品中の指定外添加物であるポリソルベートについてHPLCによる粉末スープ中の分析法を開発した(厚生科学研究費)。

(2) 1996年度の行政検査結果に基づいた食品添加物の摂取量調査に関して、16種の添加物の調査がすべて完了した。ADIの設定されている食品添加物の摂取量は、全てADI以下であった(厚生科学研究費)。

(3) 不許可保存料であるヘキサミン及びホルムアルデヒドのHPLCによる分別定量法について検討し、ポストカラム測定法を開発した(厚生科学研究費)。

(4) 中毒試料中の原因物質(重金属)の同時分析法につき検討した(厚生科学研究費、生活衛生局食品保健課)。

(5) たばこ中の化学成分につき、GC/MSによる分析を実施した(厚生科学研究費、健康政策局)。

(6) トリプトファン製品による好酸球増多筋肉痛症に関する文献調査を実施した(厚生科学研究費、生活衛生局食品保健課)。

(7) 重金属と血清成分の結合状態を、HPLC/高分解能ICP-MSを用いて解析した(科学技術振興費)。

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) 天然物に糖を結合させた天然添加物である酵素処理ナリンジンについて主成分及び副成分の構造解析を行い、製造中に副反応が起きていることを明らかにした(創業等ヒューマンサイエンス総合研究事業)。

4. 器具・容器包装等の安全性に関する研究

(1) ポリ塩化ビニル製品中に残存する可能性のある化学物質の一斉分析法を開発し、内分泌かく乱作用が疑われるフタル酸エステル類、ノニルフェノールなどの残存実態を明らかにした(科学技術振興調整費、科学技術庁)。

(2) 飲料中のビスフェノールA含有量が高かった銘柄の缶及びその改良缶を用いて、ビスフェノールAの溶出メカニズム及び溶出原因の解明を行った(厚生科学研究費、生活衛生局食品化学課)。

(3) ポリエチレンシートに練り込んだ酸化防止剤及び紫外線吸収剤28種類について、各種溶出溶媒、溶出温度、溶出時間を設定して溶出量を調べ、各化合物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)。

(4) 天然ゴム製器具類中の残存化学物質の検索を行い、酸化防止剤、可塑剤、滑剤のほか、加硫促進剤のジチオカルバミン酸亜鉛類、及び植物ステロール類などが検出された。さらにそれらの溶出傾向も検討した(厚生科学研究費、生活衛生局食品化学課)。

(5) 玩具からのフタル酸エステル類の溶出に関し、ヒトによる試験片からのチューイングによる溶出と化学実験のシミュレーションによる溶出との比較検討を行った(厚生科学研究費、生活衛生局食品化学課)。

有 機 化 学 部

部 長 宮 田 直 樹

概 要

平成11年度の研究業務として、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、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、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。主な研究プロジェクトとしては、今年度から新たに、科学技術庁科学技術振興調整費総合研究「機能性材料ライブラリー創製を目的とした固相精密合成法の開発」、及び、厚生科学研究補助金による「化学物質の活性酸素毒性の定量的評価手法に関する研究」を開始した。また前年度から引き続き、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」、及び、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」を実施した。

学会出席のための短期外国出張としては、宮田と山越葉子技官が、平成11年5月1日より9日まで米国に出張し、シアトルで開かれた195th Meeting of the Electrochemical Society (第195回電気化学会)に出席し、光励起C60が引き起こすDNA損傷の生物作用活性種に関する最近の研究発表を公表した。また、宮田と山越が、平成11年8月27日より9月4日までフランスに出張し、カステラーベルドザンで開かれたFullerenes '99 (フラーレン'99)に出席し、光励起フラーレンの生物作用、並びに、フラーレンの酵素活性阻害作用について研究成果を発表した。また、宮田が、平成11年11月17日より24日まで米国に出張し、ニューオーリンズで開かれたOxygen '99: 6th Annual Meeting of the Oxygen Society (第6回酸素学会年会)に出席し、フラーレンの光励起特性について研究成果を発表した。

長期外国出張としては、山越が、科学技術振興事業団長期在外若手研究員として、昨年度から平成13年3月30日

までの予定で、スイス連邦工科大学F. Diederich教授のもとで「人工超分子による選択的分子認識と機能発現に関する化学的研究」を研究を行っている。

国際会議のための外国出張としては、宮田が、平成11年4月12日より21日までスイスに出張し、ジュネーブのWHOで開かれた29th Consultation on Nonproprietary Names for Pharmaceutical Substances (第29回医薬品国際一般名(INN)策定委員会)に出席するとともに、チューリッヒにあるスイス連邦工科大学(ETH)のProfessor Diederichの招きで、ETHを訪ね、講演並びに研究打ち合わせを行った。

研究員の受け入れについては、Abu Shara Shamsaru Roufが、医薬品機構の派遣研究員として、平成11年10月31日まで研究を行った。また、中西郁夫博士が、平成11年11月1日より流動研究員(平成11年12月31日まで日本食品協会リサーチレジデント、平成12年1月1日より科学技術振興事業団科学技術特別研究員)として加わった。また、寒水壽朗博士が、医薬品機構の派遣研究員として平成12年1月1日より研究を開始した。また、日本大学生物資源科学部助教授西尾俊幸博士が、引き続き協力研究員として核磁気共鳴装置を利用した生理活性糖誘導体の構造並びに機能解析に関する研究を行っている。

厚生省試験研究機関共同利用大型機器(傾斜磁場型600 MHz核磁気共鳴装置)及び所内共同利用機器(500, 400, 及び300 MHz核磁気共鳴装置)の管理は、栗原正明第1室長、福原潔主任研究官が行った。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。

有機化学部主催の特別講演会として、平成12年1月20日に「フリーラジカルによる塩基配列特異的DNA損傷一発ガンと老化との関連—(三重大学医学部衛生学教室川西正祐教授)」を開催した。

宮田と末吉祥子第2室長は、厚生省日本薬局方調査会委員として、日本薬局方の規格の作成、並びに、収載品の化学名や構造式の決定と改正に従事した。また、宮田は、厚生省中央薬事審議会医薬品名称調査会委員として医薬品の一般名(JAN)の決定に、また、世界保健機関/国際医薬品一般名命名委員会(WHO/INN)委員として国際一般名(INN)の選定作業に従事した。また、末吉は、日本化粧品工業連合会全成分表示名称専門委員会命名部会のアドバイザーとして、化粧品全成分表示名称リストの作成に協力した。

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) 抗酸化剤の抗酸化メカニズムの解明に関する研究: 分子軌道計算及びLC/MSなどを用いてカテキン類の抗酸化作用機構を明らかにした。(一般研究費)
- 2) パーオキシナイトライトを発生する化合物の合成と機能解析: SIN-1類似化合物としてN-ニトロソアリアルグリシン誘導体を合成した。合成した化合物から一酸化窒素とヒドロキシラジカルが生成することを確認し、パーオキシ

ナイトライト遊離化合物としての可能性を明らかにした。(一般研究費)

3) 代謝活性型NOドナーの開発：合成アミジン類について酸化剤存在下におけるNO発生能を測定し、トリアゼノアミドオキシム誘導体が新規のNOドナーとして有用であることを見出した。(文部省科学研究費補助金)

4) 光線力学療法を目的とした光活性型NOドナーの開発：芳香族ニトロ化合物が光照射によってNOを発生してDNAを切断することから、がん光線力学療法のファルマコフォアとして有効であることを明らかにした。(創薬等ヒューマンサイエンス総合研究)

5) 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：サイトカラシン類とHIVプロテアーゼとのコンピュータによるドッキングスタディーを行い、阻害機構仮説を提示した。(国立衛研特別研究費)

6) 非ペプチド型HIVプロテアーゼ阻害剤の分子設計と合成：HIVプロテアーゼ阻害活性を有する天然アルカロイド類から発想した非ペプチド型阻害の分子設計を行い、中間体の合成を行った。(一般研究費)

7) 薬効成分を有する天然物の安全性に関する研究：Aristolochic acid I, IIを出発原料とし、高収率でAristolactams I, IIの合成を行った。(厚生科学研究費補助金)

8) 酵素反応がトリガーとなり活性化されるエンジン類の分子設計と合成：コンピュータを用いた分子化学計算により、酵素反応がトリガーとなり活性化されるエンジン類の分子設計を行った。(文部省科学研究費補助金)

9) 生理活性を有するポリアゼン類の無溶媒条件下合成法に関する研究：各種の対称性ビスニトロソ尿素誘導体及び関連するアザポリエン類を合成した。(一般研究費)

10) 光活性型NOドナーの開発：分子軌道計算法により芳香族ニトロ化合物からのNOの発生機構について検討を行った。更にDNAに親和性を有する光活性型NOドナーの分子設計を行った。(一般研究費)

11) 機能性材料ライブラリー創製を目的とした固相精密合成法の開発：固相合成法によりフラレン誘導体のライブラリーを構築する目的で、フラレンの誘導体化反応を行い、誘導体合成に有用な官能基変換を達成した。(科学技術庁振興調整費)

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) 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：レスベラトロールはCu(II)とDNAに対して強い親和性を示し、酸素分子を還元活性化することによって生成した酸素ラジカルが効率良くDNA鎖を切断することを明らかにした。(一般研究費)

2) 化学物質の活性酸素毒性の定量的評価手法に関する研究：スピントラッピング-ESR法を用いて、化学物質から

発生するラジカル性の活性酸素種の種類並びに生成量の比較検討を行い、二種類のスピントラッピング剤を用いることにより、水酸ラジカルとスーパーオキシドの分離定量が可能であることを明らかにした。(厚生科学研究費補助金)

3. 薬物と生体分子の相互作用の解析に関する研究

1) DPV法を利用した簡便なりガンドレセプター相互作用解析手法の開発：化学物質と生体分子との相互作用を電気化学的手法により解析することを試み、 $10\mu\text{M}$ レベルでの分析を達成した。(文部省科学研究費補助金)

2) 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：遺伝子機能発現の制御が可能なペプチドモチーフの検討を行い、転写調節因子及びヒストンのDNA結合ドメインがDNAに対して塩基選択的に結合することを明らかにした。(一般研究費)

3) 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：レチノイド活性候補化合物としてウレア化合物8種の合成を達成した。(医薬品機構基礎研究推進費)

4) 光励起されたC60, C70の生体分子との反応に関する研究：電気化学的手法によりC60のアニオンラジカルを発生させ、C60アニオンラジカルから酸素分子への電子移動反応を証明した。(一般研究費)

以上の研究は、駒沢由香学士(東京薬科大学生命科学部分子生命科学科分子生化学研究室：高橋健治教授)、芝順一実習生(日本大学生物資源科学部農芸化学科生物有機化学研究室：奥忠武教授)、湯川由紀子及び梶谷亜沙子実習生(共立薬科大学有機薬化学教室：望月正隆教授)、杉山悦子実習生(昭和女子大学生生活科学部：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、The 195th Electrochemical Society Meeting (アメリカ)、第21回磁気共鳴医学会-第3回SFRR Japan合同学会(札幌)、1999年計算化学討論会(東京)、第17回フラレン総合シンポジウム(岐阜)、Fullerene '99(フランス)、日本薬学会第43回関東支部大会(東京)、第36回ペプチド討論会(京都)、第72回日本生化学会大会(横浜)、第25回反応と合成の進歩シンポジウム(富山)、6th Annual Meeting of The Oxygen Society: Oxygen '99(アメリカ)、第16回日本薬学会九州支部大会(長崎)、日本環境変異原学会第28回大会(岐阜)、第14回生体フリーラジカル研究会(東京)、第2回日本-台湾科学技術交流セミナー(岡崎)、日本薬学会第120年会(岐阜)、などで学会発表するとともに、Tetrahedron Letteres, Peptide Science, Cancer Letters, Magnetic Resonance in Medicine, JCPE Journal, Free Radical Biology and Medicine, Fullerene Science and Technology, Polycyclic Aromatic Compounds, 季刊化学総説, Bull. Natl. Inst. Health Sci., 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、創薬等ヒューマンサイエンス総合研究報告書、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(基盤研究, 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11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継続して行ったが, 主たる研究業務は, 薬物アレルギー, 食物アレルギー, プリオン蛋白に関わる研究であった。また, 池淵第二室長を中心にRI管理に関する業務を行った。人事面では, 引き続き池淵第二室長が, 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医療法施行規則等の改正に関する業務を担当した。カナダのトロント大学に留学していた斎藤嘉朗技官は, 平成12年1月30日に帰国した。また, 同技官は平成11年4月1日付で主任研究官に昇格した。

研究実績

1. 免疫担当細胞の機能に関する研究

(i) 免疫毒性試験法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。また, 有機リン系並びに含窒素系農薬をモデル系として用い, アレルギー亢進指標をいくつか検討した(厚生科学研究費)。

(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並びに神経系細胞との相互作用に関する研究を行った(文部省科学研究費)。また, 薬物過敏症の安全性評価への応用を目的として, マスト細胞から遊離されるケモカイン等の種々の因子の測定法の検討を行った(特別研究費)。さらに, 化学物質, 食品及び遺伝子組換え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及び, ヒト血清を用いるインビトロでの抗原性の確認法に関する研究に着手した(厚生科学研究費)。

(iii) 薬物アレルギーのインビトロ試験法を開発する目的で, 抗原提示蛋白質に結合するペプチドを検討し, その標識法について検討した(国立機関原子力試験研究費)。

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) マウス細胞における成長ホルモン受容体の分解機構について解析を行った。

(ii) 一昨年度樹立したOBCAM(オピオイド結合性細胞接着分子)発現細胞株を用いて, OBCAMの神経突起伸長作用について検討した。

(iii) OBCAM結合活性を有する蛋白質をラット脳P2画分からファーウェスタン法によって検出した。

3. モノクローナル抗体の機能変換等に関する研究

(i) モノクローナル抗体の抗原特異性の改変の遺伝子工学的手法について検討した。

(ii) 血液脳関門透過性抗体を調製する目的で, 脳に発現する蛋白質に対する抗体(scFv)の発現用プラスミドの作成を試みた(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) 食品や意薬品原材料への異常プリオン蛋白の汚染を想定した高感度イムノアッセイ法を開発を目的として, ウシとヒトのプリオン蛋白質のイムノアッセイに利用可能な抗体を作製した。また, 微量のプリオン蛋白質を抗体を用いて選択的に濃縮する方法を検討した(厚生科学研究費)。

代 謝 生 化 学 部

副 所 長 三 瀬 勝 利

概 要

平成11年度の研究として, 1. 生体における情報の受容・代謝変化に関する研究, 2. 脂質代謝を介する生体機能制御に関する研究, 3. 心筋の機能制御と病態・創薬に関する研究, 国際行政協力としては, WHO/FAO残留農薬合同会議毒性評価ドラフト作成及びICHガイドライン作成があった。人事に関しては, 平成12年3月31日付けで藤森親之助部長が定年退職した。

業務関連の海外出張として, 藤森部長はWHO/FAO残留農薬合同会議(平成11年9月20日~10月1日, イタリア)およびICH-S7安全性薬理試験ガイドラインEWG会議(平成11年10月4日~9日, ワシントン)で討議・作業を行った。研究関連の海外出張として, 最上知子室長がヒューマンサイエンス振興財団国際共同研究費によりオタワ大学心臓研究所訪問のためカナダへ出張した(平成11年9月19日~10月2日)。また, 佐藤陽治技官が米シンシナティ大学心臓血管研究センターからの招聘費により遺伝子改変モデル解析技術指導のため米国へ出張した(平成11年6月3日~7月3日, 11月25日~12月23日)。

研究業績

1. 生体における情報の受容・代謝変化に関する研究

(1) 白血球の機能発現に関わるアクチン結合蛋白の活性制御に関与する蛋白を検索するファージディスプレイ系を確立した。(ヒューマンサイエンス振興財団補助金)

(2) コフィリンの発現量を低下させるアンチセンスオリゴヌクレオチドをデザインした。(文部省科学研究費補助金)

(3) 環境中内分泌攪乱物質が生体防御系に与える影響の指標として, 未分化培養白血球細胞株を用い分化過程にお

る影響を検討するアッセイ系を確立した。(環境庁公害予算)

2. 脂質代謝を介する生体機能制御に関する研究

(1) 代謝性因子を標的とした高脂血症の予防・治療薬の開発に関する研究を行い、VLDL形成過程とホスファチジルコリン合成の役割の解明を行った。(ヒューマンサイエンス振興財団委託金)

(2) アポリポ蛋白分泌制御におけるアポB糖鎖の機能に関する研究を行い、N末端 α 1ドメインの糖鎖機能を解析した。(文部省科学研究費補助金)

3. 心筋の機能制御と病態・創薬に関する研究

(1) トランスジェニック動物を用いて心筋小胞体カルシウム制御タンパク質リン酸化におけるA-キナーゼアンカリングタンパク質(AKAP)の生理的役割を検討した。(文部省科学研究費補助金)

(2) トランスジェニック動物を用いて心筋小胞体カルシウム制御タンパク質ホスホランバンの新規心疾患治療ターゲットとしての可能性を検討した。(試験一般)

(3) アクチン重合・脱重合に関与するアクチン結合タンパク質の心筋病態における変化を遺伝的心肥大モデルおよび圧負荷心不全モデルを用いて明らかにした。(ヒューマンサイエンス振興財団補助金)

4. 医薬品・化学物質等の安全性評価のための技術開発に関する研究

(1) 医薬品等国際ハーモナイゼーション会議(ICH) S7安全性薬理試験ガイドラインについて0.5案からStep 2に到達した。(厚生科学研究補助金)

衛 生 微 生 物 部

部 長 棚 元 憲 一

概 要

医薬品、食品等における微生物学的試験及び研究を進展させた。

人事に関しては平成12年4月より棚元憲一部長が国立感染症研究所の食品衛生微生物部長の兼任となった。平成11年7月より1年間の予定で、菊池裕主任研究官が厚生省厚生科学課兼任となっている。平成11年11月29日より同12月10日まで室井正志室長が行政研修(研究職室長級)に所の代表として参加した。平成11年12月～平成12年2月の間、STAフェローとしてTimothy J. Dvorak氏を米国USDA/ARS, NCAUR研究所より迎えた。平成12年4月より台湾から洪志駿博士をヒューマンサイエンスのリサーチレジデントとして迎えた。また平成12年5月よりバングラデッシュからSTAフェローとしてMD. Mostafitur Rahman教授を迎え、いずれも内分泌かく乱物質と細菌毒素作用との相

関に関する共同研究等を行っている。

海外出張に関しては、棚元憲一部長、高鳥浩介室長、及び室井正志室長が、平成12年2月11日より19日まで、米国に出張し、CDC, FDA等において二国間共同研究の一環として情報・意見交換を行った。

業務成績

1. 特別審査

合計2件について特別審査を行った。

2. 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)、新医薬品に用いる品質評価技術を高度化するための調査及び研究(医薬安全局)、殻付き卵のサルモネラ汚染の制御に関する研究、と畜場および食肉のHACCPに関する研究(生活衛生局乳肉衛生課)、調理施設と食品製造業における衛生管理に関する研究、農産物の微生物汚染実態に関する研究、調理施設におけるドライシステムによる微生物制御の有用性評価に関する研究(生活衛生局食品保健課)、JIS-Z-2911「かび抵抗性試験法」の改定作業(日本規格協会・通産省工技院標準部)、生活環境中の汚染物質の存在状況に関する研究報告(公害健康被害補償予防協会)等が行われた。

3. その他

中央薬事審議会の各調査会(医薬安全局審査管理課)、食品衛生調査会(生活衛生局食品保健課、乳肉衛生課)、HACCP主任技術者講習(生活衛生局食品保健課、乳肉衛生課)、食品保健特殊技術講習(生活衛生局食品保健課)、毒素等国際規制対策推進研究調査委員会(通産省基礎産業局生物化学産業課)、生物化学的プロセスの標準化に関する調査研究委員会(日本規格協会・通産省工技院標準部)、日米有毒微生物専門部会(UJNR)などに協力した。

研究業績

1. 内毒素に関する研究

シナモン由来の内毒素活性抑制物質について、化学的性状と、抗LPS活性の検討を行い、活性中心は脂質部分にあること、抑制物質はLPSのメディエータ産生誘導、リムルス活性、致死毒性、発熱作用を強く抑制すること、また、LPSと別投与でも致死毒性、発熱作用を有意に抑制することを見出し、応用への観点から本物質が有力な細菌内毒素の抑制物質であることを示した。

代表的な内毒素であるサルモネラ型リピドAは強いリムルス活性、マウス腹腔マクロファージ、及びJ774細胞からのTNF- α 産生誘導活性を示すが、ヒト細胞に対してまったく不活性であることを見出した。さらに活性型LPSによるヒト細胞不活化にアンタゴニストとして作用した。サルモネラ型リピドAの種特異性の発見は、内毒素疾患の治療法や試験法への考え方、さらには構造活性相関、細胞活性化機構等の内毒素研究に大きな影響を与えるものである。さ

らに分子レベルでの解析の結果、大腸菌由来のLPSはCD14+TLR2およびMD2+TLR4の伝子を導入した細胞を活性化するのに対し、サルモネラ由来のLPSはMD2+TLR4の遺伝子を導入した細胞のみを活性化することを明らかにした。また、CD14+TLR2又はMD2+TLR4の遺伝子を導入した細胞においてLPSによるNF- κ Bの活性化が起きること、MD2+TLR4の遺伝子を導入した細胞の方がCD14+TLR2の遺伝子を導入した細胞に比べLPSに対する感受性が高くなることを発見した。

2. O157に関する研究

日本でおきた集団感染の腸管出血性大腸菌(EHEC) O157:H712株について、志賀毒素2産生遺伝子とその下流部分についてのDNA塩基配列の解析を行った。その結果、1982年アメリカのハンバーガーを原因食材とした大食中毒事件の原因菌であったEHEC O157 EDL933から引き出されたバクテリオファージBP933Wと同じ配列が12株から検出された。検出されたバクテリオファージ類似塩基配列には長さの違いのあるものもあった。

食品からの腸管出血性大腸菌 O26の検出に適した増菌方法を腸管出血性大腸菌 O157に用いられている方法の中から見だし、また免疫磁気ビーズ法の有用性を示した。牛挽肉においてはTryptic soy brothで37℃6時間培養、カイワレ大根においてはnovobiocin添加改良E. coli brothでの42℃18時間培養によって全検体から分離することができた。

3. 発癌プロモーションに関する研究

形質転換実験によって発癌プロモーションに対するサイトカインの関与について調べた。TNF- α は、BALB/3T3細胞において3-メチルコラントレンでイニシエートされる形質転換を促進したが、IL-1 α は促進しなかった。しかし、活性型ras遺伝子を導入したBhas42細胞では、IL-1 α とIL-1 β はTNF- α と同様、クローン増殖を促進することから、ras遺伝子の変異によってイニシエートされた細胞では、IL-1も発癌プロモーション活性を持つことが示唆された。発癌プロモーターを含めた発癌物質の検出法としての2段階形質転換試験法の改良法のvalidation研究に参加し、改良法が試験期間の短縮、感度、再現性等の点で有用であることを示した。

4. 真菌に関する研究

主に以下の3テーマで研究を行ってきた。1) 真菌による健康障害：アレルギー、中毒、感染症と真菌について生物学的観点から研究を進めており、特にアレルギーと真菌に関する研究は他の研究機関との相互協力研究により多くの成果が得られ、報告してきた。2) 真菌試験の規格基準：工業製品や食品・医薬品での真菌試験の規定に関してJIS、ISOの抵抗性試験、医薬品試験法の規範および生物毒素の規格基準に関わった。3) 真菌の生態と生物多様性：生態研究として極限環境下からの真菌分離および真菌株の保存

(登録TSY)・分譲を行い、より多くの真菌株を収集してきた。さらに多くの研究生に対し真菌学の教育指導をおこなった。

化学物質情報部

部長 神 沼 二 真

概 要

インターネットを基盤とする全所的なネットワークシステムを更新し、ウェブで提供している情報をさらに充実した。化学物質の安全性に関わるアジアの研究機関のネットワークづくりを試みるとともに、ケミカルハザードを想定した健康危機管理対応事業を継続した。

支援業務 (業務成績)

1. 研究情報基盤の整備

科技庁の省際ネットワーク (IMnet) を利用して、大阪支所、筑波試験場を含む薬用植物栽培試験場のインターネット利用環境の整備をした。また各部がウェブで情報発信する環境づくりを支援し、ICHなど厚生省依頼を含めて、提供内容を充実した。

2. 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

第5回及び第6回CICAD原案最終検討会議 (ストックホルム, 5月; シドニー, 11月) に関沢室長が出席した。これらを通じて、日本が担当した物質を含む9物質のCICAD原案について討議した。

2) 国際化学物質安全性カード(ICSC)の作成

所外国内委員の協力を得て、日本分担分13物質のICSC原案を作成した。1999年10月 (英国) 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340物質のICSCについて日本語翻訳及び出版 (1999年12月) を支援した。

3) 化学物質のリスク評価手法のハーモニゼーション

1999年4月と2000年2月 (カーシャルトン) 及び1999年10月 (ジュネーブ) の検討会議に関沢室長が出席し、化学物質のリスク評価における不確実性係数の適用をより科学的にする手法の開発のため、データの詳細な検討に基づく研究事例を持ち寄り検討を行った。

4) GINC (Global Information Network on Chemicals) プロジェクトの推進

GINCのホームページの作成を続けた。また、2000年2月22日-25日、東京で第5および6回東京GINC会議 (化学物質の安全性に関する情報交換ネットワークの構築と促進) (海外22名, 国内16名) を開催した。

5) その他の事業

9月にジュネーブで開催されたIPCSのアドバイザー会議に神沼が出席した。また、GINCアジア計画の一環として神沼と山本が北京、広州、上海を訪問し、化学物質の安全性の東アジアネットワークの構築を進めた。

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

本年度は、内分泌攪乱関連物質のリストから構造データを含むデータベース開発を継続した。

2. 新しい分子計算法の開発

化合物や生体分子の大きな分子系を計算できるフラグメントMO法（略ab initioベア近似計算法）のプログラムを開発し、リゾチームなどの計算を始めた。

3. 生体分子の構造と機能に関する研究

受容体のデータベースと細胞内信号伝達に關与する知識ベースの開発を継続し、これらの生体分子データベースと薬などの低分子化合物データベースを統合することを試みている。

4. 化学物質の安全性に関する研究

海岸に漂着するレジンベレットの分類、分析の研究を続け、海外を含めた漂着マップを作成した。

厚生科学研究費により「内分泌攪乱物質等、生活環境中の化学物質による健康リスク評価における不確実性の解析に関する研究」に必要な胎児ばくろ文献データベースを開発するとともに、ダイオキシン、植物ホルモン物質ほかの健康リスク評価における不確実性に関する研究と調査を行った。

厚生科学研究費により「化学物質による緊急健康危害対応のための情報に関する研究」として、化学剤等に関する調査と分析を行った。

厚生科学研究費により「インターネットの通信販売、輸入代行等のサイトで取引されている医薬品、薬毒物等に関する調査および問題点の検討」を行った。

5. 図書・情報サービス

(1) 雑誌類の管理と相互貸借

雑誌20タイトルを中止、17タイトルを新規に購入し、単行本361冊を購入した。この結果、購入中の雑誌は314タイトル、管理している単行本は11,428冊となった。文献の相互貸借事業に関しては、外部から893件の依頼を受け、外部へ1,923件を依頼した。

(2) 図書情報検索サービス

インターネットによるMEDLINEなどの文献検索案内機能の見直しを行った。

(3) 国立医薬品食品衛生研究所報告編集業務

当所の国立衛件報告書編集委員会に協力し、第117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

業務報告

平成11年5月以降の安全センターにおける主な人事異動は下記の如くである。平成11年7月に毒性部流動研究員であった高橋雄氏が、毒性部主任研究官として採用された。平成12年3月に、降矢強毒性部動物管理室長、鈴木幸子毒性部機器試験室長が定年退官し、豊田和弘病理部研究員が退職した。4月に、金子豊蔵毒性部第二室長が同部動物管理室長に異動、関田清司毒性部主任研究官が同部第二室長に、児玉毒性部主任研究官が同部機器試験室長にそれぞれ昇格した。佐井君江毒性部主任研究官が、代謝生化学部へ異動した。

従って平成12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21、研究員9、動物飼育長1で総計53名（前年度より3名減）であり、さらに技術・事務補助員14名、客員研究員4名、協力研究員4名、流動研究員9名、研究・実習生15名等が在籍している。

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（OECD, JECFA, IPCS, ICH等）及び各種専門学会等に派遣されたが、本年度は特に内分泌攪乱化学物質関連の会議・集会への参加が目立った（詳細は、各部の報告を参照）。黒川の海外出張は、①IPCSのリスクアセスメントに関する顧問会合、平成11年9月2-3日、カナダ、オタワ市、②国家新薬安全性評価検測センタープロジェクト事前調査、平成11年11月28日-12月4日、中国、北京市、③国家新薬安全性評価検測センタープロジェクト実施協議調査、平成12年5月28日-6月3日、中国、北京市であった。

国立衛研として国際協力事業団JICAによる天津プロジェクトにこれまで協力してきたが、新たに北京市における中国医薬品安全性評価管理センタープロジェクト（日本側正式名称）が平成11年から開始されている。具体的には、国家薬品监督管理局SDAの下での中国薬品生物製品検定所に中国初のGLP対応施設として国家新薬安全性評価検測センター（中国医薬品安全性評価管理センター）を建設し運営しようとするものである。その為、今年度は毒性部、病理部、変異遺伝部のスタッフが、それぞれの専門分野についての教育のために派遣された。今後、寺尾允男前国立医薬品食品衛生研究所所長を委員長とする国内委員会が発足し、5年間の事業が開始され、安全センタースタッフの協力が重要な要素となる。

新医薬品申請資料の審査は、平成11年10月のいわゆる

調査会廃止により大きな変化が生じた。その内部審査体制のあり方について、審査センター及び安全センターの担当者間で頻繁な討議が行われた。その結果、平成12年3月には新しい新薬承認審査のプロセスが作成され、現在それに則った審査が順調に行われているが、今後とも常に連絡を密にしてよりよい体制作りを目指したい。

ICHに関しては、厚生科学研究：医薬品等国際ハーモナイゼーション促進研究推進班（平成10から12年度）の安全性部門において、4名の研究協力者及びのべ38名の協力研究者の参画を得て、発がん性（S1B）、遺伝毒性（S2B）、安全性薬理（S7B）、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4分野について国内外のガイドライン作成等専門家会合に参加、討論を行ない、それらの成果を平成12年1月のICH報告会で発表した。

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、ナショナルコーオディネーター（三森国敏病理部室長、小野宏食品薬品安全センター所長）を通じて行ってきたが、本年度関連の担当者を一新した。即ち、13のガイドラインに対して36名のナショナルエキスパートを置き、その纏め役として国立衛研から9名、外部から7名の専門家を選出し依頼した。今後はこの体制で、積極的にコメントを出していきたい。

平成11年6月に、厚生省生活環境審議会食品衛生調査会及び環境庁中央環境審議会における討議の結果、日本におけるダイオキシンの耐容一日摂取量が、4pg TEQ/kg/dayと公表されたが、その設定に当たっては、安全センターの多くのスタッフが特に合同会合ワーキンググループの委員として、6ヶ月以上に渡りその専門分野において多大の協力・貢献をした。

韓国医薬品食品局KFDAから、国立衛研との間で安全性に関する試験研究等について、相互訪問による年一回程度の交流の機会を持ちたいとの要請があり、センター運営会議で積極的に進める意向となった。現在、毒性部を事務局として、日本学術振興会日韓科学協力事業セミナーに予算申請中である。

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いる。今後も、それらの成果を広く社会に発表して貢献することが重要である。

毒 性 部

部 長 井 上 達

概 要

平成11年度は、動物管理室の降矢強室長と、機器試験

室の鈴木幸子室長が、平成12年3月31日付をもってそれぞれ37年5ヶ月および35年11ヶ月の長きにわたる勤続を経て定年退官の運びとなった。これに伴って、金子豊蔵第2室長が動物管理室長に、また、児玉幸夫動物管理室主任研究官が機器試験室長、関田清司第2室主任研究官が同室室長に昇任した。また、小川幸男主任研究官は、児玉幸夫主任研究官の後任として動物管理室に配置替えとなった。なお、児玉室長と小川主任研究官は、それぞれ動物管理室および毒性2室の兼務職員として、相互の試験・研究の円滑な推進の為に協力して従事することとなった。なお、機器試験室に昭和62年より13年間にわたって研究に従事した佐井君江、主任研究官は、同じく4月1日付で代謝生化学部へと転出した。また、これに先だって平成11年7月1日に、それまで医薬品機構派遣研究員として発生学的研究に従事していた高橋雄が新規採用となった。非常勤研究員の転出としては、流動研究員原口清輝博士が滋賀医科大学へ、山梨医大から派遣されていた客員協力研究員・宮城恵理博士が米国へと転出した。他方退官した鈴木幸子博士は、客員研究員として引き続き科学技術庁の知的基盤研究の班研究に従事することになった。また平成10年10月よりソウル大学からポスト・ドクトラルフェローとして来所し、平成11年4月から、医薬品機構派遣研究員としてヒト型試験系開発の研究に従事してきたByoung-II Yoon博士に加えて、昨年より東京大学農学部より研究生として研究に参加してきた五十嵐勝秀博士が医薬品機構派遣研究員として、4月1日よりフルタイムで研究に加わることになった。また、大阪府母子保健センターからは津田雅之博士が研究生として分子発生研究に参加することとなった。

試験・調査・研究などの業務関連での海外出張では、井上達部長は、OECD/EDTAの内分泌障害性化学物質に関する合同会議への出席（4月17日～21日、パリ市、フランス）、WHO/IPCSの内分泌攪乱物質に関するモノグラフの編集会議とカロリンスカ研究所での講演、引き続きパリにおけるOECD/EDTA電話会議の司会（平成11年6月19日～26日、ストックホルム、スウェーデン王国およびパリ、フランス共和国）、ギャップジャンクション国際会議での発表と討論及び国際癌センター訪問（8月27日～9月4日、スイスおよびフランス）、次世紀の毒性学”（Toxicology for the Next Millenium）への出席（9月19日～23日、ウオーレントン、バージニア州、米国）および引き続きバイオ医薬品の安全性に関するサテライトワークショップ（9月23～26日、ロックビル、メリーランド州、米国）、内分泌かく乱化学物質に関するIPCS運営委員会の会議への出席（11月20～24日、ワシントンDC、米国）、ならびにこれに引き続き内分泌障害性化学物質に関する意見交換のための国立ブルックヘブン研究所訪問及び米国血液学会第14回年会での発表（12月1日～8日、ニューヨーク州、およびリジアナ州、米国）、内分泌かく乱化学物質の人の健康への影響に

かかる研究成果の分析及び共通試験法作成のための専門家会議（1月18日～22日，パリ市，フランス），国連大学の内分泌攪乱化学物質に関する移動シンポジウムでの特別講演（4月16日～19日，クアラルンプール市，マレーシア王国）等のためにそれぞれ出張した。菅野純第一室長は，内分泌障害性化学物質におけるOECD/EDTA運営グループの第3回会議及び第11回ナショナルコーディネーター会合への出席および厚生科学研究推進に関する担当者打ち合わせ会における発表と討議（4月17日，パリ市，フランス），引き続き，カロリンスカ研究所のJan Ake Gustafsson教授との研究交流及び研究集会での講演（12月19日～21日，ストックホルム市，スウェーデン王国），内分泌かく乱化学物質の人の健康への影響にかかる研究成果の分析及び共通試験法作成のための討議（H12年1月18日～22日，パリ市，フランス），および，“キーストン分子細胞生物学会シンポジウム「核内受容体2000」”での発表と討論ならびに内分泌かく乱化学物質に関する米国における研究進展状況の調査及び情報の収集（3月24日～4月2日，米国）などの目的で，それぞれ出張した。金子豊蔵第二室長は，ダイオキシシン99国際学会での発表（9月11日～19日，ベニス市，イタリア）の為に出張。また，相賀裕美子第四室長は，国際発生生物学会への演題発表の為に出席（6月18日～26日，オスロ市，ノルウェー），ハノーバー医科大学訪問及びEMBOワークショップでの招待講演“Function of bHLH factors, MesP1 and MesP2 during gastrulation and somite segmentation”を行うため（9月23日～10月1日，クロスターイルジー，ドイツ）それぞれ国外出張した。また，降矢強動物管理室長は，日・EUでのGLPの共同査察（6月6日～13日，イタリア），中国国家新薬安全性評価検測センターでの短期派遣専門家として動物管理及びGLP指導を行うため（6月17日～7月1日，中国），また，中国国家新薬安全性評価検測センタープロジェクト短期調査員として（H12年2月14日～3月3日，中国）それぞれ国外出張した。平林容子主任研究官は，発がんに関するゴードン研究会議への招聘による出席（7月31日～8月8日，ロードアイランド州，米国）および，米国血液学会第41回年会での発表のため（12月2日～8日，ニューオーリンズ市，米国）それぞれ出張した。佐井君江主任研究官は，韓国食品化学会の第5回国際緑茶シンポジウムへの出席及び韓国食品医薬品研究所の訪問（5月6日～9日，ソウル市，韓国），ミシガン州立大学における国際共同研究課題「発がんプロモーター作用の研究：特に細胞間連絡及びアポトーシス阻害の意義と相互関連」の研究の実施（7月14～8月16日，イースト・ランシング，ミシガン州，米国），「化学物質によるシグナル伝達及び細胞間連絡に対する影響」に関する研究成果の発表を目的とした国際学会への出席（10月16日～22日，アナーバー，ミシガン州，米国），および，国際共同研究に関する研究成果の討議のためのミシガン州立大学

の訪問（3月20～27日，イースト・ランシング，ミシガン州，米国）などの目的でそれぞれ国外出張した。北嶋聡厚生技官は，第2回欧州分子毒科学会における精巢生殖細胞系列に関する研究演題の発表のため（平成11年9月6日～8日，パリ市，フランス）また，“次世紀の毒性学”（Toxicology for the Next Millenium）への出席，皮膚感作性に関する研究演題の発表（9月19日～23日，ウオーレントン，ヴァージニア州，米国），引き続き，相賀室長とともに，ハノーバー医科大学訪問及びEMBOワークショップ—Molecular Genetics of Muscle Development and Neuromuscular Disease—における胎生期の心臓形成における分子生物学的な研究に関する演題の発表（9月26日～30日，クロスターイルジー，ドイツ）などのため国外出張した。小野敦技官は，第2回国際分子毒性欧州会議への出席（9月4日～10日，パリ市，フランス），内分泌かく乱化学物質のHTPS共同研究推進のための共同研究（9月19日～10月2日，ストックホルム，スウェーデン）およびキーストンシンポジウム「核内受容体2000」への出席と演題の発表（3月24日～4月2日，米国）などによりそれぞれ出張した。

試験業務

1. 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，プロボリス，ガルシニアエキスについて，ラットによる12ヶ月間の慢性毒性試験を行っている（食品化学課健康食品対策室）。また，食品添加物として，サバクヨモギシードガムについて，ラットによる90日間混餌投与を実施した（厚生省食品化学課）。

2. 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

フルオロスルホン酸及び3-ニトロベンゼンスルホン酸の経口・経皮急性毒性試験及び皮膚刺激性試験を行なった（医薬安全局安全対策課）。

調査業務

1. 化学物質による健康リスク評価

1) 食品の容器包装材料（樹脂）から食品中に溶出してくる可能性のある化学物質の年間平均使用量を調査し，樹脂製造あるいは樹脂加工の各分野における樹脂の種類毎に使用量の多い化学物質を抽出しリスク情報の調査を行っている（食品化学課）。

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，遺伝子改変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った。

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につ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

一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した。

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った。

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、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、解析した。また、マウス始原生殖細胞の発生分化に関与すると思われる *nanos* 遺伝子をクローニングし、そのノックアウトマウスを作製した。

5) ダイオキシシン等内分泌攪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。この細胞を利用して内分泌攪乱性化学物質の発生・遺伝子毒性への影響を評価する方法を開発している。

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の確立および精子形成過程の細胞に特異的なモノクローナル抗体の作製を検討した。

7) 脊椎動物の体節形成の分子機構に関する発生遺伝学的解析

体節形成において重要な役割を果たすと考えられる遺伝子、*Mesp2*、*Dll1*、*Dll3* および *paraxis* のノックアウトマウスを掛け合わせて、遺伝学的解析を行っている。

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

細胞寿命や発がんに関与するとされる、テロメアやテロメアーゼの変化を分子指標とした細胞障害評価系の構築のため、実験動物および各種遺伝子改変マウスを用いて放射線や化学物質による細胞障害過程におけるテロメアの長さやテロメアーゼ活性の変化の解析および障害発現機序の解明をすすめている (科技庁国研原子力)。

2) プロモデオキシユリジン投与 (BrdUrd) と近紫外外部紫外線照射を組み合わせた細胞動態試験法 (BUUV法) の開発に関する研究

前年度までにはほぼ技術的に完成したBUUV法を用い、骨髄再建系でのMNU暴露後の培養性前駆細胞の細胞動態解析や、定常状態の脾コロニー形成造血幹細胞の細胞動態解析を行い、BUUV法の完成に向けたデータの集積を行った。

3) 遺伝子改変動物を用いる発癌性短期試験に関する研

究 (厚癌研・指定研究)

本研究課題は発がん試験法の改良に当たり、特に遺伝子改変動物を導入することによる改善の可能性を探るものであり、1) 遺伝子改変動物の病態生理面での特徴を明らかにし、2) それら遺伝子改変動物を用いた発がん性試験を行い、3) その結果のヒトへの外挿の可能性を原点に立ち返って検討し、もって、4) このものの短期発がん性アッセイ系としての可能性について再整理することを目的としている。

(1) *c-Ha-ras* 遺伝子導入 (*rasH2*) マウスに種々の濃度のウレタンを単回腹腔内投与し、その後ブチルヒドロキシトルエン (BHT) を投与すると、ウレタンのみを投与した *rasH2* マウスに比べて早期にかつ低濃度から腫瘍の発現が観察された。以上より、*rasH2* マウスにBHT投与を組み合わせた肺発がん物質早期検出系樹立の可能性が示された。

(2) *genotoxic initiator* や *tumor promoter* に対する反応性：① *p53* 欠失マウスを用いた、パラクレシディン混餌投与の実験は最終段階を迎え、若干の対照群生涯観察生存動物を残すのみとなった。②ベンゼン吸入暴露については、検索途中の動物が残っており継続課題となった。③非遺伝子毒性 *tumor promoter* の発がん特性に関する研究ではPCPはその *deoxy-guanine* 過酸化物の生成の点で有意な結果を示さず、実験は中止とした。

(3) 発がん特性研究：①ベンゼンの細胞周期抑制機構は *p53* 遺伝子の発現とそれにリンクしたCDK抑制性 *p21* の発現の亢進に基づく背景が初めて明らかにされた。②ゲノム不安定性を引き起こしていることが期待される *klotho* マウスの性質を明らかにすることを計画し、細胞周期などについて検討しつつあるが、まだ報告の段階に達していない。

(4) 発がん試験法の開発：*klotho* は前項における分子背景の研究と平行して同時進行の形で骨髄移植アッセイによる発がん試験研究を行った。この中で *klotho* 由来骨髄が白血病の高発性を示したので、実質的な試験系としての展望が明らかとなった。

4) 自己複製シグナル制御による臨床応用可能なヒト造血幹細胞の体外増幅法の開発に関する研究

造血幹細胞の体外増幅のためのモデル系として、ヒトIL-3受容体遺伝子導入造血幹細胞のヒトIL-3とマウスIL-7による自己複製性増殖と分化とを制御する系を確立した (医薬品機構、中畑班)。

5) アリールヒドロカーボン受容体と造血幹細胞のシグナルクロストークに関する研究

ダイオキシシン類に感受性の低いDBA/2マウスがBenzeneにも不応性であることに着目し、AhR遺伝子欠失マウスにBenzeneを暴露したところ、wildで観察される血球ならびに前駆細胞の減少がAhRホモ欠失では見られなかった。Wildでのこうした血球の減少の少なくとも一部は細胞動態の抑制によることを示唆する結果を得、更に検索を進めて

いる。(文部省科学研究費補助金)。

6) ギャップ結合細胞間連絡 (Gap junction intercellular communication: GJIC) の機能に関する研究

発がんなどに際して生じる GJIC 阻害と apoptosis 抑制が何らかの関連を持つものかの如何を念頭に置いて研究を進めており、これまでの *in vitro* での相互のリンクの可能性に引き続いて、コネクシン 32 遺伝子欠失マウスと p53 遺伝子欠失マウスを用いて個体レベルでの相互関係を検討する (文部省科学研究費補助金)。

7) 発がんプロモーター作用に対する緑茶の抑制効果

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た。

8) 発がんプロモーター物質の *in vitro* 短期検出系の開発に関する研究

ギャップ結合細胞間連絡阻害作用ならびにギャップ結合構成分子の発現・修飾、さらにアポトーシスへの影響を指標とした、インビトロ発がんプロモーター検出系の樹立について検討している (生活安全総合研究事業)。

9) 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、大腸発がん剤であるアゾキシメタンをプロポリスと同時に投与し、大腸上皮粘膜への細胞増殖活性等を検討している (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) 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

神経伝達物質 GABA を分解する酵素と特異的に結合する Gamma-vinyl GABA のアカゲザルの覚せい剤 (メタンフェタミン) 自己投与に及ぼす影響について検討している。(医薬安全局麻薬課)。

4. シグナル伝達系を介した細胞障害発生機構の研究

1) 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への影響が懸念される化学物質の作用機序とその検出系の樹立のための研究 (OECD 対応の試験法開発を含む) を行った (厚生科学研究生活安全総合研究事業、科学技術振興調整費生活者ニーズ対応、環境庁国立機関公害防止等試験研究費)。

OECD/EDTA の押し進める子宮肥大試験およびハーシュバーガー試験における影響要因に関する検討として、前者に対しては加齢による子宮肥大反応の感度の推移等、後者に対しては雄性副生殖器重量測定に対する諸条件の検討 (固定の影響) 等を行った。

ホルモン様活性化学物質のエストロゲン様活性の検出系として、レポーター遺伝子導入酵母による測定を進め、一部の物質についてはその複合作用の検討を行った。

内分泌かく乱化学物質の神経系分化に対する影響を、昨

年に引き続き検討し、モデル系としてのマウス初代神経幹細胞培養系における神経細胞分化、神経膠細胞分化、エストロジェンレセプター $\alpha \cdot \beta$ の野生型およびそのスプライシングバリエーションを認識する PT-PCR 法の確立を行った。

5. 毒性試験法の開発に関する実験的研究

1) 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 11 年度はチオレドキシシン遺伝子欠失マウスにパラコート投与し、生体への影響についての基礎的検討を行った。(科学技術庁、平成 9 年度～平成 12 年度)

2) ヒト型免疫系再構築マウスの開発

ヒト HLA 遺伝子座導入マウス ES 細胞を用い、HLA 遺伝子座導入トランスジェニックマウスの作製を行った。その結果、Class I 及び Class II の HLA 遺伝子を発現するマウスが得られた。

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に関する研究、およ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 TDI の設定のための調査研究、臨床薬物動態試験ガイダンス及び薬物相互作用検討ガイダンス作成に関する調査研究を行った。また、昨年に引き続き、新医薬品や化粧品・医薬部外品などの承認審査、新規及び既存化学物質の安全性評価、GLP 評価などの行政協力を行った。なお、平成 11 年度より審査センターにおける新薬の承認審査について薬理学及び薬物動態学の面から協力する体制が整えられ、大野部長及び井上室長に加え前者については中澤室長が、後者については小澤室長及び紅林室長が中央薬事審議会臨時委員として新たに協力することとなった。

人事面では、科学技術特別研究員の津田誠博士は昨年度より継続して採用され、中枢における ATP 受容体と痛みに関する研究を行っている。村山典恵博士が 10 月 1 日より医薬品機構派遣研究員として採用され、薬物代謝酵素の遺伝多型についての研究に従事している。また、客員研究員として生体内における一酸化窒素や一酸化炭素生成の研究に従事していた津田充寿元室長が退任した。

平成 11 年度の長期海外出張としては、田端敦子技官は科学技術庁長期在外研究員として平成 12 年 3 月 20 日より

平成13年3月19日までの予定でスコットランドのダンディー大学医学部の生物医学研究センターのC Roland Wolf教授とともにhPXRの多型の解析研究のために留学した。また、中沢憲一第二室長はHS財団の支援によりイギリスのシェフィールド大学分子生理学研究所にヒト神経組織の利用に関する研究のため出張した(7月1日~9月30日)。国際会議のための短期海外出張としては、大野泰雄部長がポーランドのウツで開催されたOECDの*in vivo*及び*in vitro*皮膚吸収性試験ガイドライン作成のための会議に出席し、修正作業に参画した(6月15日~16日)。国際学会としては、大野泰雄部長がイタリアのポロニアで開催された第三回国際動物実験代替法会議に参加し(8月29日~9月2日)、日本における動物実験代替法の行政的受け入れ状況についての招待講演を行った。また、同ベニスで開催された国際環境汚染有機ハロゲン物質およびPOPs (persistent organic pollutants) についての第18回国際シンポジウムに参加し(9月12日~17日)、ダイオキシンの毒性及び体内動態についての情報を収集した。この学会では、我が国で導入したダイオキシンの新たなTDI値の根拠について紹介された。また、井上和秀第一室長はベルリンで開催された第16回国際神経化学会に参加し、培養海馬神経におけるATPによるグルタミン酸遊離抑制とGABA遊離促進機構について発表した(8月6日~13日)。また、マイアミ大学Joseph T. Neary教授の下で、TNF α の遺伝子制御に関する予備的実験を行うために、米国・マイアミに出張した(10月18日~27日)。小泉修一技官及び佐藤薫技官は米国マイアミで開催された第29回北米神経科学会の年次総会に出席し、それぞれNGFにより分化したPC-12細胞と培養海馬神経におけるカルシウム遊離信号の特性について及びHSP70のCA1選択的障害における役割とその抑制機構について発表した(10月23日~28日)。また、篠内桃子主任研究官は米国フィラデルフィアで開催された第9回米国毒科学会に出席し、Diphenylを投与したBDF1マウスにおけるCYP4A誘導とその性差について発表した(平成12年3月18~23日)。

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

臨床試験の予見性を高めるための、ヒト組織を用いた医薬品の安全性・有効性評価手法の確立に関する研究においては、ヒト皮膚組織の保存方法について文献調査しまとめた。また、イギリスにおける地域倫理委員会について調査した。実験的には凍結ヒト肝遊離細胞を用いた薬物代謝評価法の検討のため、製薬協と協力し、施設内・施設間簡易バリデーションを行った。その結果、エトキシマリンの代謝活性が高く維持されており、施設間のバラツキも少ないことから、医薬品の代謝研究に有効である可能性が示された(委HS)。

化粧品の安全性評価における代替法に関する研究においては、動物実験代替法を用いた化粧品の安全性評価につい

での国際的動向について調査した(厚科研)。

アフリカツメガエル卵母細胞発現系を利用した有効性・安全性評価系開発に関する研究においては、ヒト型のニコチン受容体をアフリカツメガエルの卵母細胞に発現させ、セロトニン、アポモルフィンの抑制作用およびそのサブユニット依存性等の性質を検討した。

内分泌攪乱物質関連の試験法の開発研究においては、1) 受容体とアゴニスト・アンタゴニストとの結合を指標とし、内分泌攪乱物質をスクリーニングする方法、2) 生殖への影響とその作用機構ニワトリ胚肝臓におけるピテロゲニンII mRNAの発現を指標とし、*in vivo*生殖への影響を検討する方法、及び3) 脳機能維持型スライス標本を用い、電気的応答の光学的記録と微細形態の観察により中枢神経系に対する影響を評価する方法を検討した。即ち、1) においては、ビオチン化エストラジオールおよびイミノビオチン化エストラジオールを合成し、ヒト組み替えエストロゲン受容体 α と化学物質の結合を解析するための実験条件を検討した(厚科研)。また、ビオチン化エストロゲン受容体応答配列オリゴヌクレオチドを用いて、ヒト組み替えエストロゲン受容体 β と化学物質の結合を解析するための実験条件を検討し、エストロゲン受容体結合が知られている物質に、エストロゲン受容体とオリゴヌクレオチドとの結合に対する促進作用が認められることを示した。2) においては、エストラジオール投与ではピテロゲニンII mRNAの発現が認められるが、ノニルフェノール投与胚ではピテロゲニンII mRNA発現は認められないことを示した(環公害)。3) においては脳機能維持型スライス標本における性ホルモンの影響を検討し、この標本が生理的な機能を有しており、薬理学的および毒性学的評価に利用可能であることを確認した(厚科研)。

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においては、齧歯類を用いた2週間の反復投与毒性試験により、医薬品や化学物質による雄性生殖臓器への影響を検出できるか否かについてのバリデーションを28社の医薬品会社の協力を得て、24物質29プロトコールについて実施した。その結果、ガイドラインに従って投与可能最高用量まで投与量を上げ、更に精子のステージング分析を含む詳細な組織病理学的検査を行うことにより、検出可能との結果を得た(厚科研)。

化学物質の総合的安全性評価手法に関する研究においては、MBIとLPSの複合投与による血中NO₂/NO₃濃度上昇や毒性増強機構について検討し、腎重量の増加、BUN及びCRNの上昇、CRNクリアランスの低下が認められたことから、腎機能障害によるものであることが確認された。またMBIの脱硫化反応が阻害され、肝重量の増加、GOT及びGPTの上昇、肝組織の壊死が認められ、肝毒性の増強が確認された(厚移替)。

2. 医薬品等の中枢機能に及ぼす影響に関する薬理的研

究

中枢神経系におけるATP受容体の機能の解析と医療への応用研究においてはATPによる培養海馬細胞標本におけるグルタミン酸放出抑制作用のメカニズムを検討し、ATPはG-蛋白共益型受容体を介してN型あるいはP/Q型電位依存性カルシウムチャネルの機能を抑制することによりカルシウムの細胞内流入を阻害し、グルタミン酸の放出を抑制することを明らかにした(委HS)。

また、グリア・ニューロン・ネットワークでのATPの機能について検討し、ニューロンから放出されるATPはミクログリアを活性化しTNFアルファを外液カルシウム依存性に放出することを明らかにした(委HS)。

3. 生体機能における情報伝達に関する薬理学的研究

痛みの情報伝達におけるATP受容体の役割に関する神経・行動薬理学的研究においては、カプサイシン試験、ホルマリンテスト等の疼痛動物モデルを用いた行動薬理学的手法により、痛み伝達に対するATP受容体機能を検討し、ATPがブラジキニンに匹敵する痛みを誘発することを明らかにした。また、ATPが後根神経節ニューロンと脊髄後根とのシナプス伝達を亢進させ痛みを増強していることを示唆した(文科研)。

ATP受容体チャネルの分子生物学的改変により、ATP受容体チャネル上のATP感受性に関わる部位を同定した。また、チャネル孔とセロトニン、イミプラミンとのアロステリックな相互作用を明らかにした(文科費)。

4. 医薬品等のトキシコキネティクスに関する研究

食品添加物の安全性評価における代謝の役割についての研究においては、食品添加物であるDiphenylの代謝を検討し、毒性代謝物2,5-dihydroxybiphenylの生成に関してヒトはマウスよりラットの代謝活性に類似することを示した。また、2,5-dihydroxybiphenylの生成に、ヒトCYP1A2が関与することを示した。in vitro発現系を用い、DiphenylがCYP4Aを誘導することを示した(厚移替)。

内分泌攪乱物質ビスフェノールAのラット胆汁主代謝物およびサル血中主代謝物はそのグルクロニドであることを示した。

残留農薬等の相乗毒性に関する薬物動態学的研究においては、ゴムの酸化防止剤であるMBIのin vivoラットにおける肝薬物代謝酵素への影響を検討し、各種P450分子種を減少させる一方CYP2B2を増加させることを示した。また、in vitroにおいてCYP3Aによる代謝を抑制することを示した(厚科研)。

5. 薬物反応性の遺伝多型に関する薬理学的研究

薬物代謝活性の多型性とハイリスク患者における薬物評価に関する研究においては、ヒトフェノール硫酸転移酵素分子種ST1A3の²¹³Arg/²¹³His多型と結腸癌、膀胱癌の症例対照研究を行い、ヒトフェノール硫酸転移酵素のアミノ酸置換を伴う異型対立遺伝子と大腸癌の関連が少ないこと

を示した。また、膀胱癌について、ST1A3の²¹³Arg型とNAT2遅延型を併せて有するヒトが最も感受性が高いことが示された。これら異型酵素分子種による4-アミノピフェニルのN-水酸化体の代謝活性化能も膀胱癌感受性の結果と一致していた(委HS)。また、フェノール性水酸基を有する内分泌攪乱物質の硫酸抱合体生成に関与するヒト薬物代謝酵素分子種を明らかにした(厚科研)。

発癌感受性に影響を及ぼす遺伝子多型性に関する研究においては、多型性ヒト癌原物質代謝酵素遺伝子型と臓器癌との関連を評価するために、ヒト硫酸転移酵素の異種細胞発現系を用い、³²Pポストラベル法により癌原物質の代謝活性化能の測定系を構築した(厚癌研)。

なお、平成11年度より医薬品機構予算(主任研究者:北大鎌滝教授)による「安全かつ有効な新薬の開発と最適な薬物療法の確立に分子的基盤を与える薬物代謝の遺伝的多型に関する研究」班において「薬物代謝酵素の未知の遺伝子多型の発見および遺伝子多型と薬物毒性発現リスク評価に関する研究」を開始し、ヒトフェノール硫酸転移酵素ST1A3遺伝子のアミノ酸読み取り枠内のコドン213のArg/His多型は日本人においてもArg型83%、His型17%の出現頻度で存在していることを明らかにした。また薬物の代謝活性化に関与するCYP2E1をヒト肝癌由来細胞株に導入し、創薬に活用できる薬物毒性検定の試験系としての安定的発現系を構築したが、ミレニアムプロジェクトの開始に伴い、鎌滝班を辞退した。

6. その他

臨床薬物動態試験ガイダンスおよび薬物相互作用ガイダンスの素案を作成し、それらを英訳したものととも厚生省に提出し、それについて我が国内外の意見を聴取するよう依頼した。また、ダイオキシン類の耐容一日摂取量(TDI)設定のためにダイオキシンの各種毒性試験報告を調査し、全身暴露量と毒性との関係を計算した。また、毎日どれだけのダイオキシンを摂取したら動物で毒性を発現した暴露量に達するか計算した。また、臭素化ダイオキシンの体内動態について文献調査を行った。

病 理 部

部長 広瀬 雅雄

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、豊田和弘研究官が平成12年3月31日付けで退職し、日本たばこ産業株式会社に同年4月1日付けで就職した。また、賃金職員として仁保直子、原 綾乃が平成11年4月1日付けで、食品衛生協会リサーチ・レジデントとして高橋則行博士が同年11月1日付けで採用され、中川道子技術補助員が平成12年3月31日付けで退職した。また、韓国化学研究所の孫 和永博士がSTAフェローとして平成11年5月10日から病理部に配属され、国際協力事業団を通じて中国天津市薬品検査所から中国天津医薬品検査技術プロジェクトのカウンターパートとして、平成11年2月1日より毒性試験に関連する病理診断技術の習得のための研修を行ってきた劉 雲氏が、同年7月31日に研修を終了し、帰国した。

短期海外出張は、広瀬雅雄部長がスイス・ジュネーブで開催された「IPCSのフモニシンB1の安全性に関する専門家会議」に出席し、討議を行った(平成11年5月9～16日)。また、イタリア・ローマで開催された「JMPRの専門家会議」に出席し、討議を行った(平成11年9月20～26日)。また、フランス・リヨンのIARCにて「げっ歯類の前胃発癌物質に関するScientific publication」に関する会議に出席し、討議を行った(平成11年11月27～12月3日)。さらに、ドイツ・ウッパーテルで開催された「Enhanced OECD Test Guideline 407 試験法の確立に関する会議」に出席し、発表・討議を行った(平成11年12月13～12月17日)。西川秋佳第一室長は、スウェーデン・ストックホルムで開催された「IPCS国際簡潔評価文書(CICAD)の第5回最終検討会議」と、それに引き続きイタリア・ローマで開催された「第53回FAO/WHO合同食品添加物専門委員会」に出席し、討議を行った(平成11年5月24～6月12日)。さらに、オーストラリア・ブリスベンで開催された「砒素及び砒素化合物に関するIPCSタスクグループ会議」に出席し、討議を行った(平成11年11月13～20日)。三森国敏第三室長はフランス・パリで開催された「OECD第11回ナショナルコーディネーター会合」に出席し、討議を行った(平成11年4月20日～24日)。さらに、ベルギー・ブリュッセルでの「動物用医薬品についての国際獣疫事務局の安全性検討会議」に出席し、討議を行った(平成11年11月11～17日)。また、スイス・ジュネーブで開催された「第54回FAO/WHO合同食品添加物専門委員会」に出席し、討議を行った(平成12年2月14～25日)。渋谷淳第二室長は、国際協力事業団の要請で「中国国家新薬安全評価検測センタープロジェクト」の発足に伴う短期調査のため中国・北京に出張した(平成12年2月14～3月3日)。

国外の学会出張としては、西川秋佳室長が韓国ソウルで開催された「第3回国際胃癌学会」に出席し、発表および討議を行った後、シユンセンで開催された「第14回韓国農作物ポストハーベスト科学技術学会」に出席し、講演を行った(平成11年4月26日～5月2日)。次いで、三森国

敏室長は韓国デジユンで開催された「第15回韓国実験動物科学学会総会」に出席し、発表および討議を行った(平成11年5月6～8日)。また、広瀬雅雄部長、渋谷淳室長、三森国敏室長が、イタリア・ベニスで開催された「ダイオキシン99国際学会」に出席し、発表および討議を行った(平成11年9月11～19日)。更に、西川秋佳室長、三森国敏室長、安原加壽雄主任研究官、古川文夫主任研究官が米国フィラデルフィアで開催された第39回米国トキシコロジー学会に出席し、発表および討議を行った(平成12年3月18日～3月25日)。

研究業績

1. ラットの自然発生肝病変に関する研究

1) LECラットの肝炎発生前後における肝細胞の超微形態学的変化に関する実験の結果、発症直後から肝細胞内に二次性ライソゾームが多数観察され、免疫電顕にてDNA付加体およびメタロチオネインが細胞質内あるいは核内に観察された。また同肝炎発症ラットにおける抗酸化物質の影響を検討した結果、N-アセチルシステインに抑制効果を認めた。

2. 神経毒性の改善に関する研究

1) 神経毒性を有する抗癌剤であるビンクリスチンをラットに投与し、誘発される神経変化に対してのグルタミン酸の効果についてRota-Rod法による解析を終了し、超微形態学的な検索を開始した。

3. カドミウムの健康影響に関する研究(農林水産省依託研究費、環境庁依託研究費)

1) 微量の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動物実験を行い、最終評価を行った結果、時間の経過に伴いカドミウムの臓器内蓄積は進行するものの明らかな臓器障害性を認めないことを明らかにした。

2) 塩化カドミウムの長期間低濃度曝露による腎障害発現の閾値について文献を収集した。

4. 骨粗鬆症と栄養因子に関する研究

1) 大豆粉をラットに10週間投与し、骨への影響を病理学的に検索した結果、顕著な影響は認められなかった。

5. 生薬成分の副作用に関する研究(厚生科学研究費補助金)

1) 生薬である小柴胡湯のマウスモノクロタリン誘発間質性肺炎に対する修飾作用の検索を行い、病理組織学的評価の結果、弱いながらも明らかな増強作用を認めた。

6. ダイオキシン類の健康影響に関する総合的評価研究(厚生科学研究費補助金)

1) 臭化ダイオキシン類の発癌性に関する文献調査を行い、その発癌影響の可能性について調査・検討した。

7. 食品添加物の毒性並びに発癌性に関する研究(食品等試験検査費)

1) 乳酸鉄、バラオキシ安息香酸イソプロピルのラットを

用いた慢性毒性・がん原性試験を終了し、それぞれ最高用量2%, 1%の混餌投与でも発癌性は認められなかった。ペクチン分解物慢性毒性・がん原性試験の病理組織標本作製を終了すると共に病理組織学的検索を継続した。硫酸アンモニウム、キシロース、アカネ色素、塩化マグネシウムの慢性毒性・がん原性試験の用量設定試験結果に基づき、動物実験を継続ないし開始した。

2) 納豆菌ガムの90日間反復投与毒性試験を行った結果、投与に起因する毒性は認められなかった。没食子酸の90日間反復投与毒性試験を行った結果、高用量投与により溶血性貧血の出現を認めた。トコトリエノールの90日間反復投与毒性試験を終了し、無毒性量を推定した。また、補骨脂抽出物の90日間反復投与毒性試験を行った結果、高用量投与により精巢毒性と卵巣黄体形成不全の出現することが明らかとなった。ルチン、シアナット色素の90日間反復投与毒性試験を開始した。

3) 抗甲状腺物質による甲状腺発癌プロモーション作用への下垂体除去の影響についてラットを用いた実験を行った結果、発癌にTSHが必須であることがわかった。

4) 甲状腺二段階発癌モデルを用いて、コウジ酸に弱いイニシエーション作用の可能性を認めたことから、そのイニシエーション期間を更に延長した実験を開始した。

8. 動物用医薬品の毒性並びに発癌性評価に関する研究 (食品等試験検査費)

1) フルメキンの肝腫瘍修飾作用の有無を検討するため、p53ノックアウトマウスを用いた実験を行った結果、フルメキンはプロモーション作用のみならずイニシエーション作用を有することが示唆された。

9. 動物用医薬品の残留防止対策に関する研究 (厚生科学研究費補助金)

1) DHPNラット二段階発癌モデルを用い、キシラジンとその代謝物2,6-キシリジンの発癌メカニズムを検索した結果、2,6-キシリジンの鼻腔発癌はポーマン腺への傷害に続く二次的なプロモーション作用に起因し、キシラジンの甲状腺に対するプロモーション作用にはヨード取り込み阻害の関連することが示唆された。

2) RasH2マウスを用いてt-ブチルヒドロキノンについての発癌性の有無を検討した結果、6カ月投与では発癌性を認めないことが確認された。

10. 食品中化学物質の相互作用等に関する研究 (厚生科学研究費補助金)

1) 亜硝酸とエリソルビン酸ナトリウムあるいはヒドロキノンを複合投与したラットの前胃上皮を採取し、凍結保存した。

2) MNNGによるイニシエーション後、亜硝酸とトコフェロール、あるいはプロピルガレート投与した群ではラット前胃発癌が促進された。

3) 芳香族アミンと亜硝酸の同時投与におけるラットの長

期動物実験を終了し、標本作製を開始した。

4) 亜硝酸とフェニルアラニンあるいはN-アセチルシステインの同時投与で軽度の腎毒性の増強が認められた。

5) 多臓器発癌物質であるエチルニトロソ尿素をrasH2マウスに投与後、食品に含有する抗酸化物質であるブチルヒドロキノンと亜硝酸と同時に20週間投与し、その前胃発癌に対する修飾作用を検討する実験を行った。

6) MNNGでイニシエーションを行ったラットに亜硝酸と種々の用量のアスコルビン酸を投与し、胃発癌プロモーションの用量相関性を検討する実験を開始した。

11. 内分泌かく乱化学物質の人体影響に関する調査研究 (厚生科学研究費補助金)

1) エストラジオール・ベンゾエート (EB) をラットに皮下埋植することにより、EBの甲状腺腫瘍誘発が増強されることが明らかとなった。

2) メトキシクロルとノニルフェノールのラット・経口・28日間反復投与毒性試験を実施し、内分泌関連パラメータの解析と肝における α 2u-グロブリン蛋白質の発現状況の解析を行った。

12. 内分泌かく乱化学物質の発達期脳に及ぼす影響に関する研究 (厚生科学研究費補助金)

内分泌かく乱作用の陽性対照として、エストラジオールを胎生期ないし授乳期ラットに混餌投与する実験を行い、エストラジオールの母体に対する最大耐量投与により、脳の性分化の臨界時期における視床下部性的二型核でのエストロゲンに反応する遺伝子の発現低下を認めた。

13. 医薬品規制ハーモナイゼーションに関する国際共同研究 (厚生科学研究費補助金)

1) ヒトプロト型c-Ha-ras導入トランスジェニックマウス、p53ノックアウトマウスやXPAノックアウトマウスについての短期発癌性試験系に関する実験および文献を収集し、これらの試験系の有用性や問題点について検討した。

14. 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 (厚生省特別研究費)

1) 大腸、前立腺等に発癌性を有する加熱分解産物のPhIPをF344雄ラットに単回経口投与後、経時的に検索した結果、投与4時間後から標的細胞にDNA付加体形成および核小体分離が認められ、これらの指標によって化学物質の毒性あるいは発癌性を予測できる可能性が示された。

15. 発癌メカニズム解明のための新手法に関する研究 (文部省科学研究費)

1) 肝および甲状腺発癌のプロモーション時期に特異的に発現する遺伝子の同定に関する動物実験を終了し、肝モデルにおいてcDNA subtractionにより発現遺伝子群を得た。

2) 四塩化炭素投与ラット肝における脂質過酸化の発現および8-OHdG付加体形成に対するN-アセチルシステインの影響を検討した結果、顕著な影響はみられなかった。

16. トランスジェニックマウスの特性に関する研究

- 1) P53ノックアウトCBAマウスのフェノールフタレインに対する発癌感受性の有無を検討するため、6カ月混餌投与実験を行った結果、発癌性は認められなかった。
17. 環境因子の発癌リスク評価に関する研究(文部省科学研究費)
 - 1) LacI導入p53欠損マウスを用いてMeIQxの発癌性を検索した結果、肝発癌性を確認した。
 - 2) Gpt deltaマウスにおいて、MeIQxによる肝臓および大腸への発癌性は認められなかった。
18. 動物による発癌性評価のための新手法の確立とその意義に関する研究(厚生省がん研究助成金)
 - 1) 非遺伝子傷害性発癌物質の*in vivo*短期スクリーニングを可能とする分子指標を探索する目的で肝臓を標的とした発現解析を行ったところ、ペルオキシゾーム増生剤投与に反応するポリペプチド性シグナルを得た。
19. 未規制化学物質の基準化に関する研究(食品等試験検査費)
 - 1) 塩素処理水副生成物MXの発癌促進メカニズムを検討した結果、ギャップ結合細胞間連絡阻害活性を認めた。
20. トランスジェニックマウスの化学発癌増強メカニズムに関する研究(文部省科学研究費)
 - 1) エチルニトロソ尿素でc-Ha-ras遺伝子導入マウスに誘発された前胃腫瘍における遺伝子変異を解析した結果、導入遺伝子に変異は低率であった。
 - 2) P53ノックアウトCBAマウスのメチルニトロソ尿素に対する発癌感受性の有無を検討するため、6カ月飲水投与実験を実施した結果、胃に腫瘍は誘発されず、発癌感受性の低いことがわかった。
21. 食品の発癌抑制に関する研究
 - 1) 多臓器発癌モデルを用いてIP6とミオイノシトールの影響を検討した結果、肉眼観察においてともに乳腺腫瘍の抑制傾向を示した。
22. 喫煙関連発癌の制御機構と予防に関する研究(喫煙財団委託研究費)
 - 1) 喫煙の負荷はラットおよびハムスターの肝臓における生体異物代謝酵素系に影響することを明らかにした。
 - 2) DEN投与ハムスターにおいてDNA付加体の発現を経時的に検索する実験を終了した。
 - 3) タバコ煙はMeIQxによるラットの肝および大腸発癌を促進することを明らかにした。
23. 遺伝子改変動物を用いたタバコ煙成分の肺腫瘍修飾作用に関する研究(喫煙財団委託研究費)
 - 1) ウレタンでイニシエーション処置したrasH2マウスにタバコ成分のオイゲノールを26週間混餌投与した結果、オイゲノールに肺腫瘍修飾作用はないことがわかった。
 - 2) NNKでイニシエーション処置したrasH2マウスにタバコ成分のシンナムアルデヒドを26週間混餌投与する実験を継続した。
24. 内分泌かく乱化学物質による生殖への影響とその作用機構に関する研究(科学技術振興調整費)
 - 1) P53欠損CBAマウスの子宮発癌モデルにEEを投与することにより誘発される子宮腫瘍の増強メカニズムを明確にするための分子病理学的解析を行う目的で動物実験を開始し、エストロジェンに反応する遺伝子のクローニングと非RIプローブの作製を行った。
25. 食品中内分泌かく乱物質等の発癌修飾作用に関する実験的研究(厚生科学研究費補助金)
 - 1) P53欠損CBAマウスにエチルニトロソ尿素を投与することにより子宮腫瘍が早期に誘発されることから、このモデルを用い、内分泌攪乱作用のあるビスフェノールAときなこの子宮腫瘍に対する修飾作用を検討した結果、いずれにもそのような作用はないことがわかった。
 - 2) 野生型CBAマウスにENUを1回投与後1年間無処置飼育し、p53欠損CBAマウスでみられるような子宮腫瘍が誘発されるか否かについて検討する実験を終了した。
 - 3) ラットDHPN甲状腺発癌モデルを用いてゲニステインとノニルフェノールの修飾作用を検討した結果、顕著な影響は認められなかった。
 - 4) ラットDHPN甲状腺発癌モデルにおいて大豆タンパクの修飾作用を検討した結果、顕著な影響はみられなかった。
 - 5) ラットDMBA乳腺発癌モデルを用いてノニルフェノールの乳癌発生に対する修飾作用を検討する実験を開始した。
 - 6) ラットDMBA乳腺発癌モデルを用い、乳腺腫瘍発生後に卵摘を行うと同時にゲニステインを投与し、乳腺腫瘍増殖に対する影響を検討する実験を開始した。
 - 7) RasH2マウスにエチルニトロソ尿素を投与し、子宮腫瘍を誘発させ、ゲニステインとノニルフェノールの子宮腫瘍に対する修飾作用を検討する実験を開始した。
 - 8) エチニールエストラジオールを雌rasH2マウスに短期間投与後、エチルニトロソ尿素を単回投与し、子宮発癌に対するホルモン前投与の影響を検討する実験を行った。
26. 食品による膀胱発癌に関する研究(食品等試験検査費)
 - 1) イソチオシアネート類の膀胱発癌機序の解明を目的としてベンジルイソチオシアネート(BITC)の混餌投与を行い、その初期過程に一酸化窒素やプロスタグランジンの生成が関与する可能性を見出した。
 - 2) BITCとアリルイソチオシアネート(AITC)の膀胱発癌イニシエーション作用の有無を検索するための動物実験を開始した。
 - 3) 低用量の遺伝毒性発癌物質と種々の用量のBITCを同時に与え、膀胱発癌に対する効果を検討する実験を開始した。
27. 非遺伝子傷害性発癌物質による胃発癌に関する研究

1) カテコールをラットに混餌投与する動物実験を行い、1日、3日、7日、14日と経時的に屠殺して胃を採取した結果、COX-2の発現は経時的に増加したが、iNOSの上皮内での発現はみられず、毒性発現にCOX-2の関与が示唆された。

28. 発ガン抑制・転移抑制薬の開発のための研究（ヒューマンサイエンス財団受託研究費）

1) ラット二段階胃発癌モデルのポストイニシエーション期投与において auraptene と 1'-acetoxychavicol acetate は抑制効果を示した。

2) 腫瘍予防物質探索のためのBOPハムスターモデルの作成に関する短期動物実験を終了した。

3) ハムスター二段階腫瘍発癌モデルを用いて、柑橘類含有成分 auraptene の影響を検討した結果、イニシエーション期投与では顕著な影響がみられなかった。

4) ハムスター二段階腫瘍発癌モデルのイニシエーション段階にアロエを同時投与した結果、抑制効果がみられた。

29. 既存化学物質安全性点検支援システムを利用した評価手法の研究

1) システムを構築し、データ入力を行うとともに、安全性評価業務と評価手法の研究を継続した。

変 異 遺 伝 部

部 長 林 真

概 要

前年度に引き続き、生活関連化合物の安全性に関する研究、変異原性試験法の改良と新しい手法の開発に関する研究、突然変異誘発に関する基礎的研究、変異原性試験のデータベースに関する研究、および細胞株の収集、保存、開発に関する研究を行った。特に、大腸菌の自然突然変異を促進する DinB の研究から、大腸菌からヒトに至る新しい DNA ポリメラーゼファミリーの存在が明らかになり、これらの酵素が DNA 修復と突然変異において重要な役割を果たしていることが示唆された。

人事面では、祖父尼俊雄部長が平成11年3月31日付で定年退官し、その後任として変異遺伝部第一室長の林真が平成11年4月1日付で就任した。また、変異遺伝部第一室長には本間正充主任研究官が平成11年4月1日付で就任した。祖父尼俊雄前部長は19年におよぶ在籍期間中、変異原性部の発展に大きく寄与し、特に医薬品規制ハーモナイゼーション(ICH)において我が国における変異原性研究の国際化に多大な貢献をした。これらの点が評価され、特に功績が大であった者として職員表彰内規に基づいて表彰された。平成9年4月から臨時職員として第三室において細胞バンク事業に協力した峯岸大輔氏が平成12年3月31

日付で退職し、その後任として飯塚了太氏を臨時職員として迎えた。HS振興財団の研究支援者活用事業の一環として平成10年1月16日より第一室において培養細胞を用いた研究に従事していた百瀬真希氏は平成11年3月31日付で退所した。第一室の松岡厚子主任研究官が平成11年6月1日から11月30日までの半年間、創薬等ヒューマンサイエンス総合研究推進事業に係わる「外国への日本人研究者派遣事業」により、ストックホルム大学で染色体の数的異常誘発機構の解析に関する研究を行うため出張した。また、第三室の田辺秀之研究員は科学技術庁長期在外研究員として、染色体クロマチン構造の3次元解析に基づいた比較進化学的研究を行うため平成11年8月1日に1年間の予定でドイツミュンヘンのルードヴィッヒマキシミリアン大学で研究を開始した。平成9年3月31日をもって定年退官した第二室松井道子主任研究官は平成11年度も客員研究員として当部の業務に協力している。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引き続き研究に従事している。HS振興財団の流動研究員として平成11年4月より金秀良氏が第二室において大腸菌 *dinB* の遺伝学的研究に従事している。HS振興財団の研究支援者活用事業の一環として平成10年10月1日より田所聡氏が研究支援者として第一室において培養細胞を用いた研究に従事している。

短期海外出張としては、鈴木孝昌第一室主任研究官は、世界保健機構、国際がん研究機構からの要請により平成11年4月19日より25日までの期間、フランスリヨンの国際がん研究機構の多段階発がん部において欧州共同体の研究費による「遺伝子型に基づく突然変異の解析に関する共同研究」のための研究打ち合わせを行った。

増井徹主任研究官は平成11年6月6日～6月10日まで米国ニューオーリンズで開催された米国インビトロバイオロジー学会において「正常ヒト上皮細胞由来増殖停止関連遺伝子によるアポトーシス誘導」に関する研究発表をおよび、情報交換を行った。

鈴木孝昌第一室主任研究官は平成11年7月4日～7月9日までデンマークコペンハーゲン大学で行われた第29回欧州環境変異原学会に出席し、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共同研究の成果について発表を行った。

林 真部長は平成11年10月7日～10月9日まで韓国ソウルに出張し、国際生物統計学会韓国支部講演会において「日本における毒性学者と統計学者の交流の現状」について講演を行うと共に、KFDA/NITRで変異原性試験の新しい動きについて講演を行い、情報交換を行った。

本間正充第一室長は平成11年10月1日～10月6日に米国ボストンに出張し、ハーバード大学衛生学部主催の「放射線とがん」のシンポジウムに参加し、研究発表を行うと共に討議、意見交換を行った。

本間正充第一室長、山田雅巳第二室主任研究官およびピーターグループ研究員は平成11年10月30日～11月9日まで米国ヒルトンヘッドアイランドで開催された米国微生物学会学会主催の「DNA修復と突然変異」に関する研究集会に出席し、研究発表、討議、意見交換を行った。

第二室の能美健彦室長と金秀良流動研究員は、平成11年10月27日～11月10日まで、米国ダーラムのデューク大学へ出張しタンパクの結晶解析法に関する共同研究の打ち合わせを行い、ヒルトンヘッドアイランドの「DNA修復と突然変異」に関する研究集会に出席し、研究発表、討議、意見交換を行った。当研究集会において、能美室長はデューク大学ピーズ教授ならびにフランスCNRN フックス教授とHFSPの共同研究に関する打ち合わせを行った。

山田雅巳第二室主任研究官は平成12年1月8日～1月30日までフランス、ストラスブルグの国立中央科学研究所(CNRS)へ出張し、大腸菌DinB(DNA pol IV)のDNAポリメラーゼ活性に関する共同研究を行った。

鈴木孝昌第一室主任研究官は平成12年1月11日～1月15日に米国サンタフェにて開催されたキーストンシンポジウム「分子毒性学、トキシコジェノミクスおよびそれらと関連するバイオインフォマティクスの創薬への応用」に関する会議に出席し、情報収集を行った。

本間正充第一室長は平成12年2月14日～3月3日まで国際協力事業団による中華人民共和国医薬品安全性評価管理プロジェクトにおける短期調査のため中国北京に出張した。

能美健彦第二室長は平成12年2月27日～3月4日まで米国ベンチュラで開催された「突然変異と発がん」に関するゴードン会議に出席し「*in vivo*突然変異」のセッションの座長をつとめた。

鈴木孝昌第一室主任研究官は平成12年2月29日～3月1日に米国ボルチモアで開催された健康科学研究所の「メカニズムに基づいたリスク評価へのジェノミクスの応用に関するプロジェクト」会議に出席し、国際共同研究に関する打ち合わせを行った。

本間正充第一室長は、平成12年1月13日～1月20日まで米国サンジエゴで開催された国際DNA修復欠損会議に出席し、ミスマッチ修復欠損細胞に関する研究発表を行うと共に、DNA修復異常によって引き起こされる遺伝性疾患に関する情報交換、情報収集を行った。

研究業績

1. 食品添加物の変異原性に関する研究

2種類の天然添加物(焙煎ダイズ抽出物、ガストリックムチン)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. 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、メチルアルシン酸、トリメチルアルシンオキシド)についてチャイニーズ

ハムスター肺由来細胞株CHL/Uを用いる小核試験を実施した(環境庁企画調整局環境保健部)。

3. 遺伝子改変テスターを用いる第二世代変異原性試験法の開発

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、紫外線処理により得られた変異体の分子解析を行った(HS財団受託研究費)。

4. 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ガイドライン(案)に従って、*p*-クロロアニリンおよび2-クロロ-4-ニトロアニリンの小核試験を行い、同時に実施した染色体異常試験結果と比較し、両者の結果が一致することを確かめた(労働省化学物質情報課)。

5. 培養細胞を用いる異数性検出系の開発ならびに異数性誘発機構の解明に関する研究

*In vitro*小核試験における多核細胞の出現、分裂細胞頻度の増加が化学物質の数的異常誘発を検出するための良い指標となることが示唆された。また、チャイニーズ・ハムスター細胞株V79-MZ細胞株において、ジメチルベンツアントラセンが紡錘体の形成を完全に阻害し、結果として倍数性が誘発されることが判明した。

6. トランスジェニックマウスを用いた変異原性試験に関する研究

ヘテロサイクリックアミンMeIQ_xの長期投与により*gpt delta*マウスに誘発された突然変異を分子レベルで解析した(厚生省がん研究助成金)。また、制がん剤投与によって得られた*cII*変異体のDNA塩基配列の解析を行った結果、プロカルバジンおよびシスプラチンに特徴的な変異スペクトルが明らかになった(厚生省がん研究助成金)。

7. トランスジェニックマウスを用いる変異原性試験のパリデーションに関する研究

日本環境変異原学会MMS研究会の共同研究として*gpt delta*マウスを用いる試験系のパリデーションを行い、研究施設間におけるデータベースのばらつきについて検討を行った。

8. 医薬品規制ハーモナイゼーションに関する国際共同研究

ICHのS2グループにおいてメンテナンスの重要課題として問題となっている*in vitro*培養細胞を用いる小核試験法の評価を行うため、EUを中心とした国際共同研究に参加し、小核誘発の作用機序の異なる7種類のモデル化合物と2種類の陰性化合物について、サイトカラシン処理の必要性、被験物質での処理時間等、試験法を中心に検討した(医薬安全局審査管理課)。

9. 突然変異の誘発を促進するタンパク質の構造と機能に関する研究

MucBタンパク質の構造と機能に関する研究を行った。表面プラズモン共鳴装置を用いた研究からMucBは大腸菌

のプロセシビティー因子である β サブユニットと相互作用することが示唆された(国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁)。

10. 誤りがちDNA修復による突然変異誘発の分子機構の解析に関する研究

自然突然変異の誘発を促進する大腸菌のDinBの分子機構について検討し, DinBが新規なDNAポリメラーゼであることを明らかにした(文部省科学研究費)。

11. 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

化学物質(PhIP)の肝臓, 大腸, 脾臓, 精巣, 脳, 骨髄に対する変異原性をトランスジェニックマウスを用いて検討した(科学技術振興調整費, 重点基礎研究, 科学技術庁)。

12. 損傷DNAの複製に関する研究

DinBの各種変異体についてDNAポリメラーゼ活性を測定し, N末端領域に位置するAsp8, Arg49, Asp103, Glu104を置換した変異体では, *in vivo*の変異原促進能と*in vitro*におけるDNAポリメラーゼ活性が失われていることを明らかにした(ヒューマン・フロンティア・サイエンス・プログラム(HFSP))。

13. ヒト細胞ゲノム中のダイナミックな遺伝子突然変異の誘発機構に関する研究

ミスマッチ修復系に異常を持つ細胞の各種変異原に対する感受性や突然変異スペクトラムを検討した。

14. 酸化的DNA損傷に対する防御機構の研究

ヒト*oggl*遺伝子と相互作用するヒト遺伝子の検索を行った。また, *oggl*遺伝子をノックアウトしたマウスと*gpt delta*マウスとの交配を行い, *oggl*遺伝子の欠損により自然突然変異体頻度が上昇することを明らかにした。

15. DNA修復異常遺伝病の分子機構の解明に関する研究

ウェルナー症患者由来の細胞を用いた*in vitro*小核試験を行い, エトポシド等モデル化学物質について染色体異常誘発性に対する感受性の比較を行った結果, 顕著な差は認められなかった。また, RecQ遺伝子を欠損させたトリDT40細胞についても小核試験を実施した(厚生科学研究費・ヒトゲノム遺伝子治療研究事業)。

16. 既存化学物質安全性点検支援システムを利用した評価手法の研究

細菌を用いる復帰突然変異試験, *in vitro*染色体異常試験, マウスを用いる小核試験のデータ入力のためのフォーマットに修正を加え, 改良を行った。

17. 培養細胞研究資源の整備に関する研究

長期保存のための「種」細胞について再構築を実施した(約30株)。マイコプラズマ汚染, ウイルス汚染の検出を実施し, 必要に応じて除去を実施する等細胞バンク基盤の整備を継続して実施した。

18. 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

ヒト由来組織の凍結保存及び回復法について検討を加えた。倫理規定の原案を作成し, 登録時の書式等についての原案を作成し, 公表した。また, 病院からの細胞の入手について検討を加えた(HS財団受託研究費)。

19. 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

BVDV検査と, 細胞識別法の実施について継続して検討を進めた。BVDVによる高頻度汚染を確認し, 原因が血清に由来することを明らかにした。資源管理コンピュータシステムをWindowsに移行した。細胞識別システムは, WWWに公開し外部の研究者が直接参照できるように整備した。(厚生科学研究費補助金事業)。

20. ヒト初代培養細胞系の研究資源化に関する総合的研究

ヒト正常2倍体細胞をHSRRBから分譲することが困難であることが明らかとなったため, マスターバンクから供給する体制を確立した。10株の正常2倍体細胞を作製した(厚生科学研究費補助金事業)。

21. 上皮細胞の増殖停止機能の解析に関する研究

Eti-1遺伝子の細胞増殖抑制はP53遺伝子の発現状況に依存することが明らかとなり, その性状について検討を行った。

22. 生物系研究資料データベース構築に関する研究

昨年に引き続き約600レコードの画像データを蓄積し, その全てをWWWサイトを通じて公開した。昨年構築した, Linuxサーバの安全対策を実施した。外部からの攻撃に際しての対処法を確立した(科学技術振興調整費, 科学技術庁)。

23. 培養細胞個別識別システムの導入に関する研究

培養細胞の相互混入防止を目的に, 遺伝子配列に基づいた細胞識別報(STR-RCR)を新たに導入し, ヒト細胞の標準品質管理法として確立した。この有効利用を図るため新たに細胞識別データベースを構築し, 結果をデータベース化した。さらに, WWWインターフェースプログラムを作成して細胞識別情報を公開した(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

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は平成9年5月1日より継続して厚生省生活化学安全対策室化学物質専門官との併任として新規化学物質および既存化学物質の安全性試験結果の予備評

価に従事している。小泉睦子技術補助員は平成10年6月1日より継続してOECDの評価文書作成の補助を行っている。

本年度は昨年度に引き続き、安全性生物試験研究センターの各部と連携して、化審法に基づく新規および既存化学物質の安全性評価および現在進行中のOECD高生産量既存化学物質の安全性点検作業に関する業務を行っており、また研究面では内分泌かく乱化学物質、環境化学物質および水道汚染物質の毒性評価に関する研究を行っている。

海外出張としてはOECD関連で、長谷川室長が「第29回OECD化学品合同会合」(平成11年6月、フランス)、「第9回高生産量化学物質初期評価会議」(平成11年6-7月、フランス)、「第8回OECD既存化学物質に関するタスクフォース会合」(平成11年10月、フランス)に、広瀬主任研究官が「第1回OECDのIUCLID改良のためのエキスパート会議」(平成12年2月、フランス)に出席した。また、長谷川室長および広瀬主任研究官は「第19回ダイオキシン国際シンポジウム」(平成11年9月、イタリア)および「ダイオキシンのヒトへの影響についての会合」(平成11年11月、ドイツ)に出張した。

化審法GLPの査察には、当室から2カ所、延べ2名が参加した。

業務業績

1. OECD高生産量化学物質の評価文書の作成

1993年から開始されたOECD高生産量化学物質安全性点検計画に関する業務として、本年度は7物質の初期評価文書を作成し、1999年6-7月に開催された第8回初期評価会議で討議後、合意された2,2'-アゾビス(2-メチルプロパンニトリル)、4-ヒドロキシ安息香酸、イソシアヌル酸、ジメチル2,6-ナフタレンジカルボン酸の初期評価文書を修正・完成させ、OECD事務局に送付した。続いて、5物質の評価文書案を作成・送付し、2000年3月に開催された第10回初期評価会議において討議した。提出した5物質の初期評価文書(p-tブチルフェノール、1,1,2-トリクロロエタン、1,4-ブタンジオール、グリシジルメタクリル酸およびジアセトンアルコール)すべてが合意された。なお、現在初期評価文書の形式を大巾に改訂する作業が進められており、OECD事務局からの依頼で、ジアセトンアルコールについて新しい形式でモデル初期評価文書を作成中である。

2. 新規化学物質の安全性評価業務

昭和48年10月16日制定され、昭和49年4月施行された「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」〔化審法〕は、難分解性・低蓄積性の性状を有する新規化学物質について、毒性試験(いわゆるスクリーニング毒性試験)実施を要求している。この試験結果から新規化学物質は、指定化学物質または白物質として公表されている。この試験結果の評価作業に協力するとともに、これら試験結果のデータベース化を行っている。平成11年度は計242の新規化学

物質についての評価作業を行った。

3. 既存化学物質の安全性評価業務

1993年から開始されたOECD高生産量化学物質安全性点検計画の業務に関連した化合物と国内独自の既存点検物質のスクリーニング毒性試験を、厚生省が国内の受託試験機関に委託している。これらの試験計画書の確認と最終報告書のピアレビュー及び評価作業に協力するとともに、これら試験結果のデータベース化を行っている。

4. 化審法の届出業務の電子化に伴う業務

行政改革の一環として、新規化学物質の届出業務を電子化することとなり、それに伴う新規化学物質の評価作業手順や新規化学物質データベースの変更作業に協力している。

5. その他(各種調査会等)

中央薬事審議会医薬品添加物調査会、残留農薬安全性評価委員会、医薬品GLP評価委員会、内分泌かく乱作用を指標とした農薬リスク評価法試験法検討会、ダイオキシン類のTDI見直しに関するワーキンググループ、生活環境審議会PRTR法対象化学物質専門委員会、既存天然食品添加物の安全性評価に関する調査研究班会議、生活環境審議会水道部会水道管理専門委員会および化学物質安全性評価検討会〔環境庁〕の活動に協力した。

研究業務

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2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構築に関する研究

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1300品目のデータを入力し、安全性評価作業に利用している。

2. 化学物質の乳幼児における毒性発現に関する研究

離乳直後の動物に対し、適切かつ可能な投与方法や投与期間の設定等の検討を行い、広範な種類の化学物質について、同一の化学物質の成熟動物に対する無毒性量と乳幼児に対する無毒性量を求め、この値や毒性変化を比較することにより、乳幼児における毒性発現の特性を把握するための研究を行っている。

3. ラット $\alpha_2\text{U}$ グロブリンの分析手法に関する研究

ラットを用いた毒性学的試験で、雄の腎臓の組織学的検査で特異的に見られる好酸性小体または硝子滴所見は、雄ラットのみが産生する $\alpha_2\text{U}$ グロブリンと化学物質複合体の蓄積により発現するとされている。そこで、 $\alpha_2\text{U}$ グロブリン抗体を作成し、それを用いた免疫組織化学的検討を行うため、雄ラットの尿から $\alpha_2\text{U}$ グロブリンを分離・精製し、ウサギを用いて抗体の作成を行い、陽性対照物質投与試験の組織標本を用いて検討した。

4. 内分泌かく乱化学物質の毒性評価に関する研究

内分泌かく乱作用の検出法について文献調査し、まとめるとともに内分泌かく乱物質とされている化学物質のうち、アルキルフェノール類について、主に一般毒性、エストロゲン様作用、生殖発生への影響を文献調査し、評価した（平成11年度厚生科学研究費補助金 生活安全総合研究事業：内分泌かく乱化学物質等、生活環境中化学物質による人の健康影響についての試験法に関する調査研究：分担研究）。また、環境化学物質の内分泌かく乱作用についての最新研究報告内容や内分泌かく乱作用の検出法に関して日本油化学会雑誌で解説すると共に、アルキルフェノールのエストロゲン様作用と生殖器系への影響について、食品化学学会誌に投稿した。

5. 水道水に係わる毒性情報評価に関する研究

平成11年度は、昨年に引き続きアンチモンとニッケルの最新情報のフォローをすると共に、最近問題となっている未規制物質のうちMTBE（メチルトブチルエーテル）、アトラジン、ヒ素、MX（3-クロロ-4-(ジクロロメチル)-5-ヒドロキシ-2(5H)-フランソンの毒性情報の収集、整理を行った。（平成11年度厚生科学研究費補助金 生活安全総合研究事業：水道における化学物質の毒性、挙動及び低減化に関する研究：分担研究）また、ジクロロ酢酸については、さらに詳細な再調査・評価を行い、水環境学会誌に公表すると共にMXの毒性評価や飲料水中の安全性についても、Rev. Environ. Health誌に公表した。

6. ダイオキシンの毒性評価に関する研究

平成10年5月にWHOで行われたダイオキシン類の1日摂取量(TDI)の改定作業を受け、日本でも平成11年6月に行われたダイオキシン類のTDI見直しのために、平成10年度より引き続き、実験動物に対する毒性影響を最新の知見を再調査し、その毒性評価を行った。また、ダイオキシン類の毒性影響に関する国際動向調査のために、イタリアの

ベニスで行われた「第19回ダイオキシン国際シンポジウム」(平成11年9月)およびドイツのベルリンで行われた「ダイオキシンのヒトへの影響についての会合」(平成11年11月)に参加した。

7. 既存天然食品添加物の安全性評価に関する調査研究

平成7年度から始まった既存天然食品添加物の安全性評価の一環として、既存食品添加物名簿489品目中、安全性が確認されていない139品目について安全性試験成績を収集し、基本的な安全性評価が行われているが、当室ではこれら安全性試験成績のうち単回及び反復投与毒性試験の試験結果を評価しており、平成11年度は6品目について安全性評価を行った（平成11年度食品添加物安全性評価等試験検査費 食品添加物安全性評価費 調査研究報告書「既存天然食品添加物の安全性評価に関する調査研究」）。

医薬品医療機器審査センター

センター長 豊 島 聡
前センター長 首 藤 紘 一

平成9年7月に設立された、医薬品医療機器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、平成11年度の審査センター業務はおおむね順調に推移した。審査体制については更に充実が図られることとなり、4月から新たに審査第四部が設置され中村晃忠療品部長が併任した。また、8月の人事異動により企画調整部に浜田淳部長が、審査第二部に古澤康秀部長がそれぞれ就任した。増員も11名が認められ、このため、4月から5月にかけて新人研修を行った。

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12年度には1名の増員が認められたところであり、新年度からは、更に強化された陣容で適切に業務を執行していきたい。

また、平成11年11月には中央薬事審議会の審査関係の調査会は廃止されたところであり、これにより本格的な内部審査体制が確立するとともに、審査における科学的評価の部分は名実ともに当審査センターが責任を負うこととされたことから、一層気を引き締めて審査業務に当たってきたい。

企画調整部、審査第一部、審査第二部、審査第三部、審査第四部

企画調整部長 浜 田 淳
審査第一部長 池 谷 壮 一
審査第二部長 古 澤 康 秀
審査第三部長 橋 爪 章
(前審査第三部長 苗 村 光 廣)
審査第四部長 (併) 豊 島 聡

(前審査第四部長(併)中村晃忠)

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特別部会で審議が行われるが、特別部会への対応等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、審査第二部、審査第三部及び審査第四部において行い、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、などを、審査第二部は医療用新医薬品のうち、循環器官用薬、中枢神経用薬、呼吸器官用薬、アレルギー用薬等を、審査第三部は、医療用新医薬品のうち生物学的製剤、血液製剤等、医療用後発医薬品、一般用医薬品、医薬部外品並びに化粧品を担当した。審査第四部は、医療用具の承認、再審査、再評価に必要な審査並びに体外診断用医薬品及び歯科用医薬品を担当した。

審査センターの設置に伴い、審査の仕方はかつての調査会中心の外部審査から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、審査結果は審査報告書に取りまとめることとした。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分野を分担する体制を取っている。

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、あくまでも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、主として安全性の観点から必要に応じ、企業に見解を照会したりコメントを行う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はかっているところである。

以上のほか、後発品の審査、海外を含めたGCP査察の実施、再審査・再評価関係の審査事務などもしっかり実施した。

業務実績

平成11年度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。

製造また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1,000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。

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4,230件の届出があった。また、治験中の副作用報告として12,209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ものに係る臨床試験について、申請企業、医療機関合計で10カ所に対してGCP査察を実施した。

医薬品再審査については39品目、医薬品再評価については663品目の処理を行った。

大 阪 支 所

支所長 岡田敏史

平成11年度は、大阪支所が戦後間もない昭和24年4月に東京衛生試験所大阪分室として発足以来、丁度50年の節目にあたるということで50周年記念事業を計画し、記念碑(大阪衛生試験所発祥の地)の建立と50周年記念誌の発刊を行った。ただし、記念碑の建立についてはOB職員による世話人会を中心とし、現職員は事務局として協力した。

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)」(基盤研)の創設は、平成7年4月に試験研究機関の重点整備・再構築(案)の一環として提起されたものである。その後、社会経済状況の急変により具体的な青写真づくりに至らないまま休眠状態にあったが、省庁再編及び試験研究機関の独立行政法人化についての方向性が固まってきたことを受けて、平成11年度には新しい動きがみられた。

平成12年度予算要求に向けて、厚生省試験研究機関の再編成のための全体調整及びグループ別調整が急速に進められ、当初のグランドデザインに対する見直し(微調整)が行われた後、平成14年3月には重点整備・再構築を一段落させるとの方向が示された。

基盤研については、その具体化を図るため平成11年度厚生科学研究班(主任研究者:岸本忠三大阪大学学長)が組織され、ポストゲノム(未来医療)整備構想が示された。

この研究班は、引き続き平成12年度も継続研究を行うものとみられ、平成12年6月には中間報告が予定されている。

平成11年5月、総務庁近畿管区行政監察局による行政監察が行われた。試験研究業務が適切に遂行されているか、施設設備、分析用大型機器の活用状況、研究職員の任用状況にいたるまで行政監察の対象となった。この結果は、国立衛研全体に対する行政監察報告として平成12年度中にまとめられる予定とされている。

施設・設備等の関係では、女性用ロッカー室の模様替え、休養室の整備（畳、壁等）、風呂場の改修によるシャワー室の新設、ガスコンロ及び流し等の取り替え工事等を行い、長年の懸案が解決された。

試験検査業務については、ヒトインスリン製剤に対する国家検査及び食用タール色素に対する製品検査が引き続き実施された。ただし、ヒトインスリン製剤に対する国家検査は、1社についてのみ継続されていたものであり、平成12年3月を以て2年間の検査期間を終了した。今後は、新たに製造しようとするもの、製造施設の移転等があった場合などに検査命令が出されることになる。

平成11年度の家国家検査、製品検査、標準品製造等についての大阪支所全体としての業務実績は、次のとおりである：医薬品の国家検査160件、食用タール色素の製品検査260件、一斉取締試験96件、輸入食品試験2件について実施した。このうち、色素の製品検査で1件、一斉取締試験で2件の不合格品があったが、他はすべて合格であった。また、標準品については、医薬品試験用標準品32品目につき、計6,684個を製造した。

平成11年度の厚生科学研究費補助金及びHS財団の創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業による研究費により支所において実施された研究課題数は、厚生省特別研究2課題、厚生科学研究13課題、食品等試験検査費4件、家庭用品等試験検査費1件、HS財団受託研究3課題のほか、薬品試験部及び生物試験部は、医薬安全局監視指導課による「後発医薬品の再評価事業」への協力を行った。それらの成果については、以下の支所各部による業務報告のとおりである。

なお、平成11年11月30日付けで川島邦夫生物試験部長が退職し、引き続いて12月1日付けで岡田敏史支所長が生物試験部長事務取扱をすることとなった。

薬 品 試 験 部

部長（支所長事務取扱） 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性医薬品の高分子特性評価とそれらの応用に関する研究、エマルシ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、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機序の解明とそれに基づく薬物療法の最適化設計に関する研究、ヒト型試験系の確立に関する研究などを行った。

また、HS財団の創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業に1課題で参加したほか、厚生科学研究費補助金による医薬安全総合研究事業の4課題に分担研究者として参加し、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査が昨年度に引き続き行われたが、件数は前年度に比べ減少した。これは1社の製品については平成11年3月を以て国家検査を終了していたことによるものであり、他の1社の製品のみが検査の対象となっていたことによる。平成12年3月を以て、これらの製品に対する国家検査も終了することとなった。今後は、新たに製造承認がされた場合、承認内容の一部変更が行われた場合、製造施設の移転等があった場合などに検査命令が出されることになる。

新規標準品として、スウェルチアマリン、ニコチン酸トコフェロール及びトロンボモジュリンの3品目を新たに設定した。ただし、トロンボモジュリンについては、厚生科学課の判断により、まだ告示に至っていない。

谷本室長は、JICA専門家として中国の天津薬品検査技術プロジェクトの指導のため、中国に出張した（平成11年7月17日～8月28日、天津）。同室長は、ICH/Q7A専門家会議に出席し、ICH/GMPガイドライン作成のための協議を行った（平成11年10月3日～10日、ワシントン）。また同室長は、WHOによる東南アジア地区における不正医薬品鑑別法に関する研修会に講師として出席した（平成11年12月5日～11日、マニラ）。また、前川技官は、US-JAPANアルドース還元酵素ワークショップ（平成12年1月22日～28日、ハワイ）に、斎藤技官は、生体高分子とモデル膜の相互作用に関する国際学会（IBMM2000）（平成12年3月24日～31日、ハレ）に、四方田室長及び宮崎技官は、第219回アメリカ化学会（平成12年3月25日～4月1日、サンフランシスコ）に出席し、それぞれの研究成果を報告し、関連分野の研究者との意見交換及び情報収集を行った。

業務成績

1. 国家検査

ヒトインスリン製剤の国家検査は160件あり、すべて合格であった。なお、本年度対象としてきたヒトインスリン製剤の国家検査は、平成12年3月を以て終了した。今後は、新たに製造承認を受けたヒトインスリン製剤等が国家検査の対象となる。

2. 一斉取締試験

平成11年度の一斉取締試験は、前年度に引き続き後発医薬品の再評価事業の一環として行われることとなった。

後発品の多い注射剤71件、輸液製剤等(腹膜透析用剤)13件及び後発品の多い経口剤12件の計96件が対象品目となった。このうちエルカトニン注射液10件については定量試験を、後発品の多い注射剤(メキタジン製剤)12件については、製剤機能試験(崩壊試験又は溶出試験)及び定量試験を実施し、その他については異物試験を行った。この結果、エルカトニン注射液で1件(含量不足)及びグリチルリチン・アミノ酸複合注射液で1件(白色薄片状異物)が不適と判定され、その他はすべて合格であった。

3. 標準品製造

28品目、計4,168個の標準品の製造を行った。なお、平成11年度新規製造予定品目については、平成12年3月31日付でスウェルチアマリン及びニコチン酸トコフェロールが新たに告示された。トロンボモジュリンの告示時期については、厚生科学課と交渉中である。

4. 指定検査機関を対象とする技能試験

前年度に引き続き、厚生大臣が指定する指定検査機関の医薬品試験検査技術の向上と検査結果の信頼性確保を図るための技能試験を実施した。各都道府県薬剤師会附属の試験検査センターを対象としているが、今年度は希望があれば地方衛生研究所も対象とすることとし、参加希望のあった6府県の地衛研も同じ内容での技能試験を実施した。

5. 国際協力

WHOからの依頼により、不正医薬品の試験検査・検査技術の指導を東南アジア諸国及び中国の技術者に対して行った。

また、国際協力事業団の天津薬品検査技術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、日本抗生物質医薬品基準、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(監視指導課)等に協力した。

なお、平成11年11月に中央薬事審議会の大幅な組織改正があり、承認審査に関わる新薬調査会等が廃止され、審査センターを中心とする内部審査方式に改められることとなり、必要に応じて専門協議の場に参加し、協力することとなった。

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

日周一般試験法「粘度測定法」、「赤外吸収スペクトル測定法」及び「pH測定法」につき、改正案を作成し、局方調査会に提出した。既に、審議終了し、JPフォーラムに内示案が公開された。また、「電気滴定法」の改正案を「滴定終点検出法(電気滴定法)」として提案し、局方調査会において審議された。その結果、ほぼ原案どおり承認され、内示案としてJPフォーラムに公開された。

また、昨年に引き続き、生物製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。

(2) 標準品の品質規格の設定に関する研究

(2)-1 スウェルチアマリン標準品及びニコチン酸トコフェロール標準品の各候補品につき、生薬部及びその他の外部機関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12年度新規製造予定のセンノシドA、センノシドB及びプエラリン標準品製造のための予備調査及び試験研究を行った。

(3) 情報理論に基づいた分析値信頼性評価手法の開発

HPLCの検量線に由来する不確かさを、FUMI理論により求められる測定値の分散から推定できることを実際の検量線の日間変動データに基づいて検討した。

(4) 医薬品の光学分割に関する検討

ロートエキス製剤中のヒヨスチアミンの光学分割に円偏光二色性検出器を適用したところ、HPLCで光学分割が不十分な場合でも、理化学的に分離定量が可能となることが明らかとなり、医薬品中の光学異性体の純度試験に有効な方法であることが示された。

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) 酸性多糖類と医薬品との複合体生成

ヒアルロン酸水溶液及びヒアルロン酸ゲルと医薬品との相互作用につきさらに検討を続け、構造の大きく異なる一連の医薬品においても、ヒアルロン酸との相互作用の強さは各医薬品の臨界ミセル濃度と相関が認められることを示した。また、酸性多糖類とテトラサイクリン類のドキシサイクリンとの熱可逆性ゲルでは、酸性多糖と医薬品の結合比は等量であり、塩溶液中で一次の放出を示すことが明らかとなった(HS受託研究)。

(2) 水溶性高分子の特性解析における粘度検出器の適用につき検討し、多糖類の特性評価に応用可能であることを明らかにした(HS受託研究)。

3. 血漿アポリポ蛋白質の結合選択性を利用した脂質エマルションの代謝制御

脂質エマルションとアポリポ蛋白質やリポ蛋白質リパーゼとの相互作用について *in vitro* 及び *in vivo* で評価を行った結果、スフィンゴミエリンはアポEの結合性やリポ蛋白質リパーゼの反応性を阻害することでエマルションの血中滞留性を著しく増加させること、コレステロールはアポCのエマルションへの結合を阻害することで逆に血中消失を促進することを明らかにした(文部省科学研究費)。

4. リポソームの薬物キャリアーとしての応用に関する基礎的研究

カチオニックリポソームとプラスミドとの複合体の構造

をX線小角散乱によって測定し、プラスミド発現効率と膜構造との関連性を検討した。その結果、中性脂質であるコレステロールが膜構造を堅固にすることで血中での複合体の構造を安定化していることが示唆された。

5. 創薬基盤技術の開発に関する生物化学的研究

(1) 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

培養ラットシュワン細胞におけるSDH mRNAの発現は高グルコース負荷及び高浸透圧負荷で変動しなかったことから、高浸透圧負荷における細胞内のソルビトール蓄積にはAR mRNA発現の誘導が重要であることを明らかにした。

(2) ヒト型試験系に関する研究

マウスAR遺伝子を欠損させてヒトAR遺伝子を発現するノックアウトマウスを作製するためのターゲティングベクターの設計を行い、その作製を開始した。

(3) 糖尿病合併症の発症機序の解明とそれに基づく薬物療法の最適化設計に関する研究

末梢神経シュワン細胞でポリオール経路が強く発現しており、この経路を構成するAR及びSDHのmRNA量を培養シュワン細胞で比較したところ、AR mRNAはSDH mRNAの約10倍量存在することが明らかになった。この結果から、末梢神経シュワン細胞はソルビトールを蓄積しやすい性質を有することが示唆され、AR阻害剤による薬物療法は生体内ARレベルを指標として投与設計することが重要と考えられた。

(4) 熱帯病に対する新たな治療薬に関する研究

南米産薬用植物より抗リーシュマニア活性をもつゲルマクラン化合物数種類の分離、合成、同定を行い、その作用機序について検討を行ったところ、リーシュマニア酵素系の阻害であることが推測された。

食 品 試 験 部

部 長 外 海 泰 秀

概 要

昨年に引き続きタール色素及びレーキの製品検査、輸入食品検査を行うと共に、残留農薬の分析等に関する研究、食品添加物等の安全性に関する研究、新開発食品等の安全性確保に関する研究、内分泌かく乱物質の食品汚染実態及び摂取量に関する調査研究を行った。

人事面では平成12年3月で岡田 舞技術補助員が退職し、同年4月1日付けで海野有紀子技術補助員が採用された。

海外出張では辻 澄子室長が平成11年9月26日より30日まで米国・ヒューストンで開催された第113回AOAC国

際会議に、吉井公彦、天倉吉章研究員が平成12年2月9日から11日までベルギー・ブルージュで開催された第6回クロマトグラフィー分析に関する国際会議に、また外海泰秀部長、石光 進室長が平成12年3月25日から31日に米国・ヨセミテで開催された第12回カリフォルニア残留農薬ワークショップにそれぞれ参加し、発表した。

業務成績

1. 製品検査

タール色素及びタール色素レーキ260検体（平成11年4月1日～平成12年3月31日）について検査を行った。食用青色1号アルミニウムレーキの1件が他の色素の項で不合格となった。

2. 輸入食品検査

オランダ産リキュール2件の副成色素の検査を行った。

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

食添Ⅶに、5種類のアゾ系タール色素中の有機性不純物のHPLCによる限度規格が設定された。しかし、それらのHPLC条件は各色素毎に異なるため、多数の検体を処理する製品検査では多大の時間を要し、検査遂行に不都合を来す。また、Y-5中の4,4'-(ジアミノ)ジベンゼンスルホン酸=二ナトリウム塩(DAADBS)及びスルファニル酸アゾG塩色素(SA-G)が同一ピークを示し、分離・定量が難しい。そこで、Y-5中のDAADBS及びSA-Gが分離・定量できるHPLC条件を検討し、さらにその方法を他の4種類のアゾ系食用色素に適用して統一的なスクリーニング法を開発した。本法による平成11年度製品検査アゾ系タール色素163検体中の有機性不純物の実態調査結果では、全ての検体中の規制対象物質は規格内であった。

(2) 食品中の添加物の分析法に関する研究

既存添加物名簿収載品リストに酸化防止剤として収載されているエラグ酸について、カートリッジカラム法による精製、高速液体クロマトグラフィーを用いた分析法を作成した。また本法を用いて、食品中の含有量調査を行った結果、加工品に添加物としての添加は認められず、天然物(主に果実)由来の検出が認められた。

(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

規格整備されていない既存添加物エラグ酸の規格基準作成に寄与するための試験として、純度試験の重金属の項についてICP発光分析法の適応を試み、それらを含めてエラグ酸の規格案を作成した。

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

農作物中クレトジム、クレトジムスルホキサイド及びクレトジムスルホンを全てスルホン化し、ミニカラムで精製

後HPLCで測定し、含量を算出する分析法を作成した。本法を各種農産物に適用し、良好な結果を得た。

(2) 残留農薬告示分析法見直しに関する研究

昨年に引き続きフルスルファミド、ベンタゾン、イナベンフィドの告示分析法の改定案を検討した。上記3農薬を誘導體化することなくHPLCで同時分析し、LC/MSで確認する方法を作成した。また、バミドチオン、メチオカルブ、ニテンピラムの現告示法における有害溶媒ジクロロメタンを他の抽出溶媒に置き替える検討を行った。ジクロロメタンを酢酸エチル等に代替して分析を行った場合、回収率が70%以下と低くなった。

(3) 残留農薬の超迅速分析法開発に関する研究

青果物中に残留する27農薬を、超臨界流体抽出装置、固相抽出 (Sep-Pak FlorisilとBond Elut PSA) によるクリーンアップ及びフォトダイオードアレイ検出器付きHPLCで測定を行う迅速分析法を開発した。農作物によっては妨害ピークが多く測定が困難なものもあったため、クリーンアップの際の溶出を3画分に分けることによって、妨害ピークを分散させて目的ピークとの分離を図った。本法を各種農作物に適用し概ね良好な結果を得た。

3. 輸入食品検査に関する研究

小麦等のポストハーベスト農薬として用いられるマラチオンは、厚生省告示分析法で測定する際、実際に含有している量よりも低い測定値しか得られないことを見出し、この原因究明を行った。その結果、粉碎した小麦に水を加えて膨潤する操作によって、小麦中のマラチオンが酵素的に分解することが判明した。

4. 新開発食品等の安全性の確保に関する研究

茶ポリフェノール及びタンニン酸を0.01-1.0 g/kgの用量でラットに3週間強制経口投与し、血清抗酸化物質、血清脂質、ステロイド及びミネラル排泄に及ぼす影響を調べ、以下の結果を得た。①タンニン酸は0.1 g/kg以上の投与量でラットの成長抑制作用を示したが、茶ポリフェノールは0.5 g/kgの投与量で生長抑制の傾向がみられた。②茶ポリフェノール、タンニン酸ともに肝臓トリグリセライド濃度を有意に上昇させる傾向があった。③血清TBARS値は茶ポリフェノール1.0 g/kg投与ラット及びタンニン酸0.1-1.0 g/kg投与ラットで有意に低下した。④茶ポリフェノール及びタンニン酸は、用量非依存的に糞中中性ステロイド・胆汁酸排泄量及びその組成に影響を及ぼした。⑤茶ポリフェノール及びタンニン酸は、同時投与でない限りにおいては、肝臓ミネラル含量や糞中ミネラル排泄量に顕著な影響を及ぼさなかった。

5. 内分泌かく乱物質の食品汚染実態及び摂取量に関する調査研究

フタル酸エステル類について、日本国内で喫食されている食品の汚染実態及び摂取量を把握するための研究を行った。フタル酸エステル類11種及びアジピン酸ジ(2-エチル

ヘキシル) (DEHA)を調査対象とした。試料をアセトニトリルで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配及びフロリジルとPSAを組み合わせたカラムで精製し、GC/MSで測定する分析法を開発した。この方法を用いて3機関で同一の試料を分析した結果、標準偏差の幅は平均値の10%未満または検出下限値 (LOD) 以下で、分析値はよく一致した。実態調査として市販弁当・定食及び病院給食を分析した結果、いずれにおいてもDEHPの検出量が最も高かった。DEHP摂取量の平均値は、定食10検体で一食当たり40 μ g、弁当10検体で一食当たり1768 μ g、3地域の3病院において提供された給食各1週間分 (計63検体) で一日当たり519 μ gであった。その他のフタル酸エステル類についてはいずれも一食または一日当たり平均300 μ g未満の摂取量であった。

生 物 試 験 部

部長 (支所長事務取扱) 岡田 敏 史

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、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、内分泌かく乱化学物質等、生活環境中化学物質による人の健康影響についての試験法に関する調査研究、タバコ含有物質による健康増進に及ぼす影響に関する研究、医療材料などにおけるエンドクリン阻害物質に関する研究、ビスフェノールA、ゲニステイン等の繁殖影響及び体内動態に関する調査研究、ダイオキシン類の健康影響に関する総合評価研究、細胞周期の制御機構に関する研究などを行った。また、ヒューマンサイエンス振興財団からの受託研究2課題「培養細胞を用いたインビトロ発熱性物質試験法の開発に関する研究」及び「アトピー性皮膚炎自然発症 (NC) マウスを用いた皮膚掻痒症の発症機序の解明と新規治療薬の創製」、さらに厚生省特別研究「安全性評価のための迅速かつ鋭敏な毒性指標の確立に関する研究」に参加し、それぞれ着実に成果を上げることができた。

海外出張は、原園 景技官が米国での毒性学会第20回年会 (平成11年11月6日~12日、マククリーン) に参加し、討議を行った。江馬 眞第二室長が米国での毒科学会第39回年会 (平成12年3月19日~23日、フィラデルフィア) でジブチルスズのラットにおける胚致死作用についての成績を発表した。また、同室長は、中華人民共和国医薬品安全性評価管理センタープロジェクト短期調査 (平成12年2月14日~3月3日、北京) のために出張した。

なお、平成11年11月30日付けで川島邦夫部長が退職し、引き続き12月1日付けで岡田敏史支所長が生物試験部長事務取扱をすることとなった。

業務成績

1. 国家検査

ヒトインスリン製剤の国家検査（無菌試験）は160件あり、すべて合格であった。なお、本年度対象としてきたヒトインスリン製剤の国家検査は、平成12年3月を以て終了した。

2. 一斉取締試験

平成11年度の一斉取締試験は、前年度に引き続き後発医薬品の再評価事業の一環として行われた。後発品の多い注射剤61件について無菌試験を、このうち33件については発熱性物質試験も合わせて実施した結果、いずれも適合と判定された。なお、薬品試験部による異物試験で不適と判定された1件についても、無菌試験には適合していた。

また、輸液製剤等（腹膜透析用剤）13件につき、無菌試験（10件）又はエンドトキシン試験（3件）を実施した結果、いずれも適合と判定された。

3. 標準品製造

エンドトキシンほか4品目、計2,516個の製造を行った。なお、新規に製造した低含量タイプのエンドトキシン標準品の名称が「エンドトキシン100標準品」とされたことから、従来のエンドトキシン標準品の名称が「エンドトキシン10000標準品」に名称変更された（平成12年3月31日告示）。

4. 国際協力

平成12年度より開始が予定されている国際協力事業団の中国医薬品安全性評価管理センタープロジェクトの立ち上げにあたっての予備調査に協力した。

5. その他

中央薬事審議会の新薬調査会における審議及び日本薬局方の改正作業（医薬安全局審査管理課）への協力を行った。

なお、平成11年11月に中央薬事審議会の大幅な組織改正があり、承認審査に関わる新薬調査会等が廃止され、審査センターを中心とする内部審査方式に改められることとなり、必要に応じて専門協議の場に参加し、協力することとなった。

また、残留農薬安全性評価委員会の活動に協力した（生活衛生局食品化学課）。

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

局方エンドトキシン試験法の国際調和の最終段階として、Stage 5B案の作成に協力した。平成11年9月、本案をもって3薬局方間での合意が成立し、国際調和が完了した。

ii) 天然由来医用材料の生物学的安全性評価に関する研究

創傷被覆剤、止血剤など10種類のコラーゲン製品につき、発熱性物質汚染のサーベイを行い、2製品に発熱惹起量のエンドトキシン汚染を認めた（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) triphenyltin chlorideとその代謝物diphenyltin chlorideをラットの妊娠初期に投与したとき、ともに早期の胚致死作用を示すことを明らかにした。

ii) 培養細胞を用いたインビトロ発熱性物質試験法の開発に関する研究

新規発熱性物質試験法の指標細胞として開発したヒト単球様細胞株は、ヒト生体内における発熱性（炎症性）サイトカインの産生をシミュレートできる有意性の高い指標細胞であることを明らかにした（HS振興財団受託研究費）。

iii) ラットの脱落膜反応を用いた発生毒性検出システムの検討

butyl benzyl phthalate (BBP) 及び tributyltin chloride (TBTCI) を偽妊娠ラットに投与したところ、脱落膜反応を抑制することが明らかになり、BBP及びTBTCIによる胚致死との関連が明らかになり、胚致死作用は母体の子宮機能低下を介して作用することが示唆された（厚生省特別研究「安全性評価のための迅速かつ鋭敏な毒性指標の確立に関する研究」での分担研究）。

iv) 内分泌かく乱化学物質等、生活環境中化学物質による人の健康影響についての試験法に関する調査研究

ラットの妊娠初期に投与したdibutyl phthalate (DBP) による胚致死作用は、妊娠母体の子宮機能低下を介して発現することを示唆した（厚生科学研究費補助金分担研究：フタル酸エステルによる生殖障害に関する研究）。

v) タバコ含有物質による健康増進に及ぼす影響に関する研究

妊娠ハムスターに喫煙負荷を行ったところ、内臓奇形を有する胎児の発現頻度の上昇は認められないことを明らかにした（厚生科学研究費補助金分担研究：タバコの喫煙による次世代への影響）。

vi) 医療材料などにおけるエンドクリン阻害物質に関する研究

DBPをラットの妊娠後半に投与したときのラットのオス胎児の肛門生殖突起間距離短縮、精巣下降不全等の内分泌かく乱作用発現の臨界期は、妊娠15-17日であることを明らかにした（厚生科学研究費補助金分担研究：フタル酸エステル等の発生毒性）。

vii) ビスフェノールA、ゲニステイン等の繁殖影響および体内動態に関する調査研究

ビスフェノールA及びゲニステインのラット二世世代繁殖

試験を実施し、ビスフェノールAは繁殖に影響を及ぼさないことを明らかにした(厚生科学研究費補助金分担研究:ビスフェノールA及びゲニステインのラット二世世代繁殖試験)。

viii) ダイオキシン類の健康影響に関する総合評価研究

文献調査等により情報収集を行った(厚生科学研究費補助金分担研究:ダイオキシン類の生殖・発生に関する評価に関する研究)。

ix) モノベンジルフタレート of 生殖発生毒性

モノベンジルフタレートを妊娠ラットの器官形成期に投与したところ、胚致死作用及び催奇形作用を示すことを明らかにした(既存化学物質等の試験調査)。

3. 創薬研究及び創薬研究資源の開発に関する研究

i) 中枢神経系幹細胞の増殖と分化に関する研究

培養ラット神経上皮細胞の分化に及ぼす培養条件の影響を検討した。低カルシウム培地中、32℃の条件で神経細胞への分化の割合が上昇することが明らかになった。

ii) 細胞周期の制御機構に関する研究

メラノーマ細胞に対するインターロイキン1の増殖抑制作用の分子メカニズムの一つとして、Cdc2Tyr15のリン酸化によるcyclin B-Cdc2複合体の活性低下が関与していることを明らかにした。

iii) アトピー性皮膚炎自然発症(NC)マウスを用いた皮膚掻痒症の発症機序の解明と新規治療薬の創製

NCマウス由来培養ケラチノサイトにおいてインターフェロン- γ 刺激により、誘導性NO合成酵素(iNOS)が誘導されることが明らかになった(HS受託研究費)。

北海道薬用植物栽培試験場

場 長 柴 田 敏 郎

概 要

施設整備として、堆肥舎の屋根の吹き替え及び鉄骨支柱の錆止め塗装工事、資料保存庫並びに作業舎の窓枠のアルミサッシへの交換工事を実施した。

研究業務としては、厚生省医薬安全局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」、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・品質評価指針作成に関する栽培試験」、厚生科学特別研究事業による「緊急に資源確保を要する生薬-マオウに関する研究」並びに平成11年度創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業「薬用植物の種に特異的な機能の分子生物学的解析」を実施し、各報告書及び薬用植物栽培指針案を提出した。

薬用植物の一般市民への啓蒙活動として、第一回薬用植物に関するワークショップ「アイヌ民族の有用植物とその

利用法について」を、平成11年8月20日・21日の2日間にわたり名寄市北国博物館との共同にて開催し、5名の講師による講演会並びに北海道大学雨龍演習林における野外観察会を行い合計93名の参加のもと盛況の内に終了した。終了後記録集を作成し、参加者に配布した。

海外出張は、厚生科学特別研究事業による「緊急に資源確保を要する生薬-マオウに関する研究」の一環として、柴田敏郎がモンゴルにおけるマオウ類の分布と品質並びに潜在供給量に関する調査のため、平成12年3月26日から31日までモンゴルに出張した。

業務成績

1. 種子交換

採種 216種 (筑波試験場へ送付)

受け入れ 35件 89種

分譲 45件 79種

2. 指導業務

511名の来場者に薬用植物の情報提供、栽培指導を行った。

研究業績

1. けしの直接抽出法に関する研究

最適栽植密度および朔果の最適収穫時期を明らかにするべく、10a当たりモルヒネ収量を比較の結果、疎植栽培では切傷期から登熟期にかけて急激な増加が認められ、収穫時期としては登熟期が有利であることが確認できたが、一方、密植栽培では、切傷期に最も高い収量が得られたものの登熟期にかけて増加が少なく、これは切傷期以降倒伏する個体が多く認められ、収穫株数が減少することに起因することが判明した。以上の結果より、条間60cm不間引の密植栽培で、倒伏株が出現する前の切傷期から登熟期にかけて収穫するのが適当と考えられた。

2. 薬用植物栽培・品質評価指針作成に関する栽培試験

1) カンゾウの栽培研究

生育・グリチルリチン含量に及ぼす無機成分の影響を検討した結果、根の生育には磷酸やカルシウムが強く影響し、欠乏した場合、莖数・分枝数・葉数を顕著に抑制し、地上部乾物重も著しく低下させ、また、根の生育にも顕著な影響を及ぼしたが、グリチルリチン含量への影響は少ないと考えられた。

2) ウイキョウの栽培研究

1年目の栽植密度及び無機成分吸収量を検討した結果、10a当たり2,500～1,666株の密度が適当であり、また、莖葉中の無機成分吸収量は、加里が最も高く、10a当たり施肥量は25～30kgと推定された。種子中のアネトール含量は、密植栽培ほど有意に高まる結果が得られた。

3) カワラヨモギの栽培研究

沖縄産リュウキュウヨモギ、中国および韓国産カワラヨモギ *Artemisia capillaris* について、日本本土産カワラヨモギ並びにヨーロッパ産 *A. campestris* との形態的遺伝形質及び

成分比較を行った。その結果、沖縄産1系統はヨーロッパ産 *A. campestris* と類似していたが、他2系統は別種と考えられ、また、供試した沖縄産3系統及びヨーロッパ産 *A. campestris* はいずれもカワラヨモギに特徴的に認められるジメチルエスクレチン (DME) やカピラリシン (CAP) を全く含まないか極わずかに検出される程度で、生薬としては使用できないものであることが確認できた。一方、今回供試した韓国産及び中国吉林省産カワラヨモギは、頭花の形態の特徴から日本産カワラヨモギと同一であるが、DME、CAP両成分の含量が低い成分変種である可能性が推測され、生薬としてはいずれも劣品であることが明らかとなった。

筑波薬用植物栽培試験場

場 長 島 山 好 雄

概 要

人事面では、平成11年7月1日付で菱田 敦之技官が採用され、栽培研究室に配属された。他に、科学技術特別研究員 Mia Md Wahiduzzamann氏が平成8年10月1日～11年9月30日まで研究を続け、ヒューマンサイエンス財団から東野 薫氏が12年4月1日～13年3月31日まで派遣されることになった。協力研究員として、Jung Da-Woon・南基泰両氏、研究生として Gatellier Laureline (筑波大学)・田中章江 (佐賀大学) 両氏、実習生として別井史枝氏を受け入れた。

本年度の施設関係では、焼却炉煙突交換・温室外構工事・揚水ポンプ交換・危険物倉庫および屋外便所の塗装などが各所修繕として行われた。

研究業務については、ヒューマンサイエンス財団法人の受託研究・官民共同プロジェクト研究の一環として、「薬用植物の種に特異的な機能の分子生物学的解析」および「植物バイオテクノロジーによる次世代薬用資源の開発に関する研究」を行い、厚生科学研究費補助金により、「薬用植物栽培・品質評価法に関する研究」、「薬用植物資源の保存および保護に関する研究」、「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」などを実施した。他に、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」も継続実施している。

平成11年7月13日、恒例の薬用植物栽培技術フォーラムを開き、ウチダ和漢薬 佐橋佳郎、第一薬科大学 木村孟淳、金沢大学 御影雅幸、ツムラ漢方研究所 寺林 進、国立衛生薬部 関田節子の各先生を招き、集中的にマオウの講演および検討を行った。

平成12年3月6、7日には、筑波試験場において、寺尾所長・三瀬副所長・首藤審査センター長・長田総務部長・

佐竹生薬部長出席のもと、今年度研究業務および来年度計画について報告した他、共同研究・種子交換業務・フォーラム・研究体制などについて討論した。

業務成績

交換用種子保管数	1065点
11年度導入種子数	227点
分譲種子数	4155点
種子リスト配布先	75カ国 434機関
遺伝子資源保存数	
低温保存試験用種子	152種 1634点
低温保存交換導入種子 (昭和63年～平成11年、継続)	約5000点
超低温保存培養体	40点

研究業績

1. 薬用植物の優良系統の選抜・育成に関する研究

(1) マオウの国内栽培に関する研究

筑波試験場で保存する *Ephedra distachya* の5年生株から苗を調整し、共同研究者の5栽培試験場・3大学・1県立試験場において栽培研究を始めた。1999年4月27日に定植、同8月16日から12月まで1月毎に地際から地上部を刈り取って、乾物測定および成分分析の試料に供した。活着率は70%前後、乾物重は小さく、8～10月に収穫した場合は翌年以降も再生産が可能であるが、11月以降では再生が見られなかった。収穫した茎葉を4種の乾燥法—ビニールハウス内天日乾燥・送風乾燥40℃・同60℃・凍結乾燥—で乾燥したところ、送風60℃が乾燥早く、アルカロイド含量も低下せず、好適乾燥法と思われた。総アルカロイド含量については、日局13の規定の倍量以上あり、その季節変化は11月に向かって漸増し、12月には9月の水準にまで減少した。

2. 薬用植物の栽培に関する研究

(1) けしの直接抽出に関する研究

1998年10月21日播種し、1999年5月31日 (果熟期)・6月9日 (果熟～登熟期)・6月15日 (登熟期) の3期にわけて、果梗30cm付きさく果を収穫、果殻収量およびアルカロイド収量を調べたが、今年度の試験では果熟期の両収量が最も多く、登熟期にむけて減少することから、収穫期は果熟期が適当と判断した。また、春播栽培 (播種: 1999年3月24日) では栽植密度を検討し、条間70cmを共通、株間5cm・10cm・15cmの3水準を設け、果殻収量およびアルカロイド収量を調べたところ、株間5cm区の果殻収量が最高を示し、モルヒネ収量は5cm区が15cm区の2倍に達したが、コデイン収量には3区間に差が見られなかった。

あへん採取栽培ではあへんの多収性とあへん中アルカロイド高含量が望ましいが、抽出栽培では、果実の多収性と果殻中アルカロイド高含量が必要である。そのために、従来と異なる抽出用品種を育成する必要がある、保存18系

統の特性調査を行った。その結果、果殻収量の多い系統4・総アルカロイド含量の高い系統3・モルヒネ含量の高い系統3を見出し、その中から、直接抽出に適した系統として3系統を選抜した。

3. 薬用植物の組織培養に関する研究

(1) 器官培養による有用物質生産に関する研究

光照明下で培養したムラサキシユートを暗黒下で培養すると茎表面にシコニン誘導体を形成するが、その蓄積部位を鏡検したところ、色素は表皮細胞上に形成され、油状に表皮細胞間隙に蓄積されていた。培養シュートの根および土耕栽培株の根に形成された色素も、上述と同様、表皮細胞に蓄積されていた。全RNAを抽出し、LEDI-2をプローブとしてノーザンブロットによる発現解析を行った結果、シコニン誘導体を生産しているシュートの茎にのみLEDI-2の発現が確認された。また、種々の培地で培養したムラサキ培養シュートおよび栽培株について、抗酸化物質であるコーヒー酸誘導体の生産性を調べた。液体培地で培養したシュートはシコニンおよびコーヒー酸誘導体を高生産するが、培養シュートと栽培株では3種のコーヒー酸誘導体含量の比率が異なっていた。また、固形培地にシュートを植え付け、照明下および暗黒下で5週間培養したところ、照明下ではシコニン誘導体生産が抑制されPHBOG含量が高いのに対し、暗黒下では誘導体が生産され同含量が低かった。照明下で生育したシュートを液体培地に植え替え、暗所にて培養したシュートの色素含量は2週目から急激に上昇し、PHBOG含量は1週目に著減した。以上の結果から、シコニン誘導体を生産していない培養細胞中にPHBOGが大量に蓄積され、誘導体が生産され始めると蓄積されたPHBOGが消費されることが確認できた。

(2) 薬用植物の超低温保存に関する研究

ヒヨスの不定根を極長期にわたって保存するために、簡便なガラス化法による超低温保存法を開発するべく試験を行った。不定根の先端を1日間前培養し、それをローディング液で処理、その後ガラス化液に置換、処理した。処理後、チューブごと液体窒素中で保存した。液体窒素から取り出したチューブは水浴中で解凍し、ガラス化液を除去後、固形培地で再培養を行ない、さらに液体培地に移し、そのアルカロイド含量を調べた。超低温保存後の再生率は条件のいいもので90%以上に及んだが、再生率には継体維持培地・前培養培地・超低温試薬の調製に用いた基本培地・ガラス化液処理時間などが影響を与えた。再生後のトロパンアルカロイドについては、ヒオスチアミン・スコポラミンなど測定した5種の含量は未保存の根と同程度であった。

伊豆薬用植物栽培試験場

場 長 飯 田 修

概 要

研究業務としては、厚生科学研究費補助金ヒトゲノム・遺伝子治療研究事業「薬用植物資源の分布調査とその利用に関する研究」による北海道における野生トウキの自生地調査及び厚生科学特別研究費補助金「麻黄の栽培に関する研究」を行った。他に、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・品質評価指針」に関し、センナ、アミガサユリ及びカラスビシャクの栽培試験を行い、さらに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」を11月から開始した。

施設整備関係では、既設のISDN回線にルータを設置し、簡便な場内LANを構築した。また、施設整備費により場長官舎の外壁の張り替え工事を行った。

研究員の受け入れでは、科学技術振興事業団の科学技術特別研究員である高上馬希重氏が、引き続き研究活動を継続している。

海外出張は、飯田が平成12年3月26日から31日まで、上記麻黄の研究事業によりモンゴルに赴き、モンゴル医科大学を中心にモンゴルにおけるマオウの状況についての情報収集を行った。

その他、要覧を改訂した。

業務成績

1. 種子交換

採 種	203種 (筑波試験場へ送付)
内 訳	野生植物 115種 標本植物 83種 温室植物 5種
受 入	45件 143種
分 譲	12件 15種

2. 薬用植物の自生地調査

伊豆半島各地の野生植物の植生調査、とくに今年度は南伊豆町走雲峡のシダ植物について、重点的に調査した。

研究業績

1. マオウの栽培に関する研究

筑波試験場より導入したマオウ苗の小株132本、大株44本を用い、増殖法を検討した。

4月28日(小株の一部は22日)に小株を1株2本、大株を1株1本、覆土10cmとして植え付けたところ、生存率は小株が18.2%、大株が15.9%と極めて悪かった。低生存率の原因として、覆土が厚かったこと及び植え付け時期が遅かったことなどが考えられた。

2. チンネベリーセンナの1年生植物の生長と成分

1年生植物の小葉の生産量及びセンノシド含量に及ぼす定植期並びに施肥量の影響を検討した。

定植日は5月1, 15, 29日及び6月12日に行い、施肥量は3水準で試験を行った。植物の生長及び小葉生産量は5月15日及び29日の定植日で良好であった。小葉生産量及びセンノシド含量に対する施肥量の明確な効果は確認できなかった。また、小葉の生産量における一次分枝の影響が大きいこと及び小葉のセンノシド含量は若い葉で高いことを明らかにした。

3. 沖縄産シナニッケイの品質について

沖縄県で栽培されたシナニッケイ *Cinnamomum cassia* Bl. の品質評価を行った。

主幹樹皮、枝樹皮、葉及び葉柄の灰分、酸不溶性灰分、乾燥減量、希エタノールエキス量、エーテルエキス量及び精油含量を測定した。精油成分として、クマリン、ケイヒアルコール、ケイヒ酸、ケイアルデヒド、オイゲノール、ケイヒアセテート及び総精油量を求めた。主幹樹皮の各成分量は中国市場品とおおむね同等であったが、市場品に比べ沖縄産は希エタノールエキス量及びケイヒアルコールが高く、ケイアルデヒド及び総精油量が低かった。

枝樹皮及び葉柄の成分組成は主幹樹皮に似ていた。

4. ケシのあへん採取法の検討

あへん採取におけるさく果の隔日切傷法（慣行法）と連日切傷法を比較した。

隔日切傷区と連日切傷区におけるあへん収量間には大きな差はみられなかった。連日切傷区では切傷2回目まで各株が均等にあへんを分泌したが、隔日切傷区で3～4回目まで分泌する株がある一方で、1～2回で分泌を停止する株もみられ、個体間差異が大きくあらわれた。あへんアルカロイド含量には両区の差はみられなかった。

5. クコの新系統の育成

ナガバクコ *Lycium barbarum* L. を父親に、クコ *L. chinense* Miller 伊豆在来種及び韓国4栽培種をそれぞれ母親にして人工交配を行い、総数449粒の種子（水沈した種子）を得た。今後育成及び選抜を進めて行く予定である。

和歌山薬用植物栽培試験場

場長事務取扱 三 瀬 勝 利

概 要

人事関係については、変更はなかった。

施設関係では、台風対策として庁舎南側の雨戸および雨樋の修繕を行った。また、老朽した網戸や庁舎内のドア等の取り替えを行った。当地では野焼きが禁止されたことにより、除草した草や剪定した樹木の枝などが山積み状態になっていたため、業者に廃棄処理を依頼した。12月には気象観測装置のデータ集積部分が故障し、約1ヶ月間の気象データの収集が出来なかった。本装置は設置4年を経過し

ているので修理とあわせて保守点検も行った。12年度予算で敷地南側にフェンス設置が認められた。

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調査を行い、『サンショウ』の報告書案を作成した。平成11年12月の生薬分析シンポジウム、平成12年3月の薬学会ではともに『トウガラシ』をテーマとして研究報告を行った。

備品については、平成12年2月に乗用耕耘機を購入した。これにより圃場管理の能率が上がり、緑肥栽培による土作りが可能となった。

気象関係では、台風の被害はなく、幾分暖冬傾向が見られた。

業務成績

1. 種子（種苗）交換業務

採種	79種	（筑波試験場に送付）
導入	13件	23種
分譲	6件	30種

2. 指導業務

見学者は、年間で177名余り（28件）を数えた。県の生物同好会や小学校の社会科見学があり、スライドや実物を利用して2時間程度の講義を行った。また、和歌山県（県緑化センター、43名）や美里町（役場、45名）の依頼で3時間程度の講演および質問会を行った。

電話等（E-mailを含む）による、植物の利用（26件）、栽培（21件）に関する問合せに対応し、地区のイベントに際しては薬用植物（12種）の鉢植えを貸し出した。

和歌山県薬用植物調査研究委員の委嘱を受けて、研究会に参加した。わかやま地域産業総合支援機構支援会議幹事会幹事の委嘱を受けて、幹事会に参加した。生薬分析シンポジウムのプログラム事務局委員の委嘱を受け、委員会に参加した。

研究業績

1. 薬用植物栽培・品質評価指針に関する研究

県北部の有田川流域は有田みかんの産地であると共に、サンショウの生産地でもある。当地では、刺無種のブドウザンショウ（アサクラザンショウに似ているが豊産性）が栽培されており、栽培条件、管理等について現地での聞き取り調査を行った。また、種苗を入手し観察を行った。刺無種のサンショウは、接木によって繁殖させるが、この地方ではフユザンショウを台木に利用している場合が多かった。フユザンショウの台木は、サンショウの台木に比べ、根が深く地中に入ることから寿命が長く、連作が可能といわれている。従来、台木にはイヌザンショウを使用することが記載されているが、栽培地では経験的にフユザンショウ台木の優位性（特に耐寒に優れている）を認めている。（栽培指針 Part 9 原稿案を提出）

2. センナ葉軸について

先に『いわゆるダイエット茶』に含まれているものが、

センナ茎ではなく葉軸であることを明らかにしたが、実際の植物体での含有率を明らかにする目的で調査を行った。その結果、生育状況によって差があらわれるが、国内栽培品では平均して複葉の17%が葉軸であることを明らかにした。また、インド栽培品では平均14%であり、国内栽培品と差があることを明らかにした。

3. 市場品トウガラシについて

辛味トウガラシは、薬用および香辛料として古くから利用され、明治以降、地方品種が整理され主産地の形成が進み、1950年には輸出産地として高い地位を占めていた。しかし、その後の生産は減少し、現在では多くを中国からの輸入に頼っている。市場品のトウガラシ果実の表面は、つやのあるものと無いものがあり、色は暗赤色～暗黄赤色のものまで様々であった。また、辛味成分である総カプサイシン含量にも大きなバラツキが確認された。トウガラシの評価として、日本薬局方にはエーテルエキス含量の規定があるが、今回の結果、エーテルエキス含量と総カプサイシン含量の間には明確な相関は認められず、エーテルエキス含量よりも総カプサイシン含量を規定すべきであることが示唆された。(生薬分析シンポジウム、薬学会)

種子島薬用植物栽培試験場

場 長 香 月 茂 樹

概 要

人事関係では、平成11年3月定年退職した行政職(二)職員関寅一郎技官に代わり、6月より非常勤職員の採用で対応している。平成12年2月22日筑波試験場において作業長会議が開催され、鍋木紘一作業長が出席し、栽培試験場の抱える問題点などについて討議された。

施設整備関係では、ガラス温室B棟(165.4m²)とそれに付随する準備室(45m²)の新築があり、平成11年7月30日に工事完了した。また、老朽化に伴い資料庫・車庫の外壁塗装工事、官舎の屋根瓦の葺き替え並びに外壁塗装工事、農具庫の壁面亀裂の補修工事を平成12年2月実施した。

備品として昭和62年購入のトラクターの性能劣化・安全対策のため平成12年5月更新した。

研究関係では薬用植物栽培・品質評価指針作成に関する栽培試験を実施し、「ヒキオコシ」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」、厚生科学研究費補助金による「薬用植物資源の保存保護に関する研究」などを実施した。

研究生の受け入れを行い、大阪大学薬学部の竹田経子氏が平成11年5月17日から21日まで、熱帯～暖温帯の薬用植物の管理・繁殖などに関する研修を実施した。

気象面では、梅雨の期間は6月2日から7月23日の52日

間で、総降雨量は802.0mmであった。台風の接近・通過は5個あり、内容は下記のとおりである。被害は樹木・栽培植物に見られただけで軽微であり、特に施設への被害はなかった。

7月26日	5号
最大瞬間風速 32.6m/s ・ 総降雨量 105.0mm	
8月2日	7号
最大瞬間風速 21.3m/s ・ 総降雨量 10.0mm	
9月14日	16号
最大瞬間風速 19.5m/s ・ 総降雨量 241.0mm	
9月16日	17号
最大瞬間風速 17.4m/s ・ 総降雨量 20.5mm	
9月23日～24日	18号
最大瞬間風速 33.3m/s ・ 総降雨量 65.5mm	

業務成績

1. 種子交換

採種	339種	(筑波試験場へ送付)
内訳	野生種	224種
	栽培種	115種
	露地	111種
	温室	4種
受入	26件	125種
分譲	32件	122種

2. 指導業務

見学者 45件 175名以上

問い合わせ件数は26件以上あり、内訳(重複あり)は種苗の入手法9、栽培法9、植物鑑定6、薬効・用法4、その他(地域振興、薬用植物の自生地、販売先など)7件であった。

研究業績

1. ケシの直接抽出法に関する研究

植物生長調整剤であるジベレリンと4-パラクロルフェノキシ酢酸(4-CPA剤)の効果に関する試験を行った。1993年伊豆試験場より導入した「一貫種」の継代栽培した1996年産種子を、1月7日に播種した。肥料条件は総施肥量として窒素、燐酸、加里を成分量でそれぞれ4.68kg/10aを施用した。

開花期にジベレリンを10・50・100ppmと、4-CPA剤0.15%液剤の10・50・100倍希釈液を蕾・花・果実が濡れる程度に噴霧した。

2種の植物生長調整剤の植物体への形態・あへん収量・成分への明確な効果は認められなかった。

2. 薬用植物の品質評価法に関する研究

ヒキオコシの繁殖と育苗に関する試験を実施した。挿し木は、生育適温(約20℃以上が望ましい)の管理条件下であれば、周年可能であった。自然条件下では、6月～9月で新梢が固まった部分の挿し穂を使用した場合、8月までの発根率は100%、9月では65%であった。なお、発根

率・発根状況は上部でよく、下部が悪かった。5月29日挿し、6月23日定植で肥料条件を基肥として堆肥2000kg・化学肥料(10-10-10)35kg/10a、条間80×株間50cmの場合、9月23日に収穫できた。収量は1株当たり生体重で479.2±124.0g、乾物重で115.7±31.2gで乾燥歩留まりは24.13%であった。10a当たりでは生体重で1198.0±310.0kg、乾物重で289.1±78.0kgの収量が予想された。収穫時の草高は144.9±4.0cmであった。種子繁殖は、生育のばらつき、定植までの仕事内容の繁雑さ、各個体の形質のばらつき等により、実際の栽培では不適當と思われた。風による、倒伏・折損などによる生育や収量への影響が大ききように思われた。気象条件によっては生育期間中の寡雨対策を考慮する必要がある。

3. 野生・未栽培種の栽培化に関する研究

アカネスイセンの栽培では、鱗茎は夏から徐々に生育し、晩秋にほぼ最大となった。生育期間中に剥離した外側の鱗茎に結晶が析出しているのが確認された。

4. マオウの栽培に関する研究

筑波試験場での保存株を砂壤土で終日日当たりのよい場所に、基肥として堆肥100kg・油粕10kg・苦土石灰10kg/a、条間70cm×株間40cmで、5月11日定植した。欠株が多数

生じ、全体で生存率は56%であった。生体重は8月～11月の期間ほぼ順調に増加し、11月～1月の期間は停止した。乾燥歩留まりは11月～1月の間、ほぼ30%であった。成分的には一部の季節を除けば、エフェドリンの局方値である0.7%を越え、継時的に増加傾向を示した。

4. 薬用植物資源の保存及び保護に関する研究

奄美群島における薬用植物の分布確認と効能・用途について調査し、107科295種(内栽培種165種)を明らかにした。気象条件は群島北部に位置する名瀬市の場合、月別平均気温(1961年～1990年)は1月の最寒月で14.2℃、7月の最暖月で28.4℃、年平均気温22.4℃で、1896年からの過去最低気温は1901年の3.1℃で近年は暖冬傾向である。年間降水量は2870.7mmである。トカラ列島に生物分布の区分線である渡瀬線があり、この南に位置し、亜熱帯の環境に属しながら温帯的(本土的)植物や熱帯的植物で生育可能なものもかなり見られた。温帯的植物としては、イチョウ、クロマツ、モモ、ザクロ、スモモ、ミシマサイコなどがあり、熱帯的植物ではセイロンニッケイ、ベニノキ、パイア、クミスクチン、ムラサキオモト、ビンロウジュなどがあつた。

(平成12年3月31日現在)

(客員研究員) 12名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
下村 祐子	東京薬科大学名誉教授	生薬部	4.10.1		女	
熊田 秀文	神奈川歯科大学口腔細菌教室助手	療品部	4.10.22	11.10.21	男	
一戸 正勝	東京家政大学教授	衛生微生物部	7.4.1	12.3.31	男	
田中 悟	元当所毒性部動物管理室長	毒性部	9.4.1		男	
福岡 正道	昭和薬科大学薬物動態学教授	生物薬品部	9.4.1		男	
松井 道子	元当所変異遺伝部	変異遺伝部	9.4.1		女	
三木 敬三郎	テルモ医学研究所顧問	化学物質情報部	9.8.1	11.7.31	男	
内藤 克司	元当所毒性部	毒性部	10.4.1		男	
中館 正弘	元当所総合評価研究室	評価室	10.4.9		男	
高橋 道人	元当所病理部	病理部	10.4.9	11.4.8	男	
渡辺 昌	東京農業大学応用生物科学部教授	毒性部	10.12.1		男	
津田 充寿	元当所薬理部	薬理部	11.4.1	12.3.31	男	

(協力研究員) 14名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
松藤 寛	日本大学生物資源科学部助手	食品部	8.6.10	12.3.31	男	
樽松 美治	ヒューマンサイエンス振興財団	変異遺伝部	9.1.9		女	
南 基泰	ヒューマンサイエンス振興財団	筑波試験場	9.4.19	11.12.28	男	
香川 聡子	北里大学薬学部公衆衛生学教室講座研究員	環境生化学部	9.10.1		女	
鄭 然孫	九州大学薬学部特別研究員	環境生化学部	9.10.1		女	
宮城 恵理	山梨医科大学医学部	毒性部	10.4.1	12.3.31	女	
村松 芳多子	共立女子大学家政学部助手	衛生微生物部	10.4.9		女	
壺井 功	日本大学医学部	毒性部	11.4.1		男	
森本 幸治	日本大学医学部	毒性部	11.4.1		男	
Jung Da-Woon	全南大学校薬科大学研究助手	筑波試験場	11.4.12		女	
熊谷 伸子	共立女子大学	衛生微生物部	11.7.1	12.3.31	女	
工藤 たか子	共立女子大学	衛生微生物部	11.7.2	12.3.31	女	
西尾 俊幸	日本大学生物資源科学部助教授	有機化学部	11.11.1		男	
太田 利子	相模女子大学学芸学部助教授	衛生微生物部	11.12.1		女	

(流動研究員) 12名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
王 春 仁	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	療品部	8.9.4	11.9.3	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	11.6.30	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	12.3.31	女	
田所 聡	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	変異遺伝部	10.10.1	12.3.31	男	
細野 哲司	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	生物薬品部	10.10.1	11.12.31	男	
淵野 裕之	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	生薬部	10.12.1		男	
Liu Hong-Min	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	食品添加物部	10.12.1	12.3.31	男	
佐久嶋 順一郎	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	食品部	10.12.1	11.12.31	男	
北林 あや	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	毒性部	11.4.1		女	
金 秀良	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	変異遺伝部	11.4.1		男	
朴 正雄	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	療品部	11.4.1		男	
村井 淳	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	生物薬品部	11.4.1	12.3.31	男	

(科学技術特別研究員) 9名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
引間 知 広	科学技術振興事業団	薬 理 部	8.10.1	11.9.30	男	
Mia, Md Wahiduzzaman	科学技術振興事業団	筑波試験場	8.10.1	11.9.30	男	
高上馬 希 重	科学技術振興事業団	伊豆試験場	9.8.1		男	
市川 明	科学技術振興事業団	療 品 部	11.1.1		男	
長岡 恵	科学技術振興事業団	食品添加物部	11.1.1		女	
安住 聡 子	科学技術振興事業団	衛生微生物部	11.1.1		女	
津田 誠	科学技術振興事業団	薬 理 部	11.1.1		男	
佐久嶋 順一郎	科学技術振興事業団	食 品 部	12.1.1		男	
中西 郁 夫	科学技術振興事業団	有機化学部	12.1.1		男	

(重点支援協力研究員) 7名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
豊田 淑 江	科学技術振興事業団	生物薬品部	8.8.1		女	
柴山 理 恵	科学技術振興事業団	生物薬品部	9.4.1		女	
日向 須美子	科学技術振興事業団	生物薬品部	9.11.1		女	
日向 昌 司	科学技術振興事業団	生物薬品部	10.4.1	11.6.30	男	
高木 加代子	科学技術振興事業団	機能生化学部	11.4.1		女	
楠井 薫	科学技術振興事業団	代謝生化学部	11.4.1		女	
細野 哲 司	科学技術振興事業団	生物薬品部	12.1.1		男	

(科学技術庁フェロー) 10名

氏名	国名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
Kavita Shah	インド	Banaras Hindu University	食品添加物部	10.6.8	11.6.30	女	
Karen Skinner Scott	英国	University of Glasgow	薬 品 部	10.8.1		女	
Kou Zou	中国	Beijing Medical University	生 薬 部	10.10.10		男	
Abu Shara	バングラデッシュ	University of Dhaka	有機化学部	10.10.26	11.9.30	男	
Shamsur Rouf							
N.Chandrasekaran	インド	School of Energy Sciences Department of Environment Madurai Kamara.Univ	環境衛生化学部	11.2.1		男	
HWa-Young Son	韓国	Toxicology Research Center.KRICT	病 理 部	11.5.10		男	
Conrad H Chen	米国	Center for Drug Evaluation and Research, Food and Drug Admin.	生 薬 部	11.6.6	11.9.5	男	
T.J.Dvorak	米国		衛生微生物部	11.12.7	12.2.6	男	
Muhammad Shahidur Rahman	バングラデッシュ	Monowara Hospital(Pvt.) Limited	療 品 部	11.10.1		男	
Patima Chaurasia	インド	Banaras Hindu University	変異遺伝部	11.10.1		女	

(医薬品機構・派遣研究者) 5名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
高橋 雄	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	毒 性 部	10.6.1	11.6.30	男	
板橋 由 佳	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	療 品 部	11.4.1	12.3.31	女	
Byung-Il Yoon	生活安全総合研究推進事業 若手研究者育成活用事業	毒 性 部	11.5.1		男	
村山 典 恵	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	機能生化学部	11.10.1		女	
寒水 壽 朗	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	有機化学部	12.1.1		男	

(リサーチ・レジデント) 7名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
Byung-II Yoon	生活安全総合研究推進事業 若手研究者育成活用事業	毒性部	10. 9. 1	11. 4.30	男	
森原元彦	長寿科学振興財団	薬品部	10. 9. 1	12. 3.31	男	
尹永淑	長寿科学振興財団	生薬部	11. 4. 1		女	
山崎太	日本公定書協会	生物薬品部	11. 8. 1	12. 3.31	男	
中根孝久	日本公定書協会	生薬部	11. 8. 1		男	
中西郁夫	日本食品衛生協会	有機化学部	11.11. 1	11.12.31	男	
高橋則行	日本食品衛生協会	病理部	11.11. 1	12. 3.31	男	

(研究生) 49名

氏名	依頼者	受入部	入所	退所	性別	備考
太田利子	相模女子大学学芸学部助教授	環境	3室 6.12. 1	11.11.30	女	
池田尚子	昭和女子大学大学院教授	病理	1室 9. 4. 1	12. 3.31	女	
高木久宜	麻布大学教授	病理	3室 9. 4. 1		男	
高田村啓	日本獣医畜産大学教授	病理	3室 9. 5. 1	11. 4.30	男	
糀谷高敏	鳥取大学農学部	病理	3室 9.10. 1	11. 9.30	男	
小林雄輔	星薬科大学教授	生物	1室 10. 4. 1	12. 3.31	男	
小堀美恵子	東京農業大学教授	変異	2室 10. 4. 1	12. 3.31	女	
山田典代	昭和薬科大学教授	変異	2室 10. 4. 1	12. 3.31	女	
松井幸子	共立薬科大学教授	代謝	1室 10. 4. 1	12. 3.31	女	
富岡昭裕	群馬大学教授	代薬	1室 10. 4. 1	12. 3.31	男	
相原真紀	お茶の水女子大学生生活科学部教授	衛生	3室 10. 4. 1		女	
重本由香里	広島大学医学部教授	薬理	1室 10. 4. 1	12. 3.31	女	
清水万紀子	昭和薬科大学教授	薬理	3室 10. 4.20		女	
中村英明	岐阜大学大学院教授	病理	1室 10. 6.30		男	
宮内慎久	順天堂大学医学部教授	病理	1室 10. 7. 1	12. 3.31	男	
中根孝久	昭和薬科大学教授	生薬	10. 9. 1	11. 7.31	男	
Wu,Gui-Hua	天津市薬品検査所主管薬剤師	生薬	10.10.26	11. 4.15	男	
Li,Ming-Ke	国際協力事業団所長	情報	10.11. 2	11. 4.22	男	
Liu,Yun	国際協力事業団所長	病理	11. 2. 3	11. 7.29	女	
明谷早映子	東京大学教授	機能	11. 3. 1		女	
山川祥夫	昭和大学薬学部教授	生物	11. 4. 1	12. 3.31	男	
井之上浩	星薬科大学教授	生食	11. 4. 1	12. 3.29	男	
奥貫晴一	昭和大学薬学部教授	機能	2室 11. 4. 1	11. 9.30	女	
武木田薫	昭和女子大学大学院教授	衛生	11. 4. 1		女	
大田久美子	昭和薬科大学薬学部教授	薬理	11. 4. 1	12. 3.31	女	
国谷健介	昭和薬科大学薬学部教授	変異	2室 11. 4. 1	12. 3.31	男	
高橋真理衣	千葉大学薬学部教授	変生	11. 4. 1	12. 3.31	女	
箕浦修介	千葉大学教育学部教授	生薬	11. 4.15	12. 3.31	男	
五十嵐勝秀	東京大学教授	毒性	11. 4.26	12. 3.31	男	
守田伸子	筑波大学基礎医学系教授	薬理	11. 5. 6	11.10.29	女	
阿部ひろみ	東京理科大学薬学部長	薬品	2室 11. 5.10	11.12.31	女	
小原裕弘	名古屋市立大学薬学部教授	変異	11. 5.10		男	
外谷貴路	静岡県立大学大学院薬学研究科長	品微	1室 11. 6. 1	11.11. 4	女	
水卜慶子	お茶の水女子大学生生活科学部教授	衛生	3室 11. 6. 1		女	
木村千暁	お茶の水女子大学生生活科学部教授	衛生	3室 11. 6. 1		女	
高橋敏	富山県薬事研究所長	食品	3室 11. 6.14	11. 6.18	男	
高松一彦	東北大学教授	毒性	11. 7. 1	12. 3.31	男	
高駒沢友香	東京薬科大学生命科学部教授	有機	11. 7. 1	12. 3.31	女	
和田正道	長野県衛生公害研究所長	衛生	11. 8.23	11. 9.17	男	
森田美加	熊本市食肉衛生検査所長	食品	2室 11. 9. 1	11. 9.30	女	
大洞嗣子	岐阜県食肉衛生検査所長	食品	2室 11. 9. 1	11. 9.30	女	
角出泰造	名古屋市立大学医学部教授	品微	3室 11. 9. 1		男	
野中貴子	栃木県保健環境センター所長	生薬	11. 9. 6	11.10. 6	女	
山岸惠幸	昭和女子大学教授	病理	2室 11.10. 1		女	
津田雅幸	大阪大学大学院教授	毒性	12. 3.15		男	

東野 薫 カテエ ローリン 太田 茂樹 重松 孝暢	千葉大学大学院自然科学研究科 筑波大学教授 千葉大学教育学部教授 国際協力事業団	筑波 波 筑波 伊豆 伊豆	9. 4. 1 11.11. 1 11. 4. 1 11. 6. 1	12. 3.31 11.11.28 11. 8.27	女 女 男 男	
------------------------------------	---	---------------------	---	--------------------------------------	------------------	--

(実習生) 52名

氏名	依頼者	受入部	入所	退所	性別	備考
小嶋 裕美	昭和女子大学大学院教授	食添	9. 8. 1	11. 7.31	女	
金子 由美	昭和女子大学大学院教授	有機	9. 8.18	11. 8.17	女	
柏田 智子	昭和女子大学大学院教授	情報	10. 4. 1	12. 3.31	女	
浅井 綾	昭和女子大学大学院教授	情報	10. 4. 1	12. 3.31	女	
清水 万紀子	昭和薬科大学教授	薬理	10. 4.20	11. 4.19	女	
中島 明子	昭和女子大学大学院教授	食添	10. 8. 1	12. 3.29	女	
杉山 悦子	昭和女子大学大学院教授	有機	10. 8. 3	12. 3.31	女	
福島 彩子	昭和女子大学大学院教授	食添	10. 8. 3	12. 3.10	女	
本多 麻理子	昭和女子大学大学院教授	食添	10. 8.28	12. 3.10	女	
大高 晶	昭和女子大学大学院教授	評価室	10. 9. 1	12. 3.31	女	
川上 裕里	昭和女子大学大学院教授	食品	10. 9. 1	11. 9. 9	女	
藤井 麻理	昭和女子大学大学院教授	食添	10. 9.21	11. 9.20	女	
志相 早苗	昭和女子大学大学院教授	評価室	10.10. 1	12. 3.31	女	
楓村 友加里	日本大学生物資源科学部教授	生物	11. 2.19	12. 3.22	女	
相模 宏美	日本大学生物資源科学部教授	生物	11. 2.19	12. 3.22	女	
山田 光男	日本大学生物資源科学部教授	食添	11. 2.23	12. 2.22	男	
杉村 優美	日本大学生物資源科学部教授	食添	11. 2.23	12. 2.14	女	
大槻 崇里	日本大学生物資源科学部教授	食品	11. 3. 1	12. 2.29	男	
若林 美靖	麻布大学環境保健学部部長	衛微	11. 3. 1	12. 3. 9	女	
斎藤 貴子	北里大学教授	衛微	11. 3. 4	12. 2.25	男	
芝 順一	北里大学医療衛生学部学部長	食品	11. 4. 1	12. 2.29	女	
富野 浩充	日本大学生物資源科学部学部長	有機	11. 4. 1	12. 3.31	男	
稲川 小枝子	東京理科大学薬学部講師	生薬	11. 4. 1	12. 3.31	男	
市川 祐美子	実践女子大学生活科学部主任	食品	11. 4.21	12. 2.29	女	
後小路 章子	日本大学理工学部部長	環境	11. 5.17	12. 2.29	女	
須山 徹史	日本大学理工学部部長	環境	11. 5.17	12. 2.29	女	
藤山 吉洋	日本大学理工学部部長	環境	11. 5.17	12. 2.29	男	
山本 英大	日本大学理工学部部長	環境	11. 5.17	12. 2.29	男	
渡辺 秀実	共立薬科大学学長	環境	11. 5.17	12. 2.29	男	
梶山 亜沙子	共立薬科大学学長	代有	11. 6. 7	11.12.22	男	
湯川 由紀子	共立薬科大学学長	有機	11. 7. 1	12. 3.31	女	
河内 貴衣	共立薬科大学衛生化学教室助教授	有機	11. 7. 1	12. 3.31	女	
稲田 知佳	共立女子大学教授	食品	11. 7. 1	12. 1.31	女	
丸山 久美子	昭和女子大学大学院教授	衛微	11. 7.26		女	
岡原 祐子	昭和女子大学大学院教授	衛微	11. 7.26		女	
太田 久恵	昭和女子大学大学院教授	食品	11. 7.26		女	
諸星 るり	昭和女子大学大学院教授	食品	11. 7.26		女	
飯嶋 広代子	昭和女子大学大学院教授	食添	11. 7.26		女	
大小 塩明子	昭和女子大学大学院教授	食添	11. 8. 1		女	
小平 沼ルミ	東京農業大学学長	評価室	11. 8. 1		女	
稲川 江美	東京医薬専門学校長	生薬	11. 8. 1		女	
堀川 雅美	日本大学生物資源科学部部長	環境	11. 9.13	12. 2.29	女	
志茂 雅衣	日本大学生物資源科学部部長	生物	11.12.20		女	
志我 英敏	日本大学生物資源科学部部長	生物	11.12.20		女	
菊地 博和	北里大学教授	有機	11.12.20		男	
齊藤 祐一	日本大学生物資源科学部学部長	衛微	12. 3. 1		男	
木村 光宏	日本大学生物資源科学部学部長	食添	12. 3.13		男	
柿原 芳輝	芝浦工業大学学長	食添	12. 3.13		男	
松浪 優哉	日本大学生物資源科学部学部長	有機	12. 3.13		男	
別井 史枝	東洋大学教授	食品	12. 3.22		男	
別井 史枝	東洋大学教授	筑波	12. 2.14		女	

Yoshioka, S., Aso, A., Kojima, S., Sakurai, S.,* Fujiwara, T.* and Akutsu, H.*: **Molecular Mobility of Protein in Lyophilized Formulations Linked to the Molecular Mobility of Polymer Excipients, as Determined by High Resolution ^{13}C Solid-state NMR**

Pharm. Res., **16**, 1621-1625 (1999)

The mobility of bovine serum γ -globulin (BGG) molecules in lyophilized formulations was compared with the mobility of dextran molecules used as an excipient based on the spin-lattice relaxation time (T_1) of each molecule determined by high resolution ^{13}C solid-state NMR. The correlation time (τ_c) of dextran methin carbon in BGG-dextran formulations exhibited a temperature dependence with a distinct break at the critical temperature of appearance of Lorentzian relaxation due to liquid BGG and dextran protons (T_{mc}). The τ_c of BGG carbonyl carbon exhibited a similar temperature dependence to the τ_c of the dextran methin carbon and substantially decreased at temperatures above T_{mc} in the presence of dextran. The results indicated that the molecular motion of BGG was enhanced above T_{mc} in association with the increased global segmental motion of dextran molecules.

Keywords: NMR relaxation time, molecular mobility, storage stability.

* Yokohama National University, Faculty of Engineering

Yoshioka, S., Aso, Y., Kojima, S. and Tanimoto, T.: **Effect of Polymer Excipients on the Enzyme Activity of Lyophilized Bilirubin Oxidase and β -Galactosidase Formulations**

Chem. Pharm. Bull., **48**, 283-285 (2000)

The effects of excipients on the protein stability during lyophilization as well as the storage stability of lyophilized bilirubin oxidase (BO) and β -galactosidase (GA) formulations were studied using four polymer excipients: dextran, polyvinylalcohol (PVA), poly(acrylic acid) (PAA), and α , β -poly(N-hydroxyethyl)-L-aspartamide (PHEA). Denaturation of BO and GA during lyophilization largely depended on the excipient used. Dextran appeared to cause severe damage to proteins, whereas PHEA protected proteins effectively from denaturation. Storage stability of BO and GA formulations also depended on the excipients, such that the formulations containing dextran and PAA were relatively unstable. Storage stability was improved by absorption of a small amount of water for all the formulations studied. Absorption of a larger amount of water, however, decreased the storage stability of the formulations containing PVA, PAA or PHEA, but not that of the formulation containing dextran. This may be because formulations containing dextran have a higher glass transition temperature.

Keywords: lyophilization, enzyme activity, protein stability

Aso, Y., Yoshioka, S., Nakai Y., Kojima S.: **Thermally controlled protein release from gelatin-dextran hydrogels**

Rad. Phys. Chem., **55**, 179-183 (1999)

Biodegradable hydrogels in which drug release was controlled by sol-gel transition were prepared. Gelatin was used as a component because it exhibits sol-gel transition in response to temperature changes. Glycidyl methacrylated (GMA) dextran was crosslinked by low dose γ -irradiation in the presence of gelatin and the model drugs, β -galactosidase (β -GA), bovine serum albumin (BSA) or 5-fluorouracil (5-FU). The enzyme activity of β -GA remained greater than 95% after irradiation. Temperature-responsive release of β -GA and BSA resulted from the sol-gel

transition of gelatin. Sol-gel transition was confirmed by the temperature dependence of the spin-spin relaxation time of the gel polymer protons. The protein release rate was affected by both the degree of GMA substitution and the gelatin concentration. Desired release rate could be achieved by adjusting these factors. The release rate of 5-FU was not affected by the sol-gel transition of gelatin.

Keywords: hydrogel, controlled release, protein

Aso, Y., Yoshioka S., Kojima S.: **Relationship between the crystallization rates of amorphous nifedipine, phenobarbital and flopropione, and their molecular mobility as measured by their enthalpy relaxation and $^1\text{H-NMR}$ relaxation Times**

J. Pharm. Sci., **89**, 408-416 (2000)

Isothermal crystallization of amorphous nifedipine, phenobarbital and flopropione was studied at temperatures above and below their glass transition temperatures (T_g). A sharp decrease in the crystallization rate with decreasing temperature was observed for phenobarbital and flopropione, such that no crystallization was observed at temperatures 20-30°C lower than their T_g within ordinary experimental time periods. In contrast, the crystallization rate of nifedipine decreased moderately with decreasing temperature, and considerable crystallization was observed at 40°C below its T_g within 4 months. The molecular mobility of these amorphous drugs as measured by the enthalpy relaxation time and $^1\text{H-NMR}$ relaxation time suggests that nifedipine has higher molecular mobility than phenobarbital and flopropione at temperatures below T_g . The faster crystallization of nifedipine than that of phenobarbital or flopropione observed at temperatures below its T_g may be partly ascribed to its higher molecular mobility at these temperatures.

Keywords: Crystallization, Mobility, Relaxation

Izutsu, K., Kojima, S.: **Phase separation of polyelectrolytes and non-ionic polymers in frozen solutions.**

Phys. Chem. Chem. Phys., **2**, 123-127 (2000)

タンパク質など高分子凍結乾燥剤の物性制御を目的として、高分子電解質と非イオン性高分子を含む水溶液の凍結濃縮による相分離現象について検討した。DEAE-dextran や poly (acrylic acid, sodium salt) 等高分子電解質と polyvinylpyrrolidone (PVP), dextran 等非イオン性高分子を含む単相の水溶液を凍結・熱分析すると単一または複数の最大濃縮相ガラス転移 T_g' が現れ、組合せにより混合アモルファス状態で氷晶間に濃縮される場合と複数相に分離する場合のあることが示された。塩など共存物質は静電的親和力の抑制など分子間相互作用に影響を与えることにより凍結溶液中における高分子の混合性を変化させた。

Keywords: phase separation, miscibility, freeze-concentration

石橋無味雄：日本薬局方の参照吸収スペクトルに関する研究 その1 参照赤外吸収スペクトルに関する研究(I) 医薬品研究, **30**, 547-552(1999)

日本薬局方 (JP) では、確認試験法として赤外吸収スペクトル測定法が多用されている。しかし、この方法は、試料を測定して得られるスペクトルの波数と医薬品各条に数字で規定された波数を比較することにより確認する方法である。このため標準品と試料のスペクトルを比較する方法よりも精度が低くなる。しかし、標準品を用いて試験を行う方法は、標準品数の増加をまねくため、実現が不可能な

方法である。そこで参照スペクトルをJPに収載し、確認試験を行うこととし、検討を行った。その結果、原薬製造メーカーの違いによるスペクトルの変動、測定雰囲気の影響(湿度等)、塩酸塩の原薬に臭化カリウム錠剤法を用いた場合に起こる塩交換によるスペクトル変化等について検討を行い、JPに参照スペクトル法を収載することができた。

Keywords: Identification. IR. JP

Kikura, R., Nakahara, Y. and Kojima, S.: **Simultaneous determination of dimethylamphetamine and its metabolites in rat hair by gas chromatography-mass spectrometry**

J. Chromatogr. B, **741**, 163-173 (2000)

擬似覚せい剤として問題となっている dimethylamphetamine (DMAP) について、DMAP 及びヒトにおける主代謝物である DMAP N-oxide, methamphetamine (MA), amphetamine (AP) の同時定量法を確立するとともに、DMAP をラットに投与して、これらの化合物の血液、尿、毛髪への分布を検討した。DMAP N-oxide は GC/MS による分析中に一部が熱分解して DMAP に、また試料をアシル誘導体化する際に試薬と反応して MA のアシル化体に変化する。そのため、血漿中、尿中、毛髪中の DMAP, DMAP N-oxide, MA, AP の 4 化合物の GC/MS による定量分析を行うために、各生体試料を強アルカリ条件下で液・液抽出をして N-oxide 体を他の化合物と分離した後、N-oxide 体をアシル誘導体化剤と反応させて MA の誘導体として測定した。一方、DMAP 投与 4 週間後に採取したラット毛髪試料中から DMAP (4.82ng/mg)、DMAP N-oxide (0.45ng/mg)、MA (3.25ng/mg) 及び AP (0.89ng/mg) が検出され、投与後長期を経ても毛髪中から親化合物である DMAP を検出することが可能であった。また、DMAP N-oxide は血漿中、尿中からは高濃度検出されたものの、毛髪中からは低濃度しか検出されず、この化合物の血中から毛髪への移行性が極めて低いことが示唆された。

Keywords: hair analysis, dimethylamphetamine, GC/MS

Nakahara, Y.: **Hair Analysis for Abused and Therapeutic Drugs**

J. Chromatogr. B, **733**, 161-180 (1999).

This review focuses on basic aspects and recent studies of hair analysis for abused and therapeutic drugs and is discussed with 164 references. Firstly, the pretreatment methods of hair analysis have been commented on and analytical methods for each drug have been discussed. The outcomes of hair analysis studies have been reviewed by dividing into 6 groups; morphine and related, cocaine and related, amphetamines, cannabinoids, the other abused drugs and therapeutic drugs. In addition, reports on stability of drugs in the living hair and studies on drug incorporation into hair and dose-hair concentration relationships have been reviewed. Applications of hair analysis to the estimation of drug history, discrimination between OTC drug use and illegal drug use, drug testing for acute poisoning, gestational drug exposure and drug compliance, have also been reviewed. Finally, the promising prospects of hair analysis have been described.

Keywords: Hair analysis, abused drugs, therapeutic drugs

Nakahara, Y. and Hanajiri, R.: **Hair analysis for Drugs of Abuse: XXI. Effects of functional groups on benzene on the incorporation of methamphetamine analogs into rat hair.**

Life Sci., **66**, 563-574 (2000)

In order to study the effect of para-substituents on the benzene ring of methamphetamine on drug incorporation into hair from

blood, the plasma AUCs and hair concentrations of 8 methamphetamines in DA rats was determined after intraperitoneal injection at 5 mg/kg. Drug incorporation rates into hair (ICRs) were calculated by dividing each hair concentration by each plasma AUC. Comparing the highest value to the lowest one, the ICR of p-nitro compound was 31.7 times larger than that of p-hydroxy compound. Based on the ICR of methamphetamine, nitro, bromo, methylenedioxy, methoxy and amino groups raised the drug incorporation into rat hair in this order. On the other hand, hydroxy substitution showed a negative effect on the ICR. Our results showed that there is a relatively strong effect of the functional groups on drug incorporation into hair.

Keywords: methamphetamine homologs, hair root, drug incorporation into hair

Toyooka, T.*, Kanbori, M.*, Kumaki, Y.*, Oe, T.*, Miyahara, T.* and Nakahara, Y.: **Detection of Triazolam and Its Hydroxy Metabolites in Rat Hair by Reversed-Phase Liquid Chromatography with Electrospray Ionization Mass**

Spectrometry. J. Anal. Toxicol., **24**: 194-201 (2000).

A sensitive method using LC-ESI-MS for simultaneous determination of triazolam, and its hydroxy metabolites in hair has been developed. After the addition of deuterated hydroxytriazolam as an internal standard, hair samples were extracted with $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}(20:80:2)$ and analyzed LC-MS. The method was applied to determine the hair concentrations of triazolam and its metabolites in rat hair. Triazolam, 1-hydroxy- and 4-hydroxy-triazolam were incorporated in the rat hair. The method has been found to be useful as a screening procedure of triazolam intake in humans.

Keywords: hair analysis, triazolam, LC-MS

* 静岡県立大薬学部

Kawakami, N.*¹, Takemasa, H.*¹, Okamura, N.*², Hayakawa, T., Shimohama, S.*³, and Fujimoto, S.*¹: **Participation of cytosolic protein phosphatase in regulation of NADPH oxidase in polymorphonuclear leukocytes**

Biol. Pharm. Bull., **22**, 556-60 (1999)

When calyculin A, a protein phosphatase inhibitor, was added to the PMA-stimulated guinea pig polymorphonuclear leukocytes (PMNs) after the addition of H-7, a protein kinase C inhibitor, O_2^- production and translocation of p47phox to the membrane fraction were occurred. The activity of NADPH oxidase and the amount of phosphorylated p47phox in the membrane of activated PMNs, were reduced by the cytosol fraction from unstimulated PMNs. These results indicate that the active form of the NADPH oxidase in PMNs can be reconstituted after the active complex of the enzyme has disappeared once, and that one of the regulation mechanisms of this enzyme activity involves the phosphorylation of p47phox in the cytosol and dephosphorylation of the p47phox in the oxidase complex by protein kinase and protein phosphatase, respectively.

Keywords: NADPH oxidase, protein phosphatase, PMNs

*¹ 京都薬科大学

*² 広島大学医学部

*³ 京都大学医学部

Kawakami, N.*¹, Hayakawa, T., Shimohama, S.*², and Fujimoto, S.*¹: **The hydroxyl radical formation system in**

polymorphonuclear leukocytes*Biol. Pharm. Bull.*, **22**, 1034-1037 (1999)

When phenylalanine was incubated with the alpha, beta and gamma fractions prepared from pig polymorphonuclear leukocytes (PMNs) and H₂O₂, significant levels of formation of m- and o-tyrosine were observed in the alpha and beta fractions, but not in the gamma fraction. With the heat-treated beta fraction (having little tyrosine formation activity) and myeloperoxidase (MPO) preparations from human neutrophils in the presence of H₂O₂, the amount of tyrosine formation increased with the addition of increasing amounts of heat-treated beta fraction. Tyrosine formation by the beta fraction in the presence of H₂O₂ was significantly reduced by hydroxyl radical (OH^{*}) scavengers. The above results suggest the existence of an OH^{*}-generating system in which MPO and H₂O₂ participate in the granules of PMNs and, especially, in specific granules, there may exist some factors that cause more effective OH^{*} generation.

Keywords: PMNs, myeloperoxidase, hydroxyl radical

*1 京都薬科大学

*2 京都大学医学部

Hayakawa, T.: Japanese Perspective with Respect to Quality Control of Biotechnological/Biological Products*Pharmaceutica, Special Issue, Proceedings Biologicals Beyond 2000*, 261-262 (2000)

バイオテクノロジーで生産される医薬品について、一般的な留意点を考察した。また、新たな医療技術として開発が進められている組織・細胞加工医薬品・医療用具の品質・安全性等の確保に向けて、どのような問題点があるかと、わが国での取り組み状況を明らかにした。さらに、本問題に対応できる国際的枠組み作り、具体的には国際調和ガイドライン作成に向けて、日・欧・米が積極的に取り組むべきことを提唱した。

Keywords: Biotechnology products, Cellular and tissue therapy

Hayakawa, T., Ohta, M., and Kawasaki, N.: Current Analytical Procedures for Glycosylated Proteins*Pharmaceutica, Special Issue, Proceedings Biologicals Beyond 2000*, 87-102 (2000)

This paper mainly describes current analytical procedures for glycosylated proteins, including the following 3 topics: 1) a brief overview of currently available analytical methods for characterization of the structural features of the carbohydrate moiety of glycoproteins; 2) Japanese experience with the structural characterization of the carbohydrate moieties of various glycoprotein products, especially the use of two-dimensional oligosaccharide mapping of 2-aminopyridine derivatives; and 3) utilization of liquid chromatography with electrospray ionization mass spectrometry (ESI-LC/MS) and liquid chromatography with tandem electrospray ionization mass spectrometry (ESI-LC/MS/MS) for analysis of the size, sugar sequences, and branch structure of closely related oligosaccharides in glycoproteins and for elucidation of carbohydrate heterogeneity at each glycosylation site. Relevant application of these analytical methods to product characterization for research, development, quality control, and the comparability of therapeutic glycoprotein(s) is discussed.

Keywords: Glycoproteins, Carbohydrate analysis, ESI-LC/MS

Kinoshita, M.*, Murakami, E.*, Oda, Y.*, Funakubo, T.*, Kawakami, D.*, Kakehi, K.*, Kawasaki, N., Morimoto, K., and Hayakawa, T.: **Comparative studies on the analysis of**

glycosylation heterogeneity of sialic acid-containing glycoproteins using capillary electrophoresis*J. Chromatogr. A.*, **866**, 261-271 (1999)

キャピラリー電気泳動法を用いてシアロ糖タンパク質のグリコフォームを分析するための比較検討を行った。表面がコーティングされた市販のガスクロマトグラフィー用のキャピラリーと、等電点に近いランニングバッファーを用いることによって、シアロ糖タンパク質のグリコフォームを分離することに成功した。分析時間は50分以内で、再現性も良好であった。この分析法を用いて血清中の α 1-acid glycoproteinのグリコフォームを分析することができた。本分析技術は、糖タンパク質製剤の不均一性評価に有用であると思われる。

Keywords: glycoproteins, capillary electrophoresis

* 近畿大学薬学部

Kawasaki, N., Lee, Y. C.*, Hashimoto, O., Yamamoto, M., Kawanishi, T., and Hayakawa, T.: Fluorometric determination of aminopolycarboxylates using fluo-3*Anal. Biochem.*, **270**, 329-331 (1999)

時間分解蛍光法に用いるタンパク質等のランタノイド標識化に、EDTA, DTPA 及び EGTA 等の aminopolycarboxylate がよく用いられる。しかし、微量標識タンパク質を精製する際に、未反応物の aminopolycarboxylate や関連物質は UV 吸収が弱いために検出することができない。そこで、蛍光プローブ fluo-3 を用いた高感度 aminopolycarboxylate 定量法を開発した。さらに、時間分解蛍光法を用いた抗血栓治療薬トロンボモジュリン (TM) の活性測定法の開発を目指して TM を無水 DTPA で標識し、Fluo-3 法を用いることによって僅かなサンプル量で標識 TM の精製ができることを確認した。

Keywords: fluo-3, aminopolycarboxylate, lanthanide

* Department of Biology, Johns Hopkins University

Hyuga, S., Yamagata, S.*1, Takatsu, Y.*1, Hyuga, M., Nakanishi, H.*2, Furukawa, K.*3, and Yamagata, T.*1: Suppression by ganglioside GD1a of migration capability, adhesion to vitronectin and metastatic potential of highly metastatic FBJ-LL cells*Int. J. Cancer*, **83**, 685-691 (1999)

これまでに、低転移性 FBJ-S1 細胞に高発現していたガングリオシド GD1a が高転移性 FBJ-LL 細胞の運動能を抑制することを報告したが、さらに、GD1a が FBJ-LL 細胞のビトロネクチンに対する接着を特異的に抑制することを明らかにした。また、FBJ-LL 細胞に GM2 合成酵素遺伝子を導入して作成した GD1a 高発現性のトランスフェクタントは運動能及びビトロネクチンに対する接着が低下し、*in vivo* の転移能を完全に喪失した。これらの結果から、GD1a は細胞運動及び細胞接着を抑制することにより、転移を抑制していることが示唆された。

Keywords: GD1a, vitronectin, metastasis

*1 (財) 日本皮革研究所

*2 愛知県がんセンター研究所

*3 名古屋大学医学部

Hyuga, S., Kawasaki, N., Hashimoto, O., Hyuga, M., Ohta, M., Yamagata, S.*, Yamagata, T.*, and Hayakawa, T.: Possible role of hepatocyte growth factor/scatter factor and activin A produced by the target organ in liver metastasis*Cancer Lett.*, **153**, 137-143 (2000)

癌細胞の臓器特異的な転移の分子機構はほとんど解明さ

れていない。しかし、癌細胞の増殖や運動能をパラクリンで促進するような増殖因子を標的臓器が産生していれば、これらの因子は臓器特異的な転移を誘導する可能性がある。そこで、肝転移を起こしやすい癌細胞を用いて、肝臓で合成される HGF 及びアクチビン A の効果を調べた。HGF 及びアクチビン A はこの癌細胞の運動能を相乗的に促進し、この細胞はこれらの因子の受容体を発現していることが明らかになった。従って、HGF 及びアクチビン A は癌細胞の運動能を促進することにより、肝臓特異的な転移を誘導していることが示唆された。

Keywords: HGF, activin A, metastasis

* (財) 日本皮革研究所

Kanayasu-Toyoda, T., Yamaguchi, T., Uchida, E., and Hayakawa, T.: **Commitment of Neutrophilic Differentiation and Proliferation of HL-60 Cells Coincides with Expression of Transferrin Receptor**

J. Biol. Chem., **274**, 25471-25480 (1999)

HL-60細胞を用いて、好中球分化の制御機構の解析を行った。DMSOによってHL-60細胞の好中球分化を誘導するとトランスフェリンレセプター (Trf-R) の発現量の異なる細胞が出現することを見出した。このTrf-R陰性細胞は分化型であり、Trf-R陽性細胞は増殖型であること、G-CSFはそれぞれのコミットメントを変えなく分化や増殖能を亢進することを明らかにした。

Keywords: neutrophilic differentiation, STAT3

Kishi, K., H.*¹, Mikawa, T.*², Seto, M.*¹, Sakai, Y.*¹, Kanayasu-Toyoda, T., Yamaguchi, T., Imamura, M.*¹, Ito, M.*¹, Karaki, H.*³, Bao, J.*¹, Nakamura, A.*¹, Ishikawa, R.*¹, and Kohama, K.*¹: **Stable transfectants of smooth muscle cell line lacking the expression of myosin light chain kinase and their characterization with respect to the actomyosin system.**

J. Biol. Chem., **275**, 1414-1420 (2000)

平滑筋細胞の運動能におけるミオシン軽鎖キナーゼの役割を明らかにすることを目的として、平滑筋細胞株SM3にミオシン軽鎖キナーゼに対するアンチセンスヌクレオチドを恒常的に発現するプラスミドを導入した変異株を樹立した。変異株では、ミオシン軽鎖キナーゼの発現が低下していた。さらに、変異株ではPDGFに対する走化性やlamellipodia形成が認められなかった。従って、平滑筋の運動性においてはミオシン軽鎖キナーゼが中心的な役割を担っていることが示された。

Keywords: MLCK, cytoskeleton

*¹群馬大学医学部

*² Department of Cell Biology, Cornell University

*³ 三重大学医学部

Takahashi, M.*¹, Misawa, Y.*¹, Watanabe, N.*¹, Kawanishi, T., Tanaka, H.*², Shigenobu, K.*², and Kobayashi, Y.*¹: **Role of P-glycoprotein in Human Natural Killer-Like Cell Line-Mediated Cytotoxicity**

Exp. Cell Res., **253**, 396-402 (1999)

Natural killer (NK) cells express the highest amount of P-glycoprotein (Pgp) among lymphoid cells, and our previous studies demonstrated that Pgp is required for NK cell-mediated cytotoxicity. In this study we examined the role of Pgp in NK cell-mediated cytotoxicity using a human NK-like cell line, YTN cell, and two MDR reversing agents, nicardipine and its structural analog,

AHC-93. These two agents inhibited the Pgp function as well as cell-mediated cytotoxicity. AHC-93 did not inhibit the increase in the intracellular Ca²⁺ concentration upon binding to target cells, whereas nicardipine did. The two reagents relocated acridine orange dye from lysosomes to the cytoplasm at concentrations similar to those required for the inhibition of cell-mediated cytotoxicity. These results suggest that Pgp is directly or indirectly involved in pH regulation in lysosomes, but not in calcium homeostasis.

Keywords: P-glycoprotein, natural killer cells, pH

*¹ 東邦大学理学部

*² 東邦大学薬学部

Tanaka, H.*¹, Ichikawa, T.*¹, Matsui, S.*¹, Okazaki, K.*¹, Masumiya, H.*¹, Kawanishi, T., and Shigenobu, K.*²: **Calcium Channel Antagonistic Effects of AH-1058, a Novel Antiarrhythmic Drug, on Guinea-Pig Myocardium**

Res. Communi. Pathol. Pharmacol., **104**, 13-21 (1999)

Effects of AH-1058, a novel cyproheptadine derivative with high antiarrhythmic activity in *in vivo* arrhythmia models, were studied in guinea-pig myocardium. In coronary-perfused right ventricular tissue preparations, AH-1058 (10⁻⁵M) shortened the action potential duration with little effect on the resting membrane potential, maximum rate of rise and overshoot. AH-1058, 10⁻⁷M to 10⁻⁵M, concentration-dependently decreased the contractile force. The increase in contractile force by Ca²⁺ was markedly inhibited by 3 x 10⁻⁶M AH-1058 while that by isoproterenol was only slightly affected. In isolated ventricular myocytes, AH-1058 concentration-dependently decreased the nicardipine sensitive transient inward current with no effect on steady state currents, and decreased the amplitude of the evoked Ca²⁺ transient. These results suggest that AH-1058 has Ca²⁺ channel antagonistic effects which may contribute to its antiarrhythmic activity.

Keywords: Ca²⁺ channel antagonist, myocardium, Ca²⁺

* 東邦大学薬学部

Mizuguchi, H., and Kay, M. A.*: **A simple method for constructing E1 and E1/E4 deleted recombinant adenovirus vector**

Hum. Gene Ther., **10**, 2013-2017 (1999)

One of the limitations of recombinant adenovirus (Ad) vectors is the time and labor involved in their construction. In this study, we have developed the system to improve the simplicity of vector construction and in addition, allow for production of an E1/E4 deleted vector.

Keywords: adenovirus vector, gene therapy

* Stanford University

Mizuguchi, H., Zhili, H., Ishii-Watabe, A., Uchida, E., and Hayakawa, T.: **IRES-dependent second gene expression is significantly lower than cap-dependent first gene expression in a bicistronic vector**

Mol. Ther., **1**, 376-382 (2000)

This study was undertaken to characterize the relative expression of IRES-dependent second gene in a bicistronic vector, which was derived from the 5'-untranslated regions of the encephalomyocarditis virus (EMCV). IRES-dependent second gene expression was compared with cap-dependent first gene expression in several cultured cell lines and in mouse liver *in vivo*. The expression of the IRES-dependent second gene

ranged from 6-100 % (in most cases between 20 and 50%) that of the first gene. This finding has important implications for the use of IRES, i.e., care should be taken regarding the decreased capacity of IRES-dependent downstream gene expression as well as in determining which gene should be positioned as the first or second gene in a bicistronic vector.

Keywords: IRES, EMCV, gene therapy

Mizuguchi, H., Hosono, T., and Hayakawa, T.: **Long-term replication of Epstein-Barr virus-derived episomal vectors in the rodent cells**

FEBS Letter, **472**, 173-178 (2000)

Plasmids containing the origin of replication, oriP, of the Epstein-Barr virus (EBV) and EBV nuclear antigen-1 (EBNA-1) genes replicate extrachromosomally in primate cells. However, these plasmids have been believed not to replicate in rodent cells. We demonstrate here that these plasmids can replicate in some types of rodent cells over a long period. This result should offer not only the new insight into the mechanisms of species-specific replication of EBV, but also the possibility that an EBV-based vector can be used for gene transfer experiments in non-primate cells and animal experiment regarding human gene therapy.

Keywords: Epstein-Barr virus, episomal vector, gene therapy

Nakanishi, M.^{*1}, Mizuguchi, H., Ashihara, K.^{*2}, Senda, T.^{*3}, Eguchi, A.^{*1}, Watabe, A., Nakanishi, T.^{*2}, Kondo, M.^{*2}, Nakagawa, T.^{*2}, Masago, A.^{*1}, Okabe, J.^{*1}, Ueda, S.^{*1}, Mayumi, T.^{*2}, and Hayakawa, T.: **Gene delivery system using the Sendai virus**

Mol. Membrane Biol., **16**, 123-127 (1999)

Fusogenic liposome (FL) is a delivery system that can transfer encapsulated materials into living cells directly through membrane fusion. FL is a promising approach for gene therapy because it can deliver various genetic materials much more efficiently than other non-viral vectors without damaging the cell. This review has described a detailed analysis of these fusion phenomena and discussed possible applications of FL-mediated gene delivery to human gene therapy.

Keywords: Sendai virus, fusogenic liposome, gene therapy

^{*1} 大阪大学微生物病研究所

^{*2} 大阪大学薬学部

^{*3} 名古屋大学医学部

Ishii-Watabe, A., Uchida, E., Mizuguchi, H., and Hayakawa, T.: **On the Mechanism of Plasmin-Induced Platelet Aggregation: Implications of the Dual Role of Granule ADP**

Biochem. Pharmacol., **59**, 1345-1355 (2000)

Plasmin-induced platelet aggregation has been considered to be a cause of reocclusion after thrombolytic treatment with plasminogen activators. However, little is known regarding its mechanism and regulation. In this study, we demonstrated that plasmin causes the degranulation of platelets, and that ADP released from granules plays a crucial role in the induction of platelet aggregation. We also demonstrated that pretreatment of platelets with ADP makes the platelets more sensitive to plasmin, and plasmin-induced platelet aggregation is therefore observed at lower concentrations where no aggregation occurs in quiescent platelets. The effect of ADP was inhibited by AR-C69931, a selective antagonist for the P2TAC subtype of P2 receptor, but not by the P2Y1 receptor-selective antagonist. P2X1 receptor agonist did

not mimic the action of ADP. These data indicate that ADP potentiates plasmin-induced platelet aggregation via the P2TAC receptor. These results demonstrate that, in plasmin-induced platelet aggregation, ADP is secreted from platelet granules, and concomitantly works in conjunction with plasmin in a P2TAC receptor-mediated manner.

Keywords: plasmin, ADP, platelet

Kobayashi, T., Niimi, S., Hashimoto, O., and Hayakawa, T.: **Expression of Inhibin β A, β B, and Follistatin mRNAs in the Carbon Tetrachloride Induced Rat Liver Regeneration Model**

Biol. Pharm. Bull., **23**, 755-757 (2000)

Follistatin (FS, an activin-binding protein) and activin A (homodimer of inhibin β A chain) promote and inhibit cell proliferation in rat liver, respectively. The roles of activin AB (heterodimer of inhibin β A and β B) and activin B (homodimer of inhibin β B) in rat liver have not been elucidated yet. In this study, we examined, by RT-PCR analysis, whether the levels of FS, inhibin β A and β B mRNAs change in the carbon tetrachloride induced rat liver regeneration model. There are 2 types of FS mRNA, FS-288 and FS-315, and the levels of both had begun to increase at 3 h, were maximal at 6 h, remained constant up to 12 h, and thereafter gradually decreased. The inhibin β A mRNA had started to decline at 3 h, reached its lowest level at 6 h, partly returned at 12 h, and remained constant up to 48 h. The inhibin β B mRNA level had begun to increase at 1 h, was maximal at 3 h, remained constant up to 24 h, and returned to the original level at 48 h. These results indicate that FS and Activin A may act reciprocally in liver regeneration, and also suggest that activin AB and B may play roles in liver regeneration that differ from that of activin A.

Keywords: activin, follistatin, liver regeneration

Yukihiro Ozaki, Jing Rui* and Yuan Tai Tang*: **Antiinflammatory Effect of *Forsythia suspensa* Vahl and Its Active Principle**

Biol. Pharm. Bull., **23**, 365-367 (2000)

This study was carried out to elucidate the antiinflammatory active principles obtained from 70% methanol extract of the dried fruit of *Forsythia suspensa* Vahl (*F. suspensa*). The methanol extract was then partitioned between n-hexane and water, and then the n-hexane fraction was evaporated to dryness under vacuum. The n-hexane fraction was chromatographed (Frs. I-V), Fr. IV was rechromatographed (Frs. VI-VIII), and then Fr. VII was rechromatographed (Frs. IX-XI) by silica gel column chromatography. The antiinflammatory activity of these fractions was investigated on acetic acid-induced vascular permeability in rats. The n-hexane fraction showed an antiinflammatory effect and these activities shifted successively to Fr. IV, Fr. VII and Fr. X. The chemical structure of the active principle obtained from Fr. X was identified as 3 β -acetoxy-20, 25-epoxydammarane-24-ol. These results suggest that the antiinflammatory and an analgesic effect of 70% methanol extract of *F. suspensa* may be the result of the compound that it contains.

Keywords: antiinflammatory effect, *Forsythia suspensa* Vahl, active principle

* Tianjin Municipal Institute for Drug Control, China

Hosoe, T.^{*1}, Noxawa, K.^{*1}, Kawahara, N., Fukushima, K.^{*2}, Nishimura, K.^{*2}, Miyaji, M.^{*2}, Kawai, K.^{*2}: **Isolation of a new potent cytotoxic pigment along with indigotin from the pathogenic basidiomycetous fungus *Sohizophyllum commune***

Mycopathologia, 146, 9-12 (1999)

アレルギー性気管支肺真菌症患者から単離された *Sohizophyllum commune* IMF 46788 (monokaryon) の成分研究を行い, schizocommunin と命名した新規インドール誘導体を単離・構造決定した。本化合物は murine lymphoma cell に対して強い細胞毒性を示した。

Keywords: *Sohizophyllum commune*, human allergenci bronchopulmonary mycosis, schizocommunin, cytotoxicity

^{*1} 星薬科大学

^{*2} 千葉大学真菌医学研究センター

Kawahara, N., Nozawa, M., Kurata, A.^{*}, Hakamatsuka, T.^{*}, Sekita, S., Satake, M.: **A novel Sesterterpenoid, Nitiol, as a Potent Enhancer of IL-2 Gene Expression in a Human T Cell Line, from the Peruvian Folk Medicine "Hercampuri" (*Gentianella nitida*)**

Chem. Pharm. Bull., 47, 1344-1345 (1999)

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 nitiol と命名した新規セスタテルペノイド誘導体を単離し, 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。本化合物はヒト T 細胞における IL-2 遺伝子発現増強活性が認められた。

Keywords: *Hercampuri*, *Gentianella nitida*, nitiol, sesterterpenoid

^{*} 東京理科大学薬学部

Shirota, O.^{*}, Nakanishi, K.^{*}, and Berova, N.^{*}: **Phytosphingosines -A facile synthesis and spectroscopic protocol for configurational assignment**

Tetrahedron, 55, 13643-13658 (1999)

ファイトスフィンゴシンの考えられる 8 つの配置異性体のうち 4 種の簡便な合成法を確立した。さらにこれら 4 種の異性体を用いて, 化学誘導/CD/NMR プロトコールによるファイトスフィンゴシン全異性体の相対および立体配座の決定法を開発した。このプロトコールにより, 未知のファイトスフィンゴシンの立体配置を数ナノモルレベルで決定することが可能である。

Keywords: phytosphingosine, sphingolipids, circular dichroism, relative and absolute configurations

^{*} Department of Chemistry, Columbia University, USA

吉富史郎^{*}, 渡辺正純^{*}, 川西史明^{**}, 佐竹元吉: カノソウの品質と鎮静作用

Natural Medicines, 54, 55-60 (2000)

The sedative effects of 30% EtOH extracts of the two Japanese valerian roots, "Kameba-Kisso" and "Hokkai-Kisso", were examined. These extracts significantly prolonged the pentobarbital-induced sleep in mice at doses of 11.5 g/kg and 5.8 g/kg, respectively. The spontaneous motor activity of mice in an open field test was significantly suppressed after oral administration of Kameba-Kisso (16.7g/kg) and Hokkai-Kisso (19.4g/kg). Both of these extracts showed neither inhibition of the pentetrazol-induced convulsion nor restoration of reserpine-induced

hypothermia. These results indicate that both of the valerian extracts have similar sedative effects through the suppression of the central nervous system.

Keywords: Kameba-Kisso, Hokkai-Kisso, pentobarbital-induced sleep, spontaneous motor activity

^{*} 武田薬品工業株式会社ヘルスケアカンパニー

^{**} 武田薬品工業株式会社福知山農場

Kaniwa, M.: **A profile of haptenic allergens in indoor environment**

Environmental Dermatology, 5(Suppl.2), 78-84 (1998)

アトピーの発症・増悪の要因となりうる室内環境中のハプテナレルゲンとして, 衣類中の分散染料, プラスチック眼鏡フレーム中の着色剤, 椅子のポリ塩化ビニル製側地中の抗菌剤, 防虫剤のパラジクロロベンゼン等について, 市販の家庭用品における使用実態, 健康影響の種類(毒性)と強度について情報収集し, 家庭用品中のハプテナレルゲンの分布実態を明らかにするとともに, それらによる健康影響の大きさについて概説した。

Keywords: haptenic allergen, indoor environment, household product

Hayakawa, R.^{*1}, Sugiura, M.^{*1}, Tanaka, S.^{*2}, Miyachi, Y.^{*3}, Kanbe, N.^{*3}, Horio, T.^{*4}, Mitsuya, K.^{*4}, Ichihashi, M.^{*5}, Bito, T.^{*5}, Shimizu, R.^{*6}, Nakamura, T.^{*6}, Higashi, N.^{*7}, Natsuaki, M.^{*8}, Ito, M.^{*9}, Takahashi, K.^{*9}, Nishioka, K.^{*10}, Shimada, S.^{*11}, Tsukamoto, K.^{*11}, Ikezawa, Z.^{*12}, Osuna, H.^{*12} and Kaniwa, M.-A.: **Group study on latex allergy**

Environmental Dermatology, 6, 10-16 (1999)

日本における天然ゴム手袋等によるラテックスアレルギー (I型タイプ) の発生状況を把握するとともに, 新規の症例の発生防止策を講じるために, 8 大学病院, 4 総合病院, 国立医薬品食品衛生研究所療品部が共同研究を行った。ブリック/スクラッチテスト (I型アレルギーの確認法), パッチテスト (IV型アレルギーの確認法) による検討の結果, 接触じんましん (I型タイプ) 22 例, 接触じんましん (I型タイプ) と接触皮膚炎 (IV型タイプ) の併発 2 例, アナフィラキシー (I型タイプ) 2 例を確認した。

Keywords: group study, latex allergy, natural rubber glove

^{*1} 名古屋大学医

^{*2} 愛知医大

^{*3} 群馬大学医

^{*4} 関西医大

^{*5} 神戸大学医

^{*6} 神戸労災病院

^{*7} 堺市立病院

^{*8} 済生会吹田病院

^{*9} 東邦大学医

^{*10} 山口赤十字病院

^{*11} 山梨医大

^{*12} 横浜市立大医

Sugiura, M.^{*1}, Hayakawa, R.^{*1}, Kato, Y.^{*1}, Sugiura, K.^{*2}, Ueda, H.^{*2} and Kaniwa, M.-A.: **Five cases of latex allergy**

Environmental Dermatology, 6, 153-160 (1999)

ラテックスアレルギー患者 5 名について, ブリック/スクラッチテスト (I型アレルギーの確認法), パッチテスト (IV型アレルギーの確認法) により検討した。その結果, 患者 1 名では, ブリック/スクラッチテスト, パッチテストいずれにおいても天然ゴムラテックスに陽性反応を示し

たことから、天然ゴムラテックスに対してI型タイプとIV型タイプの二つのアレルギーが併発されていたことを確認した。

Keywords: latex allergy, immediate type(type I), delayed type(type IV)

*1 名古屋大学医

*2 藤田保健衛生大学医

Shono, M.* and Kaniwa, M-A.: Allergic contact dermatitis from a perinone-type dye C.I. Solvent Orange 60 in spectacle frames

Contact Dermatitis, **41**, 181-184 (1999)

眼鏡フレームのプラスチック製の先セル部分による耳背部に発生したアレルギー性接触皮膚炎事例を検討した結果、先セルに配合されていた着色剤中のペリノン系染料 Solvent Orange 60が新規の染料アレルギーであり、今回の事例の原因化学物質となっていたことを明らかにした。

Keywords: Solvent Orange 60, allergic contact dermatitis, spectacle frame

* しょうの皮膚科

Ikarashi, Y., Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: Effect of heat treatment of poly(L-lactide) on the response of osteoblast-like MC3T3-E1 cells

Biomaterials, **21**, 1259-1267 (2000)

骨固定用整形材料のポリL-乳酸 (PLLA) は加熱成形される。そこで、加熱処理したPLLAが骨形成に影響を及ぼすかどうか、PLLA上で培養した骨芽細胞様MC3T3-E1細胞のタンパク含量、DNA含量、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性及びヒドロキシプロリン (HYP) 含量を指標として検討した。PLLA (分子量1000000) を高温で、長時間で加熱した場合、細胞活性は著しく増加した。PLLAの分子量は20000程度まで低下し、L-lactide及びL-乳酸も生成した。これらの分解生成物と細胞を培養したところ、低分子量PLLAが最も活性を示し、L-乳酸では反応が表れなかった。よって、PLLAの加熱処理による骨形成作用の増強は、溶解性のL-乳酸よりもむしろ低分子量PLLAによるものと推測された。

Keywords: poly(L-lactide), heat treatment, osteoblast

Nakaoka, R., Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: Studies on the mechanisms of tumorigenesis induced by polyetherurethane in rats: Production of superoxide, tumor necrosis factor, and interleukin 1 from macrophages cultured on different polyetherurethanes

J. Biomed. Mater. Res., **49**, 99-105 (2000)

*In vivo*で発癌性が異なる3種類のポリエーテルウレタンが炎症系の細胞であるマウス腹腔マクロファージにそれぞれどのような影響を与えるのかを、そのマクロファージから産生されるインターロイキン1 (IL-1)、腫瘍壊死因子 (TNF) および活性酸素の量を測定することで評価した。その結果、最も発癌性の弱かった材料上では活性酸素の産生量が大きくIL-1の産生量が最も少ないことが認められた。これらのことから、このポリウレタンを体内に埋入した場合には、炎症が他のものと比べて弱いこと、さらに活性酸素による癌細胞除去が起こっている可能性があり、それらの結果、発癌率が低下していることが考えられた。なお、TNFの産生量には差が認められず、TNFはポリウレタンによる発癌に関係しないことが示唆された。

Keywords: polyetherurethane, tumorigenesis, superoxide

Nakaoka, R., Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: Studies on tumor promoting activity of polyethylene immobilized with various proteins

Biomedical Materials Research in Asia (IV), 122-123 (2000)

生体内埋入後の副作用が数多く報告されているポリエチレンを種々のタンパク質で表面修飾し、その材料が生体を与える影響を *in vitro* で評価することを試みた。細胞の恒常性維持に重要な機能である細胞間連絡機能に着目して、それぞれの材料上での細胞機能をFluorescence re-distribution after photobleaching assay (FRAP法) で測定したところ、未処理の材料ではその機能が阻害され、コラーゲンを修飾した場合にはその機能が回復することが認められた。その機能を担うタンパク質の細胞内での状態を免疫染色で観察したところ、未処理の材料上では細胞質全体に、コラーゲン修飾した場合には正常の細胞と同様に細胞膜上に局在することが認められた。すなわち、ポリエチレン上での細胞機能阻害はその機能を担うタンパク質の局在性が乱されるためであり、タンパク質の局在性が回復するように材料を表面修飾することで機能が回復することが示された。

Keywords: polyethylene, gap junction, protein immobilization

Shintani, H.: Selective analysis of compounds in body fluids and how to avoid artifact formation

J. Liquid Chromatogr., **21**, 2297-2312 (1998)

歯科材料の一つである義歯床の主たる材料はポリメチルメタクリレート (PMMA) である。PMMA合成にはメチルメタクリレート (MMA), N,N-ジメチル-p-トルイジン (DMPT) 並びにベンゾイルパーオキシド (BPO) 等が発原料として用いられる。DMPTとBPOはお互いに反応して新規化合物 (アーチファクト) を生成する。またその新規化合物あるいはBPOは唾液と反応してさらに異なるアーチファクトが生成される。出発原料並びに生成したアーチファクトなどは体液中に溶出してくる。それらの成分をHPLCでのグラジエント溶出法で分離、分析した。またそれらの成分の選択的な前処理法を開発した。その溶出液組成が従来報告されている組成と異なるためその科学的根拠を確認した。

Keywords: dental material, artifact, solid phase extraction

Shintani, H.: Validation of D value by different SCD culture medium manufacturer and/or different SCD culture medium constituent

PDA J. Pharm. Sci. Technol., **54**, 6-12 (2000)

培地メーカーならびに同一メーカーでロットが異なることに拠る生物指標の抵抗値の差の原因について調べた。

Keywords: culture medium, biological indicator, variation

森川鉄朗*, 林 譲: 化学教育における平衡をめぐる理解と誤解について

上越教育大学研究紀要, **19**, 461-471 (2000)

中等高等化学教育における平衡の理解をすすめる指導法を改良するため、平衡に関連してみられる疑問や誤解や思い違いをひろくとりあげ、検討した。

Keywords: chemical equilibrium, education, chemistry

* 上越教育大学

Hiratsuka, H.*1, Satoh, S.*2, Satoh, M.*3, Nishijima, M.*4, Katsuki, Y.*4, Suzuki, J.*4, Nakagawa, J.*4, Sumiyoshi, M.*5, Shibutani, M., Mitsumori, K., Tanaka-Kagawa, T., Ando, M.: Tissue distribution of cadmium in rats given minimum

amounts of cadmium-polluted rice or cadmium chloride for 8 months

Toxicol. Appl. Pharmacol., **160**, 183-191 (1999)

To investigate the relationship between cadmium (Cd) toxicity, intestinal absorption, and its distribution to various tissues in rats treated orally with minimum amounts of Cd, 14 female rats per dose group per time point were given diets consisting of 28% purified diet and 72% ordinary rice containing Cd-polluted rice (0.02, 0.04, 0.12, or 1.01 ppm of Cd) or CdCl₂ (5.08, 19.8, or 40.0 ppm of Cd) for up to 8 months. At 1, 4, and 8 months after the commencement of Cd treatment, seven rats per group were euthanized for pathological examinations to determine the Cd concentrations in the liver and kidneys and metallothionein (MT) in the liver, kidneys, intestinal mucosa, serum and urine. One week before each period of 1, 4, and 8 months, the remaining seven rats in each group were administered a single dosage of ¹⁰⁹Cd, a tracer, to match the amounts of the designated Cd doses (about 1.2 to 2400 μg/kg body wt). They were euthanized 5 days later to determine the distribution of Cd to various tissues. No Cd-related toxic changes were observed. The concentrations of Cd in the liver and kidneys at any time point and MT in the liver, kidney, serum, and urine at 4 and 8 months increased dose-dependently, whereas MT in the intestinal mucosa did not alter markedly at any time point. The distribution of Cd to the liver increased dose-dependently (40% at lower doses to 60% at higher doses), whereas those to the kidney decrease dose-dependently (20% at lower doses to 10% at higher doses). The Cd retention rates 5 days after ¹⁰⁹Cd administration (amounts of Cd in various tissues/amounts of Cd administered) ranged from 0.2 to 1.0% at any time point. These results suggest that the distribution of Cd to the liver and kidneys after the oral administration vary depending on the dosage levels of Cd. The difference of the distribution pattern of Cd to the liver and kidney is probably due to the difference in the form of the absorbed Cd, i.e., free ion or Cd-MT complex, although not closely related to the MT in the intestinal mucosa.

Keywords: Cadmium, Tissue Distribution, Renal Toxicity

*1 三菱化学安全科学研究所

*2 (株)イナリサーチ

*3 国立環境研究所

*4 東京都立衛生研究所

*5 (財)日本食品分析センター多摩研究所

熊谷一清*1, 池田耕一*1, 堀 雅宏*2, 松村年郎, 野崎敦夫*3, 木村 洋*4, 飯倉一雄*5, 吉澤 晋*6: 居住状態における住宅室内の揮発性有機化合物に関する実態調査

日本建築学会計画系論文集, **522**, 45-52 (1999)

地方都市と首都圏に建立する50戸を対象に居住環境内におけるHCHOとVOCs(32種類)について、季節変動、住宅種別等の実態調査を行い、以下の結論が得られた。全平均値はHCHO濃度が0.048 ppm, TVOCsが3640 μg/m³であった。集合と戸建住宅を比較するとHCHO及びTVOCsとも集合住宅の濃度が高い傾向を示していた。冬期と夏期を比較するとHCHO及びTVOCsとも冬期に濃度が高い傾向を示していた。温度、湿度とHCHO及びTVOCsとの間には相関が認められた。室内VOCs濃度は建材が支配する時期と生活行動が支配する時期のあることが判った。新築住宅に入居することにより、HCHOとTVOCsが極端に減少することが明らかとなった。

Keywords: volatile organic compounds, residence, field mea-

surement

*1 国立公衆衛生院建築衛生学部

*2 横浜国立大学教育人間科学部

*3 東北文化学園大学科学技術学部

*4 長谷工コーポレーション技術研究所

*5 東京工業大学建築学部

*6 愛知淑徳大学建築学部

佐々野僚一*, 古庄義明*, 松村年郎: ディスク型固相捕集とGC大量注入法を用いた室内空気中の有機リン化合物の分析

空気清浄, **37**, 50-55 (1999)

固相捕集-溶媒抽出-GC/MS法による室内空気中の有機リン化合物 (Tributyl phosphate, Triphenyl phosphate, Tricresyl phosphate, Tris(2-chloroethyl)phosphate, Diazinon, Fenitrothion, Fenthion, Chlorpyrifos, Pyridaphention)の測定法の開発を行った。本法はC18ディスク型固相に試料空気を毎分10Lで2時間サンプリングした後、溶媒抽出アットカラム濃縮大量導入で測定する高感度測定法である。本法の検出限界は0.3 ng/m³, 添加回収率も90%以上、繰り返し精度も5%以下と良好である。本法を室内空気の実測に適用した結果、トリブチルホスフェート (12.3 ng/m³)やクロロピリホス (4.8 ng/m³)が検出された。

Keywords: Indoor environment, measuring technology, organophosphorus compounds

* ジーエルサイエンス (株)

徳永裕司, 鄭 然孫, 内野 正, 安藤正典: 乳液およびクリーム中のエストラジオールおよびエチニルエストラジオールの定量

日本化粧品技術者会誌, **33**, 163-169 (1999)

化粧品の乳液およびクリーム中のエストラジオールおよびエチニルエストラジオールの定量法は衛生試験法追補1995に既に設定されている。しかしクロロホルムおよびジクロロメタンのような生体に有害な試薬が分析操作に使われている。有害試薬を除き、同時に、ほとんどの化粧品に含まれる、エストラジオールおよびエチニルエストラジオールの定量を妨害するパラベン類の影響を受けない新しく、簡便な定量法を検討した。乳液あるいはクリームを水浴中で濃縮し、残留物中のエストラジオールあるいはエチニルエストラジオールをエタノール抽出した。抽出物をODSカラム (TSKgel ODS80TM, 4.6×150mm), 移動相として水/アセトニトリル/メタノール混液 (3:1:1) および蛍光検出器 (励起および蛍光波長: 290および310nm) を用い、高速液体クロマトグラフィーで分析した。この方法を用いることにより、われわれは乳液およびクリーム中のエストラジオールおよびエチニルエストラジオールを防腐剤のパラベン類あるいは他の賦形剤の影響もなく定量することができることを明らかにした。

Keywords: estadiol, ethinylestradiol, cosmetic preparations

徳永裕司, 鄭 然孫, 内野 正, 安藤正典: CHO細胞に及ぼす界面活性剤の影響

日本化粧品科学会誌, **24**, 14-20 (2000)

界面活性剤のcell viabilityへの影響を調べるため、9種類のカチオン性界面活性剤、8種類のアニオン性界面活性剤、12種類のノニオン性界面活性剤および異なるEO鎖を持つpolyoxyethylene nonylphenyl ether (POE.NPE), polyoxyethylene lauryl ether (POE.LE), polyoxyethylene castor oil and polyoxyethylene oleyl etherの影響をChinese Hamster Ovary (CHO)細胞を用いて研究した。CHO細胞の1x10⁴ cells/0.1

mlを37℃のCO₂インキュベータで1日間培養した後、10 μ lの界面活性剤溶液を96穴マイクロプレートに添加し、更に37℃のCO₂インキュベータで1日間培養した。cell viabilityは1-Methoxy PMS/WST-1混液で測定した。CHO細胞の50%の残存率を示す界面活性剤の濃度(IC₅₀)が検量線より求められた。各界面活性剤から得られたIC₅₀を界面活性剤でモルモットの剥離皮膚を処理した後のメチルパラベン(MP)あるいはサリチル酸(SA)の透過速度(%)あるいはウサギの赤血球を50%溶血させる界面活性剤の濃度(EC₅₀)と比較検討した。カチオン性界面活性剤の脂肪酸炭化水素鎖の炭素数10~18への増加は1/IC₅₀の増加に依存しており、1/IC₅₀と1/EC₅₀の間に良い一致を示した($p < 0.01$)。これらの結果はカチオン性界面活性剤が細胞膜への障害を与え、脂肪酸炭化水素鎖の炭素数の伸長に伴い細胞膜への負の影響が増加することが示唆された。cell viabilityに対する異なるEO鎖を持つPOE.NPEおよびPOE.LEの影響はそれらのhydrophobic/lipophilic balanceに依存していた。EO鎖の異なるPOE.NPEおよびPOE.LEでCHO細胞および赤血球を処理した時、1/IC₅₀および1/EC₅₀あるいは1/IC₅₀およびMPあるいはSAのflux(%)の間に良い一致が見られた($p < 0.05$)。これらの結果から、nonylphenyl基あるいはlauryl基のようなPOE.NPEあるいはPOE.LEの脂溶性の部分は生体膜に同じ様な影響を与えることが分かった。

Keywords: cell viability, excised abdominal skin, permeation

Uchino, T., Tokunaga, H. and Ando, M.: **ProstaglandinE₂ Release, Squalene Monohydroperoxide Production and Cell Toxicity of Skin^{2TM} ZK1301 as a Human Skin Model in the Presence of Haematoporphyrin and Ultraviolet-A Irradiation**

Toxicol. in Vitro, **13**, 483-489(1999)

For the clarification of the mechanism of ultraviolet-A (UVA)-induced cytotoxicity to skin, the prostaglandinE₂ (PGE₂) release and squalene monohydroperoxide (SQOOH) production in a human skin model (Skin^{2TM} ZK1301) in the presence of haematoporphyrin (HP) as a photosensitizer were investigated. The PGE₂ release and SQOOH production were significantly increased depending on both the irradiation time of UVA (350-380 nm) and the HP concentration. In addition, concentration-dependent inhibitions of cytotoxicity, PGE₂ release and SQOOH production were observed when a UVA sunscreen was applied to the surface of Skin^{2TM}. These results suggest that the mediator of inflammation and lipid hydroperoxide production induced by UVA-HP photosensitization cause cytotoxicity to skin, and that the test method of UVA-HP photosensitization using the Skin^{2TM} ZK1301 model is a useful in vitro model for studying UVA phototoxicity and for UVA sunscreen evaluations.

Keywords: UVA, cytotoxicity, Skin^{2TM}, haematoporphyrin, PGE₂

Hanioka, N., Jinno, H., Chung, Y.-S., Tanaka-Kagawa, T., Nishimura, T. and Ando, M.: **Inhibition of rat hepatic cytochrome P450 activities by biodegradation products of 4-tert-octylphenol ethoxylate**

Xenobiotica, **29**, 873-883 (1999)

The effects of some biodegradation products of 4-tert-octylphenol ethoxylate (OPEO), namely 4-tert-octylphenol (OP), 4-tert-octylphenol diethoxylate (OP2EO) and 4-tert-octylphenol monocarboxylate (OP1EC) on the kinetics of cytochrome P450 (P450)-dependent monooxygenases in rat liver microsomes have

been studied. Testosterone 16 β -hydroxylase (TS16BH), testosterone 2 α -hydroxylase (TS2AH) and testosterone 6 β -hydroxylase (TS6BH) activities were extensively inhibited by OP at 100 μ M (56.0-90.3%). Inhibition was competitive for all P450-dependent monooxygenases. The K_is of TS16BH, TS2AH and TS6BH from Lineweaver-Burk plots were 6.37, 3.38 and 34.8 μ M respectively. The activities of acetanilide 4-hydroxylase (AA4H), 7-ethoxycoumarin O-deethylase (ECOD) and bufuralol 1'-hydroxylase (BF1'H) were also effectively inhibited by OP at 100 μ M (48.6-56.0%). The inhibition of these P450-dependent monooxygenases was non-competitive, and K_is (50.1-63.9 μ M) were higher than those of TS16BH, TS2AH and TS6BH. OP2EO also inhibited AA4H, ECOD, TS16BH, TS2AH, BF1'H and TS6BH activities by 38.7-69.3% at 100 μ M, although the inhibition rates were slightly lower than those for OP. K_is were 14.4-106 μ M, and the inhibition was of mixed type (AA4H and ECOD), competitive (TS16BH, TS2AH and TS6BH) and non-competitive (BF1'H). Testosterone 7 α -hydroxylase (TS7AH), 4-nitrophenol 2-hydroxylase (4NP2H) and lauric acid ω -hydroxylase (LAOH) activities were only slightly affected by OP and OP2EO. The ability of OP1EC to inhibit P450-dependent monooxygenase activities was generally weaker than that of OP and of OP2EO: the K_i > 200 μ M. These results suggest that OPEO biodegradation products interact with constitutive P450 isoforms, CYP1A2, CYP2A2, CYP2B2, CYP2C11 and CYP3A2 in rat liver *in vitro* (OP > OP2EO > OP1EC), and that the mechanism of this interaction differs depending on the compound and P450 isoform.

Keywords: 4-tert-Octylphenol ethoxylate; Cytochrome P450; Inhibition

Hanioka, N., Jinno, H., Tanaka-Kagawa, T., Nishimura, T. and Ando, M.: **In vitro metabolism of simazine, atrazine and propazine by hepatic cytochrome P450 enzymes of rat, mouse and guinea pig, and oestrogenic activity of chlorotriazines and their main metabolites**

Xenobiotica, **29**, 1213-1226 (1999)

The *in vitro* metabolism of chlorotriazines, simazine (SIZ), atrazine (ATZ) and propazine (PRZ) in liver microsomes from rat, mouse and guinea pig and the oestrogenic activity of chlorotriazines and their main metabolites have been studied. The formation rates of products in chlorotriazine metabolism were determined by HPLC. The principal reactions catalysed by the cytochrome P450 (P450) system were N-monodealkylation and isopropylhydroxylation in all liver microsomes. As a result, 2-chloro-4-ethylamino-6-amino-1,3,5-triazine (M1) (SIZ-M1 for SIZ and ATZ-M1 for ATZ) and 2-chloro-4-amino-6-isopropylamino-1,3,5-triazine (M2) (ATZ-M2 for ATZ and PRZ-M2 for PRZ), and 2-chloro-4-ethylamino-6-(1-hydroxyisopropylamino)-1,3,5-triazine (M3) (ATZ-M3 for ATZ) and 2-chloro-4-isopropylamino-6-(1-hydroxyisopropylamino)-1,3,5-triazine (M4) (PRZ-M4 for PRZ) were detected as the metabolites. N-bidealkylation was not found in this system. The formation rates of N-deethylated metabolites (SIZ-M1 and ATZ-M2) were generally higher in mouse than in rat and guinea pig. The formation rates of N-deisopropylated metabolites (ATZ-M1 and PRZ-M2) in guinea pig were the lowest among the three animal species. The formation rates of isopropylhydroxylated metabolites (ATZ-M3 and PRZ-M4) were remarkably low in mouse compared with rat and guinea pig. The enzyme kinetics of chlorotriazine metabolism were examined by Eadie-Hofstee analyses. Some species differ-

ences in Michaelis-Menten parameters for each metabolite were observed, and the ranking orders were varied among the metabolites. The binding affinity of chlorotriazines (SIZ, ATZ and PRZ) and their metabolites (M1-4) for recombinant human estrogen receptor- α was assayed using the fluorescence polarization method. The binding affinity of M2 was significantly higher than those of parent compounds and other metabolites, although the oestrogenic activity was remarkably low compared with that of 17 β -oestradiol (E2). These results suggest that the pattern of metabolism of SIZ, ATZ and PRZ by the P450 system differs extensively among rat, mouse and guinea pig, and that M2 may be an activated metabolite of chlorotriazines.

Keywords: Chlorotriazine; Cytochrome P450; Oestrogenic activity

Hanioka, N., Jinno, H., Chung, Y.-S., Nishimura, T., Tanaka-Kagawa, T. and Ando, M.: **Effect of 4-tert-octylphenol on cytochrome P450 enzymes in rat liver**

Arch. Toxicol., **73**, 625-631 (2000)

The effects were studied of 4-tert-octylphenol (OP) on hepatic cytochrome P450 enzymes in rats. Rats were treated intraperitoneally with OP twice, at doses of 5, 10 and 20 mg/kg. Among the cytochrome P450-dependent monooxygenase activities, testosterone 2 α -hydroxylase activity, which is associated with CYP2C11, was significantly decreased by OP at all doses. The level relative to control activity was 67-22%. CYP3A2-dependent monooxygenase, testosterone 6 β -hydroxylase activity was also decreased by 51% by OP at 20 mg/kg. Furthermore, immunoblotting showed that OP (10 or 20 mg/kg) significantly decreased CYP2C11/6 and CYP3A2/1 protein levels. However, the reduction ratio of CYP2C11/6 and CYP3A2/1 protein levels by OP treatment was lower than that of testosterone 2 α -hydroxylase and testosterone 6 β -hydroxylase activities. The Cl_{int} (V_{max}/K_m) value for testosterone 2 α -hydroxylase was significantly decreased by OP at all doses, whereas the Cl_{int} value for testosterone 6 β -hydroxylase was only decreased by OP at 20 mg/kg. In addition, 7-ethoxycoumarin O-deethylase activity was significantly decreased by 32% by the highest dose of OP. By contrast, CYP1A1-, CYP1A2-, CYP2A1-, CYP2B1/2-, CYP2D1-, CYP2E1- and CYP4A1/2/3- dependent monooxygenase activities were not affected by OP at any dose. These results suggest that OP changes the male-specific cytochrome P450 isoforms in rat liver, and that these changes closely relate to the toxicity of OP.

Keywords: 4-tert-Octylphenol; Cytochrome P450; Suppression

Hanioka, N., Jinno, H., Tanaka-Kagawa, T., Nishimura, T. and Ando, M.: **Interaction of bisphenol A with rat hepatic cytochrome P450 enzymes**

Chemosphere, **41**, 973-978 (2000)

The effect of bisphenol A (BPA) on the kinetics of cytochrome P450 (P450)-dependent monooxygenases in rat liver microsomes was studied. Testosterone 16 β -hydroxylase (TS16BH) and testosterone 2 α -hydroxylase (TS2AH) activities were extensively inhibited by BPA at 100 μ M (69 and 74%, respectively). The inhibition type was mixed for both P450-dependent monooxygenases. The K_i of TS16BH and TS2AH from Lineweaver-Burk plots was 25.9 and 24.9 μ M, respectively. The activities of acetanilide 4-hydroxylase (AA4H), 7-ethoxycoumarin O-deethylase (ECOD), bufuralol 1'-hydroxylase (BF1'H), chlorzoxazone 6-hydroxylase (CZ6H) and testosterone 6 β -hydroxylase (TS6BH) were also effectively inhibited by BPA at 100 μ M (43-

52%). The inhibition type of these P450-dependent monooxygenases was mixed or uncompetitive, and the K_{is} (50.5-88.5 mM) were higher than those of TS16BH and TS2AH. By contrast, the values of IC₅₀ and K_i of testosterone 7 α -hydroxylase (TS7AH) and lauric acid ω -hydroxylase (LAOH) for BPA were > 1000 μ M. These results suggest that BPA interacts with rat hepatic CYP1A2, CYP2A2, CYP2B2, CYP2C11, CYP2D1, CYP2E1 and CYP3A2 *in vitro*.

Keywords: Bisphenol A; Cytochrome P450; Interaction

佐々木久美子, 高附 巧, 根本 了, 今中雅章*1, 衛藤修一*2, 村上恵美子*2, 豊田正武: **食品中のアルキルフェノール及び2,4-ジクロロフェノールの分析**
食品衛生学雑誌, **40**, 460-472 (1999)

11種のアルキルフェノール及び2,4-ジクロロフェノールをGC/MSで同時測定する系を確立し, 米, 野菜, 果実, 魚介類, 畜肉類, 乳製品及び缶詰について汚染実態調査を実施した。

その結果, 魚介類, 肉類及び野菜・果実から4-ノニルフェノールがそれぞれ10~723 ng/g, 9~180 ng/g及び7~131 ng/g検出された。また, 一部の野菜から2,4-ジクロロフェノールが2~17 ng/g検出された。

Keywords: alkylphenol, 2,4-dichlorophenol, nonylphenol

*1 岡山県環境保健センター

*2 北九州市環境科学研究所

高附 巧, 根本 了, 松田りえ子, 佐々木久美子, 豊田正武: **フォトダイオードアレイ検出HPLCによる農作物中の21農薬の一斉分析**

食品衛生学雑誌, **40**, 314-319(1999)

フォトダイオードアレイ検出HPLCによる農作物中の21農薬の一斉分析法を確立した。試料をアセトニトリル抽出し, ゲル浸透クロマトグラフィーで精製後, シリカゲルミニカラムで4画分に分けて農薬を溶出し, フォトダイオードアレイ検出HPLCで定性及び定量を行った。6作物に各農薬を0.4 μ g/g添加したときの回収率はキクログラック及びバナナのペンタゾンを除いて, 平均62.1~116.7%, 標準偏差0.1~17.9%であった。オレンジでは, 妨害が多いため4農薬の測定ができなかった。本法の検出限界は0.005~0.02ppmであった。

Keywords: pesticide residue, HPLC

松田りえ子, 林讓, 四方田千佳子, 田頭洋子, 勝峰万里*1, 岩木和夫*1: **クロマトグラフィー分析における適切なデータ取り込み間隔とデータ処理に関する考察**
分析化学, **49**, 233-238 (2000)

Various kinds of digital processing methods are used for obtaining the highest possible amount of information from digital data. This paper treats the effects of some digital processings (boxcar, trimming, moving average method and exponential smoothing) on the precision (RSD) of measurements. The following rules of thumb concerning an A/D converter, multi-channel detector and smoothing are obtained: 1) The data collecting time of an A/D converter should be set at a large value near or equal to the sampling intervals of the A/D converter; 2) The smaller is the number of frequencies detected in the multi-channel detector, the higher is the precision of measurements; 3) The smoothing (moving average method and exponential smoothing) is effective for height measurement, and not for area measurement. The original data should be stored for another analysis.

Keywords: chromatography, precision; sampling intervals of data

*1 荏原総合研究所

堀江正一*1, 城戸靖雅*2, 村山三徳, 豊田正武, 中澤裕之*3: **HPLCによる畜水産食品中のスピラマイシンI及び主代謝物ネオスピラマイシンIの定量**
食衛誌, 40, 401-406 (1999)

A simple and rapid method using HPLC for the determination of spiramycin I (major and most important component) and its metabolite, neospiramycin I, in meat, fish and milk has been developed. Neospiramycin I was obtained by acidic treatment of spiramycin I. The drugs were extracted with 1.2% metaphosphoric acid-methanol (5:5), and the extracts were cleaned up on a Bond Elut SCX (500 mg) cartridge. The HPLC separation was performed on a Puresil 5C18 column (150 × 4.6 mm i.d.) using 0.05 mol/L phosphate buffer (pH 2.5)-acetonitrile (76:24) as the mobile phase at a flow rate of 0.5 mL/min. The drugs were detected at 235 nm. The calibration graphs were rectilinear from 2 to 50 ng for both drugs. The recoveries of the drugs from meat, milk and fish at the level of 0.2 μg/g were 80.3-85.3%, and detection limits were 0.05 μg/g for both drugs.

Keywords: macrolides, spiramycin, residual analysis

*1 埼玉県衛生研究所

*2 畜産生物科学安全研究所

*3 星薬科大学

Suzuki, T., Kondo, K., Uchiyama, M., Murayama, M.: **Some Sulfur-Containing Metabolites of Tri-n-butyltin Chloride in Male Rats**

J. Agric. Food Chem., 47, 4791-4798 (1999)

In an attempt to elucidate metabolic destination of TBTO, sulfur-containing metabolites were investigated in the urine. Tri-n-butyltin chloride (TBTC), tri-n-butyltin oxide (TBTO), and their in vitro metabolites in rat liver microsomal enzyme systems, di-n-butyl(3-hydroxybutyl)tin chloride (T3OH), di-n-butyl(3-oxobutyl)tin chloride (T3CO), dibutyltin dichloride (DBTC), and monobutyltin trichloride (MBTC), were intraperitoneally administered to rats. In particular, administration of T3OH and T3CO gave higher amounts of mercapturic acid derivatives, such as *N*-acetyl-*S*-(3-oxobutyl)-*L*-cysteine (3CO-MA) and *N*-acetyl-*S*-(3-hydroxybutyl)-*L*-cysteine (3OH-MA), than TBTC or TBTO. On the other hand, DBTC and MBTC did not yield measurable amounts of 3CO-MA and/or 3OH-MA. The appearance of organotin metabolites in urine indicates that T3OH, T3CO, and hypothesized secondary metabolites, such as *n*-butyl(3-hydroxybutyl)(3-oxobutyl)tin chloride, *n*-butyl-(3-hydroxybutyl)(4-hydroxybutyl)tin chloride, etc., are subject to the action of glutathione *S*-transferase to give mercapturic acid derivatives. These sulfur-containing metabolites (3CO-MA and 3OH-MA) were also found in control rat urine.

Keywords: tributyltin, mercapturic acid, glutathione conjugate

Kawasaki, M.*1, Ono, T.*2, Murayama, M., Toyoda, M., Uchiyama, S.*1: **Determination of Thiabendazole and 5-Hydroxythiabendazole in Livestock Foods by HPLC-UV**
J. Food Hyg. Soc. Japan, 40, 481-487 (1999)

Thiabendazole (TBZ) is a benzimidazole antibacterial agent used as an anthelmintic for livestock. 5-Hydroxythiabendazole (5-OH TBZ) is a metabolite formed by hydroxylation of TBZ in an animal's body. The recovery of 5-OH TBZ from animals by extraction in conventional TBZ analysis, which employs a

strongly alkaline (pH 11.0) buffer, is as low as 50%. In order to establish a method for simultaneous analysis of TBZ and 5-OH TBZ with high recovery, we examined the optimum pH of a buffer for extraction, a suitable solvent for extraction, and a clean-up column. As a result, it was found that the optimum pH of the buffer was 9.0 and that suitable solvents were ethyl acetate (AcOEt) for pig muscle and liver, and MeCN for pig fat and cow's milk. Among the three types of solid phase extraction (SPE) clean-up columns investigated, the highest recovery for both chemicals was achieved by using an alumina N (ALN) column.

Keywords: thiabendazole, 5-hydroxythiabendazole, solid-phase extraction

*1 Hatano Research Institute, Food & Drug Safety Center

*2 Kanagawa University

藤田和弘*1, 山口嘉奈子*1, 松岡慎*1, 高山正彦*1, 渡井正俊*1, 丹野憲二*1, 丸山賀子*2, 村山三徳, 豊田正武: **畜水産食品中の残留ベンジルペニシリンの微生物学的試験法**
食衛誌, 41, 149-153 (2000)

A biological method for determination of residual benzylpenicillin (PCG) in livestock products was evaluated. PCG was extracted from a sample with distilled water. The extract was deproteinized by adding tungstic acid, followed by a Bond Elut C18 cartridge clean-up procedure. The cylinder method was employed for quantitative determination, and microbioautography for identification of PCG. The average recovery at the maximum residue limits recommended by the Codex committee was 80.7% and the determination limits were 5 ppb (muscle, liver, kidney) and 1 ppb (milk).

Keywords: benzylpenicillin, microbioassay, microbioautography

*1 日本食品分析センター

*2 畜産生物科学安全研究所

Kondo, K., Kurihara, M., Miyata, N., Suzuki, T. and Toyoda, M.: **Scavenging mechanisms of (-)-epigallocatechin gallate and (-)-epicatechin gallate on peroxy radicals and formation of superoxide during the inhibitory action**
Free Radical Biol. Med. 27, 855-863 (1999)

The scavenging effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) and (-)-epicatechin gallate (ECG) on peroxy radicals and their mechanisms were studied by investigating the products formed during the first stages by 2,2'-azobis(2-aminopropane) hydrochloride (AAPH)-induced oxidation, without any isolation, using LC/MS, spectrophotometry, chemiluminescence analyses, and semiempirical molecular orbital (MO) calculations. The results show that EGCG can be converted to an anthocyanin-like compound followed by cleavage of the gallate moiety by oxidation. On the other hand, ECG can be converted to an anthocyanin-like compound after cleavage of the gallate moiety. The calculated C-H bond dissociation enthalpies (BDE's) for EGCG and ECG at the C-2 position were quite low (62.7 and 66.8 kcal/mol, respectively) compared to O-H BDE's at the phenolic sites (ca. 70 kcal/mol), suggesting that the C-2 hydrogen can be abstracted by free radicals. The addition of superoxide dismutase (SOD) decreased the chemiluminescence in EGCG by one-half during the inhibitory action. Active oxygen including superoxide (O²⁻) would be produced in EGCG, but not in ECG. The authors proposed the antioxidative mechanisms of EGCG and ECG depending on the experimental results and theoretical calculations.

Keywords: catechins, APCI-LC/MS, photodiode array, MO calculation, superoxide, chemiluminescence

Kondo, K., Kurihara, M., Fukuhara, K., Tanaka, T., Miyata, N., Suzuki, T. and Toyoda, M.: **Conversion of procyanidin B-type (catechin dimer) to A-type: Evidence for abstraction of C-2 hydrogen in catechin during radical oxidation.** *Tetrahedron Lett.* **41**, 485-488 (2000)

Procyanidin B-1 and B-2 were converted to A-1 and A-2 by radical oxidation using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radicals under neutral conditions, respectively. Transformation of procyanidin B-type into A-type certainly shows abstraction of the hydrogen atom at the C-2 position during radical oxidation.

Keywords: polyphenols, antioxidant, radicals, bond dissociation enthalpy

Goda, Y., Hoshino, K.^{*1}, Akiyama, H., Ishikawa, T., Nakamura, T., Otsuka, H.^{*2}, Takeda, Y.^{*3}, Tanimura, A.^{*1}, Toyoda, M.: **Constituents in watercress: inhibitors of histamine release from RBL-2H3 cells induced by antigen stimulation**

Biol. Pharm. Bull., **47**, 1319-1326 (1999)

Histamine release inhibitors in watercress (*Nasturtium officinale*) were isolated using a monitoring system with antigen-stimulated RBL-2H3 cells. Of the 15 compounds isolated, flavonols and megastigmanes significantly inhibited histamine release. Two flavonols, 3-O-sophorosides of rhamnetin and rhamnazin, were new compounds. To investigate the inhibitory mechanism, the effects of rhamnetin, rhamnetin 3-O-sophoroside and an isolated megastigmane glucoside on the increase in the intracellular free calcium concentration were examined at a concentration providing 60% inhibition of histamine release. The results suggest that these compounds did not affect the calcium influx at that concentration. The structure-activity relationships of the megastigmanes on histamine release were also investigated.

Keywords: *Nasturtium officinale*, histamine release inhibitor, flavonol

^{*1} Showa Women's University

^{*2} Institute of Pharmaceutical Sciences, Hiroshima University School of Medicine

^{*3} Faculty of General Arts and Sciences, The Tokushima University

Terahara, N.^{*1}, Kato, Y.^{*2}, Nakamura, M.^{*2}, Maitani, T., Yamaguchi, M.-a.^{*1}, Goda, Y.: **Six diacylated anthocyanins from storage roots of purple sweet potato, *Ipomoea batatas* Biosci. Biotech. Biochem.**, **63**, 1420-1424 (1999).

Eight acylated anthocyanins were isolated from the storage roots of the purple sweet potato, *Ipomoea batatas* cv Yamagawamurasaki, which is the source of the food colorant "purple sweet potato color." Of these, six pigments were identified as diacylated anthocyanins, cyanidin and peonidin 3-O-(6-O-(E)-caffeoyl-2-O-(6-O-acyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside)-5-O-β-D-glucopyranoside, in which each acyl substituent was a p-hydroxybenzoyl, (E)-caffeoyl or (E)-ferulyl residue, mainly by NMR analyses.

Keywords: *Ipomoea batatas*, diacylated anthocyanin, purple sweet potato color

^{*1} College of Horticulture, Minami-Kyushu University

^{*2} San-Ei Gen FFI, Inc.

穂山浩, 菊池裕, 成田紀子, 鈴木明子, 合田幸広, 高鳥浩介, 一戸正勝*, 豊田正武: 国産穀物等から分離された *Fusarium moniliforme* 及び *F. proliferatum* のフモニシン産生能及び新規フモニシン類の検出
食衛試, **41**, 30~37 (2000)

国産農作物, ニュギニア産トウモロコシ等から単離した *Fusarium* 菌 12 株について, コーングリッソ上のフモニシン産生能を, ポストカラム HPLC 法で調べたところ, 12 株中 9 株がフモニシンを産生することが判明した. 次にフモニシン産生能が高い 3 株が産生するフモニシン類について LC/MS を用い, 詳細に解析した. その結果, 国産玄米から単離した *Fusarium proliferatum* 株の培養抽出液からフモニシン B1 モノメチルエステル体が天然より初めて検出された. またグレープフルーツから単離した *Fusarium moniliforme* 株の培養抽出液から新規フモニシン B1 異性体が検出された.

Keywords: fumonisins, *Fusarium* spp, Japanese agricultural commodities

* 東京家政大学

穂山浩, 奥貫晴代, 都筑智子, 荒見真一郎*, 三浦裕仁*, 佐久嶋順一郎, 手島玲子, 合田幸広, 日野明寛*, 澤田純一, 豊田正武: シキミ酸リン酸化酵素 II 発現系の構築とシキミ酸 3-リン酸の調製
食衛試, **40**, 438~443 (1999)

除草剤グリホサート耐性ダイズの 5-enolpyruvylshikimic acid 3-phosphate synthase の基質である shikimate acid 3-phosphate (S-3-P) を得るために, shikimate kinase II (SK-II) 遺伝子を, エレクトロポレーション法で大腸菌 BL21 株に形質導入した. 発現された SK-II の酵素活性は ³²P のシキミ酸への取り込み等で確認した. 生成された S-3-P はカーボンカラムを用いた LC/MS 等で同定した. カーボンカラムを用いる HPLC は揮発性溶媒を用いず, S-3-P を分離できるので, S-3-P の簡便な調製が可能となった.

Keywords: shikimic acid 3-phosphate, shikimate kinase II, carbon column HPLC

* 農水省食品総合研究所

Akiyama, H., Hoshino, K.^{*1}, Tokuzumi, M.^{*1}, Teshima, R., Mori, H.^{*2}, Inakuma, T.^{*2}, Ishiguro, Y.^{*2}, Goda, Y., Sawada, J.-i., Toyoda, M.: **The Effect of feeding carrots on Immunoglobulin E production and anaphylactic response in mice**

Biol. Pharm. Bull. **22**, 551-555 (1999).

Carrot juice was administered orally to BALB/c mice immunized intraperitoneally with dinitrophenylated (DNP)-OVA for about 1 month. The titers of DNP-specific IgE, DNP-specific IgG, and the levels of total IgE in mouse sera were determined. The DNP-specific IgE production by mice fed carrot juice was significantly inhibited. On the other hand, the DNP-specific IgG production and the level of total IgE in mice fed carrot juice were not significantly different from those in control mice. We also examined the effect of feeding carrots on immediate-type hypersensitivity. One hour after antigen stimulation, the ears of mice fed carrots swelled less than those of control mice. Furthermore, the rise in serum histamine in the mice fed carrots under active systemic anaphylaxis was lower than in controls. We then examined the pattern of cytokine production by spleen cells from mice followed by restimulation with DNP-OVA *in vitro*. The spleen cells from the mice fed carrots produced more interferon-γ than those from the control group. In contrast, the spleen cells from

the mice fed carrots produced less interleukin-4 than those from the control group. Furthermore, the interleukin-12 production of the spleen cells from mice fed carrots was also higher than that of the control group. These findings suggest that feeding carrots improves the helper T cell (Th)1/Th2 balance, inhibiting specific IgE production and antigen-induced anaphylactic response.

Keywords: anti-allergic activity, carrot, Immunoglobulin E

*1 Showa Women's University

*2 Research Institute, Kagome Co., Ltd.

Kusaka, T.*¹, Matsufuji, H.*¹, Chino, M.*¹, Kato, Y.*², Nakamura, M.*², Goda, Y., Toyoda, M., Takeda, M.*¹: **Isolation, identification, and determination of a magenta subsidiary color in Food Blue No.1 (Brilliant Blue FCF)**

Food Additives and Contaminants, **16**, 501-507 (1999).

A magenta subsidiary colour was isolated from commercial Food Blue No. 1 (B-1; brilliant Blue FCF). The absorption maximum for this subsidiary colour at 580 nm is outside of the range of 614-628 nm found for other subsidiary colours and m,m-B-1. On the basis of MS and NMR analyses, the structure of the subsidiary colour was elucidated as the disodium salt of 2-[[4-[N-ethyl-N-(3-sulfonatophenylmethyl) amino]phenyl] [4-oxo-2,5-cyclohexadienylidene]methyl]benzenesulfonic acid. HPLC analyses revealed that 24 batches of commercial Food blue No. 1 (three manufactures) contain 0.1-0.8% (average: 0.5%) of the magenta subsidiary colour.

Keywords: Food Blue No. 1, Brilliant Blue FCF, subsidiary colour

*¹ College of Bioresource Science, Nihon University

*² San-Ei Gen FFI, Inc.

神蔵美枝子, 義平邦利, 合田幸広: 食用赤色 104 号中の副成色素の構造と定量

食衛誌, **40**, 455-459 (1999)

食用赤色 104 号 (R104) 中の 2 種の副成色素 (P1, P2) を単離し, 各種機器分析を用い構造決定を行った。その結果, P1 は, R104 のキサンテン部の 2 位, 7 位の臭素が脱離した 4',5'-ジブromo-4,5,6,7-テトラクロロ-3',6'-ジオキシドスピロ [イソベンゾフラン-1 (3H), 9'- [9H] キサンテン] -3-オン, P2 は, 7 位の臭素が脱離した 2',4',5'-トリブromo-4,5,6,7-テトラクロロ-3',6'-ジオキシドスピロ [イソベンゾフラン-1 (3H), 9'- [9H] キサンテン] -3-オンであることが判明した。さらに, HPLC を用い市販 R104 (4社9試料) 中の混在量を調べた。その結果, 全ての試料で P2 が検出され, 0.08-5.21% の存在であった。他方, P1 は, 5 試料で検出されず, 最大検出値は, 0.06% であった。

Keywords: food red No. 104, subsidiary color, xanthene color

Kojima, T.*, Akiyama, H., Sasai, M.*, Taniuchi, S.*, Goda, Y., Toyoda, T., Kobayashi, Y.*: **Anti-allergic effect of apple polyphenol on patients with atopic dermatitis: A pilot study**

Allergy International, **49**, 69-73 (2000)

The aim of the present study was to evaluate the anti-allergic effect of apple condensed tannins (ACT) in patients with atopic dermatitis (AD) as a pilot study. An ACT supplement given to patients at oral doses of 10 mg/kg per day for 8 weeks reduced the inflammation, lichenification, cracking, itching, sleep disturbance and peripheral blood eosinophil counts. Itching and sleep disturbance score after ACT supplement even for 2 weeks were significantly decreased compared with control group. The results

suggest that ACT has an anti-allergic effect and that its use improved the symptoms AD.

Keywords: anti-allergic effect, apple polyphenol, atopic dermatitis

* Department of Pediatrics, Kansai Medical University

Matsuoka, T.*, Kawashima, Y.*, Akiyama, H., Miura, H.*, Goda, Y., Kusakabe, Y.*, Sebata, T.*, Isshiki, K.*, Toyoda, M., Hino, A.*: **A method of detecting recombinant DNA from genetically modified maize**

J. Food Hyg. Soc. Japan, **41**, 137-143 (2000)

A method using polymerase chain reaction (PCR) was designed for the detection of genetically modified maize (GM-maize). There are four lines of GM-maize imported from the United States, and the presence of recombinant deoxyribonucleic acid (DNA) in the maize could be detected with four pairs of specific oligonucleotide primers designed from the sequences of the newly introduced genes. The maize zein gene was also detected as an internal control. This method allows specific detection of each of Bt11, Event176, MON810 and LIBERTY by using pairs of specific primers designed to amplify the segment including part of the intrinsic maize. The detection sensitivity was about 0.05% for Event176, MON810 and LIBERTY, and about 0.01% for Bt11. To distinguish among three insect resistant GM-maize lines, we designed a multiplex PCR method. These three GM-maize lines were distinguishable on the basis of the expected length of their amplicons.

Keyword: genetically modified maize, recombinant DNA, PCR

*National Food Research Institute, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries

宮原誠, 長沢妙子*¹, 伊住慶子*², 北村真弓*², 豊田正武, 齊藤生行: 新規レーザー蛍光検出 HPLC によるガンマ線照射フェニルアラニン水溶液及び豚肉中のチロシンの分析

食品照射, **34**, 3-8 (1999)

New analytical procedure for o-tyrosine was studied to investigate effects of gamma irradiation on aqueous phenylalanine solution and pork. The process includes extraction and hydrolysis of protein, derivatization of the free amino acid by fluoro-reagent, and finally separation and detection by LASER fluorometric HPLC. The detection limit was 25ng.

To study how the procedure works, irradiated phenylalanine solution and pork were analyzed. The samples were irradiated at doses up to 10kGy at room temperature.

Three tyrosine isomers were detected in phenylalanine solution, and 2 isomers (o- and p-tyrosine) were found in pork. Dose response was found in the formation of the isomers both in phenylalanine solution and in pork. O-tyrosine peak obtained from irradiated pork was separated from interference successfully. Those findings illustrate the procedure may be applicable to detection of irradiated food.

Keywords: gamma-irradiation, ortho-tyrosine, NBD-F, fluorometric, HPLC

*¹ 北里大学医療衛生学部, *² 実践女子大学家政学部

Miyahara, M., Ito, H.*¹, Nagasawa, N.*², Kariya, M.*², Izumi, K.*³, Kitamura, M.*³, Toyoda, M., and Saito, Y.: **Determination of o-Tyrosine Production in Aqueous Solutions of Phenylalanine Irradiated with Gamma Ray, Using High Performance Liquid Chromatography with Automated Pre-column Derivatization and LASER**

Fluorometric Detection.

J. Health Sci., 46, 192-199 (2000).

Tyrosine isomers produced by gamma radiation of aqueous phenylalanine solutions at mid dose levels (1-10 kGy) were examined to obtain basic information for irradiated food detection using a new high performance liquid chromatography (HPLC) analytical procedure. The procedure was established using an automated pre-column derivatization with 4-fluoro-7-nitro 2,1,3-benzoxadiazole (NBD-F) followed by reverse phase HPLC and LASER fluorometric detection. The limit of detection (LOD) was 0.06 ng on-column and the linear range for calibration was 0.06 to 50 ng for the tyrosine derivatives. The relative standard deviation was 10% to 12%. The amounts of the tyrosine isomers increased with levels of irradiation. Irradiation at low temperature with reduced oxygen decreased the yields of tyrosine isomers. In the pH range of 5 to 7, the amount of product was not changed significantly by pH. Outside of the range, the pH did have an effect on product generation. At constant dose levels the yields of tyrosine isomers initially increased with phenylalanine concentration. However, with further increases in phenylalanine a reduction in the absolute amounts of tyrosine isomers was observed.

Dose rates varying from 0.5 kGy/h to 10 kGy/h had no significant effect on tyrosine isomer formation if a total of 10 kGy was used in each case. In addition, demonstrating the usefulness of this new analytical technique for o-tyrosine determination, these studies suggest that the presence of o-tyrosine as another parameter that is indicative of gamma irradiation.

Keywords: o-tyrosine method, irradiated food detection, LASER fluorometric detection for HPLC, pre-column fluorometric derivatization, NBD-F

^{*1} Atomic Energy Research Institute Takasaki Radiation Establishment; ^{*2} Kitazato University; ^{*3} Jissen Women's Collage

Toyoda, M., Uchibe, H.^{*1}, Yanagi, T.^{*2}, Kono, Y.^{*2}, Hori, T.^{*3}, and Iida, T.^{*3}: **Decreased Daily Intake of PCDDs, PCDFs and Co-PCBs from Foods in Japan from 1977 to 1998**

J. Food Hyg. Soc. Japan, 40, 494-499(1999)

Since 1977, pooled total diet samples (13 food group composites) from one district of Japan were analyzed for PCDDs, PCDFs and co-PCBs. Daily intakes of PCDDs+PCDFs decreased from 3.8 (4.7) pgTEQ/kg bw/day in 1977 to 0.92 (1.8) pgTEQ/kg bw/day in 1998, calculated at ND (not detected)=0 (and ND=half the detection limit). Over the same period, daily intake of co-PCBs decreased from 4.4 (4.7) pgTEQ/kg bw/day to 1.8 (2.1) pgTEQ/kg bw/day, calculated at ND=0 (and ND=half the detection limit). This amounts to a decrease of 76% for PCDDs+PCDFs and 59% for co-PCBs. In contrast, total dioxin intake decreased by approximately one-third over the same period. A strong correlation between decreasing dioxin intake and dioxin concentration in breast milk in the same district was found ($r=0.969$, total dioxin). These results show a downtrend in the dietary intake of dioxins in Japan.

Keywords: dioxin, daily intake, PCDDs, PCDFs, coplanar PCBs, total diet study

^{*1} Japan Food Research Laboratories, ^{*2} Japan Food Research Laboratories Tama Laboratory, ^{*3} Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences

Ishiwata, H., Sugita, T., Kawasaki, Y., Takeda, Y., Yamada, T., Nishijima, M.^{*1}, and Fukasawa, Y.^{*2}: **Estimation of preservative concentrations in food and their daily intake based on official inspection results in Japan in fiscal year 1996**

J. Food Hyg. Soc. Japan, 40, 246-258 (1999)

1996年度の全国自治体の行政検査結果を基に、保存料(安息香酸, デヒドロ酢酸, p-ヒドロキシ安息香酸, プロピオン酸)の使用実態と摂取量を求めた。総検査件数は112,131検体であった。食品中の濃度は上記の順に使用基準の7.8, 0.4, 3.2, 1.7, 14.1%, 摂取量は各々11.0, 0.0474, 1.06, 5.43, 26.0 mg/日/人で、ADIの4.4%以下であった。摂取量に対し関与率の高い食品は上記の添加物の順に、清涼飲料水(摂取量の82.7%), 菓子(56.7%), 醤油(58.9%), 魚介製品(41.2%), 魚肉練り製品(30.1%)であった。

Keywords: food additive, preservative, daily intake

^{*1} 東京都立衛生研究所

^{*2} 山梨県衛生公害研究所

Ishiwata, H., Sugita, T., Kawasaki, Y., Takeda, Y., Yamada, T., Nishijima, M.^{*1}, and Fukasawa, Y.^{*2}: **Estimation of anti-fungal agent concentrations allowed as food additives in food and their daily intake based on official inspection results in Japan in fiscal year 1996**

J. Food Hyg. Soc. Japan, 40, 407-416 (1999)

1996年度の全国自治体の行政検査結果を基に、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)の使用実態と摂取量を求めた。総検査件数は6,369検体であった。食品中の濃度は上記の順に使用基準の0.007, 8.0, 3.0, 3.2%, 摂取量は各々0.0395, 11.1, 8.79, 26.2 μ g/日/人で、それぞれADIの0.0016, 0.89, 0.090, 0.52%であった。1994年度の同様の結果と比べ、ジフェニルの摂取量が約1/50であったことを除き、ほぼ同様であった。

Keywords: food additive, antifungal agent, daily intake

^{*1} 東京都立衛生研究所

^{*2} 山梨県衛生公害研究所

Ishiwata, H., Sugita, T., Kawasaki, Y., Takeda, Y., Yamada, T., Nishijima, M.^{*1}, and Fukasawa, Y.^{*2}: **Estimation of inorganic food additive (nitrite, nitrate, and sulfur dioxide) concentrations in foods and their daily intake based on official inspection results in Japan in fiscal year 1996**

J. Food Hyg. Soc. Japan, 41, 79-85 (2000)

1996年度の全国自治体の行政検査結果を基に、無機食品添加物(亜硝酸塩, 硝酸塩, 二酸化硫黄)の使用実態と摂取量を求めた。総検査件数は15,569検体であった。食品中の濃度は上記の順に使用基準の17.2, 30.9, 14.4%であった。摂取量は各々1.07, 1.43, 1.45 mg/日/人で、それぞれADIの35.7, 0.8, 4.1%であった。使用基準の定められている食品のうち、摂取量に対し関与率の高い食品は、硝酸塩, 亜硝酸塩では食肉製品(各々摂取量の11.6%, 43.1%), 二酸化硫黄ではかんぴょう(23.0%)であった。

Keywords: food additive, inorganic salt, daily intake

^{*1} 東京都立衛生研究所

^{*2} 山梨県衛生公害研究所

Ishiwata, H., Fukushima, A., Abe, Y., Yamada, T., Nishijima, M.^{*1}, and Fukasawa, Y.^{*2}: **Estimation of BHA, BHT, propylene glycol, and sodium saccharin concentrations in foods**

and their daily intake based on official inspection results in Japan in fiscal year 1996

J. Food Hyg. Soc. Japan, **41**, 86-93 (2000)

1996年度の全国自治体の行政検査結果を基に、BHA, BHT, プロピレングリコール, サッカリンナトリウムの使用実態と摂取量を求めた。総検査件数は28,428検体であった。食品中の濃度は上記の順に使用基準の3.9, 0.7, 16.8, 5.7%であった。摂取量は各々0.105, 0.220, 41.4, 7.64 mg/日/人で、それぞれADIの0.4, 1.5, 3.3, 3.1%であった。摂取量に対し関与率の高い食品は、上記の順に、魚介乾製品(摂取量の75.9%), 菓子(57.0%), 生麺(70.3%), 清涼飲料水(33.0%)であった。

Keywords: food additive, concentration, daily intake

*1 東京都立衛生研究所

*2 山梨県衛生公害研究所

山田真記子*1, 加藤喜昭*1, 中村幹雄*1, 神谷恒夫*2, 関川富士雄*3, 米谷民雄: 二酸化チタンの定量法に関する研究

日本食品化学学会誌, **6**, 34-37 (1999)

食品添加物二酸化チタンの定量法について検討した。第六版食品添加物公定書に記載されている重量法では、規格の上限值100.5%を越える製品があった。一方、アルミニウム還元法を用いた滴定法は、指示薬法及び電位差滴定法とも良好な結果を示し、従来法で上限値を超えた製品でも、規格内におさまった。特に、アルミニウム還元法(指示薬法)は簡便かつ迅速な方法であり、食品添加物二酸化チタンの定量法として最適と考えられた。

Keywords: titanium dioxide, aluminum-reduction, gravimetric method

*1 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

*2 東邦チタニウム株式会社

*3 フロイント産業株式会社

Nagaoka, M., Yamada, T., and Maitani, T.: **High resolution ICP-MS connected directly with HPLC for the study of metal-transferrin binding in aluminum and iron.**

Metal Ions in Biology and Medicine, **6**, 386-388 (2000)

HPLC connected directly with high-resolution ICP-MS (HPLC/HR-ICP-MS) was applied to study the chemical states of Al and Fe bound to human serum transferrin in vitro and in vivo. HPLC/HR-ICP-MS chromatograms detected by ²⁷Al and ⁵⁶Fe levels were obtained without polyatomic isotope interference. This method seems effective for investigating the binding of metal and biological materials from the metal side.

Keywords: ICP-MS, aluminum, iron

Kubota, H., Sato, K., Yamada, T. and Maitani, T.: **Phytochelatin homologs induced in hairy roots of horseradish**

Phytochemistry, **53**, 239-245 (2000)

When exposed to excess heavy metals, plants induce phytochelatin and related peptides (all designated as PCAs). Thus, when hairy roots of horseradish (*Armoracia rusticana*) were exposed for 3 days to cadmium (1 mM) along with reduced glutathione (2 mM), PCA induction occurred. Moreover, a new family of thiol peptides was detected as well as the previously known PCAs, as revealed by postcolumn-derivatization HPLC. Two were isolated and their structures were identified as (γ-Glu-Cys)_n-Gln (n = 3 and 4) by electrospray ionization-mass spectrometer spectra, this being confirmed by chemical synthesis of

the peptides. These new analogs constitute the sixth PCA family identified to date.

Keywords: phytochelatin, cadmium, horseradish

Sato, K., Sasaki, S. S., Goda, Y., Yamada, T., Nunomura, O.*1, Ishikawa, K.*2 and Maitani, T.: **Direct connection of supercritical fluid extraction and supercritical fluid chromatography as a rapid quantitative methods for capsaicinoids in placentas of Capsicum**

J. Agric. Food Chem., **47**, 4665-4668 (1999)

The pungent components of *Capsicum annuum*, which are irritants, are called capsaicinoids (CAPS). The principal components are capsaicin and dihydrocapsaicin. To analyze CAPS in the placentas of *Capsicum* fruits rapidly and safely, we used a directly connected system of supercritical fluid extraction and supercritical fluid chromatography (SFE/SFC). The CAPS contents in placentas of *C. annuum* determined by the SFE/SFC method agreed well with those in the range of 0 - 13.8 mg/g fr. wt determined by the usual extraction-HPLC method. The SFE/SFC method has the advantages of no need for pretreatment and no (or minimal) need for organic solvents.

Keywords: capsicum, capsaicinoid, SFE/SFC

*1 日本園芸生産研究所

*2 千葉大学園芸学部

佐藤恭子, 杉本直樹, 山田 隆, 米谷民雄: 天然着色料中のアスタキサンチンの光学異性及びファフィア色素の主色素成分に関する研究

食衛誌, **41**, 44-47 (2000)

天然着色料中のアスタキサンチン(AST)の化学形について検討した。まず、天然着色料ファフィア色素の主色素成分をHPLC及びLC/APCI-MSにより調べた結果、既存添加物名簿収載品目リストの記載通り、主色素成分は非エステル化体ASTであった。ついで、ファフィア色素、ヘマトコッカス藻色素及びオキアミ色素中のASTの光学異性について光学活性カラムを用いたHPLCにより検討した結果、ファフィア色素のASTは、(3R,3'R), けん化したヘマトコッカス藻色素及びけん化したオキアミ色素のAST部分は、それぞれ(3S,3'S)及び(3R,3'R)であった。

Keywords: phaffia color, astaxanthin, optical isomerism

佐藤恭子, 坂元(佐々木)史歩, 米谷民雄, 山田 隆: エビ中のコウジ酸の残存量に対する調理等の影響

食衛誌, **41**, 122-125 (2000)

既存添加物のコウジ酸が甲状腺腫瘍を引き起こすことが報告されている。そこで、コウジ酸製剤を食品に使用した場合の残存量に寄与すると考えられる種々の要因、浸漬時間、洗浄、保存、煮沸等の影響について、殻付きの甘エビを用いて検討した。その結果、冷凍、解凍の操作により、殻及び身中のコウジ酸は減少し、解凍時の水分の流出とともに溶出するものと考えられた。また、殻ごと洗浄した場合は、身中のコウジ酸含量は洗浄しない場合と変わらず、洗浄では溶出しないと考えられた。冷蔵では、冷凍に比べ、身中の残存量が多かった。さらに、煮沸により、殻及び身中のコウジ酸の8~9割が溶出すると考えられた。

Keywords: kojic acid, northern shrimp, cooking

秋山卓美, 小嶋裕美, 米谷民雄: 天然着色料イカスミ色素の試験法に関する研究

日本食品化学学会誌, **6**, 88-92 (1999)

天然着色料イカスミ色素の確認試験法, 色素含量を色価

で表現する方法, 及びたんぱく質含量について検討した。確認試験法については, 塩基性条件下での過酸化水素によるユーメラニンの分解反応を利用した方法について検討した。試料量として5 mg, 観察時間として反応開始後5分が適当と考えられた。イカスミ色素の色価測定法としては, イカスミ色素を過酸化水素と加熱下反応させた時の350 nmにおける吸光度から色価をもとめる方法を検討した。吸光度の相対標準偏差は約2%であり, また吸光度0~0.85の範囲で試料量と吸光度の間に良好な直線性が得られた。たんぱく質含量については, イカスミ色素を塩酸で加水分解した後, 遊離したアミノ酸をHPLCで分析し, その定量値から推定したところ, 全体の10%程度であると推定された。

Keywords: Sepia color, color value, protein content

Akiyama, T., Washino, T.*, Yamada, T., Koda, T.* and Maitani, T.: **Constituents of enzymatically modified isoquercitrin and enzymatically modified rutin (extract)**
J. Food Hyg. Soc. Japan, **41**, 54-60 (2000).

Enzymatically modified isoquercitrin and enzymatically modified rutin (extract) were analyzed to determine the structures and contents of their constituents. NMR analysis revealed that the 4-hydroxyl group of glucose was glucosylated in the manufacture of enzymatically modified isoquercitrin. LC/MS analysis elucidated the number of additional glucose moieties of each constituent. It was suggested that two additional enzymes, as well as cyclodextrin glucanotransferase, play roles in the manufacture of one sample. HPLC was employed to evaluate the contents of quercetin glycosides, which should determine solubility and antioxidative activity.

Keywords: enzymatically modified isoquercitrin, enzymatically modified rutin (extract), LC/MS

* 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

Sugimoto, N., Kiuchi, F.*¹, Mikage, M.*¹, Mori, M.*², Mizukami, H.*², Tsuda, Y.*¹: **DNA profiling of *Acorus calamus* chemotype differing in essential oil composition**
Biol. Pharm. Bull., **22**, 481-485 (1999).

The phylogenetic relationship of *Acorus gramineus* (AG) and three types of *A. calamus* (AC) was analyzed by comparing the 700 bp sequence of a 5S-rRNA gene spacer region. Although there was no intra-specific variation in the essential oil profile of AG which contained Z-asarone, AC could be classified into two chemotypes: chemotype A in which Z-asarone is a major constituent and chemotype B which contained sesquiterpenoids predominantly. An intermediate type (M) of these two chemotypes in various ratios was also observable. The NJ tree constructed based on the sequences revealed that AG was clearly distinguished from any of the chemotypes of AC and that the phylogenetic relationship predicted by the spacer region data correlated well with the chemotypes of AC.

Keywords: molecular phylogeny, 5S-rRNA gene, *Acorus calamus*

*¹ 金沢大学, *² 名古屋市立大学

河村葉子, 互井千恵子, 前原玉枝, 山田 隆: ポリ塩化ビニル中の添加剤の一斉分析法

食衛誌, **40**, 189-197 (1999)

既報のポリエチレン製品中の添加剤一斉分析法の, ポリ塩化ビニルへの適用を検討した。試料はシクロヘキサナー2-プロパノール混液に37℃で一晩浸漬して抽出し, 濃縮に

よりオリゴマーを除去し, HPLC及びGC/MSにより測定した。これまで対象としていた酸化防止剤, 紫外線吸収剤, 滑剤50種類のほか, フタル酸エステル類, アジピン酸エステル類などの可塑剤やノニルフェノール, ビスフェノールAを含む39種類の添加剤も分析可能であった。複数のピークをもつ化合物については, ピークの形状に応じて定量した。添加回収率は, 酸化防止剤等で53.2~118.0%, 可塑剤で69.3~119.5%とほぼ良好であった。また, 定量限界はGC/MSで確認可能な50~500µg/gとした。

Keywords: polyvinyl chloride, additives, simultaneous determination method

河村葉子, 互井千恵子, 前原玉枝, 山田 隆: ポリ塩化ビニル及びポリ塩化ビニリデン製品中の残存添加剤
食衛誌, **40**, 274-284 (1999)

ポリ塩化ビニル(PVC)及びポリ塩化ビニリデン(PVDC)製品について, 添加剤89種類の残存量を調べた。PVC製ラップフィルムの可塑剤残存量は14~38%で, アジピン酸ジイソノニル等のアジピン酸エステル類が主であったが, 容器類では残存添加剤は少なかった。手袋では可塑剤が34~55%に達し, 全検体からフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)とアジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)が検出された。玩具類は可塑剤が8.7~45%で, フタル酸ジイソノニル及びフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)が多用されていた。一方, PVDC製フィルム類は可塑剤が2.7~7.8%で, 主にクエン酸アセチルトリブチル及びセバシン酸ジブチルが使用されていた。またPVC製ラップフィルム, 手袋等からノニルフェノールが530~5,500µg/g検出された。

Keywords: polyvinyl chloride, wrapping film, gloves

河村葉子, 米澤里香, 前原玉枝, 山田 隆: 食品用ポリプロピレン製品中の添加剤の分析
食衛誌, **41**, 154-161 (2000)

既報のポリエチレン及びポリ塩化ビニル中の添加剤一斉分析法のポリプロピレン製品への適用を検討した。84種類の添加剤を分析対象とし, そのうち29種類の添加回収試験を行ったところ, 回収率は63.1~114.1%とほぼ良好であった。食品用ポリプロピレン製器具・容器包装39検体中の残存添加剤を測定したところ, 酸化防止剤のIrganox 1010が最も高頻度に検出され, 次いでIrgafos 168であった。その他, 酸化防止剤のBHT, 滑剤のオレアミド, ステアミド, エルカミド, ステアリン酸なども高頻度に検出された。更に, 界面活性剤のモノバルミチン, モノステアリンや可塑剤のDEHP, BBP, DINP等も検出された。また, 滑剤として添加されたと推定される3種類の脂肪族炭化水素群が見いだされた。

Keywords: food contact polypropylene, additives, simultaneous determination method

栗原正明, 田中正一*, 今若直人*, 末宗 洋*, 宮田直樹: α,α-ジ置換アミノ酸イソバリンおよびジエチルグリシンより構成されるホモペプチドの分子力学法によるコンフォメーション解析

JCPE Journal, **11**, 185-190 (1999)

α,α-ジ置換アミノ酸であるイソバリンおよびジエチルグリシンよりそれぞれ合成したホモペプチドの分子力学法によるコンフォメーションサーチを, MacroModel®のモンテカルロ法を用いて行った。力場としてAMBER®を用いた場合, 両ペプチドとも最安定構造として3₁₀-ヘリックスを与

えた。これはX線構造解析の構造とよい一致を示した。また、力場としてMMFFを用いた場合に、ジエチルグリシンのホモペプチドの最安定構造はプラナーな構造を与えた。これは、溶液中での構造がプラナーであることと一致した。

Keywords: molecular mechanics, α,α -disubstituted amino acid, conformational analysis, homooligopeptides

*九州大学大学院薬学研究科

M. Kurihara, M. Tanaka*, N. Imawaka*, H. Suemune* and N. Miyata: **Molecular mechanics study on conformational analysis of homooligopeptides prepared from α,α -disubstituted amino acids.**

Peptide science 1999, 329-330 (2000)

イソバリン, ジエチルグリシン, エチルブチルグリシンより合成したホモペプチドの分子力学法によるコンフォメーションサーチを行った。力場としてAMBER*を用いた場合, 3_{10} -ヘリックスを与えた。これは結晶中の構造とよい一致を示した。また、力場としてMMFFを用いた場合に、ジエチルグリシン, エチルブチルグリシンのホモペプチドの最安定構造はプラナーな構造を与えた。これは、溶液中での構造がプラナーであることと一致した。

Keywords: molecular mechanics, α,α -disubstituted amino acid, conformational analysis, homooligopeptides

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University

M. Tanaka*, N. Imawaka*, M. Kurihara, H. Suemune*: **Conformation of peptides prepared from α -ethylated α,α -disubstituted amino acids**

Peptide science 1999, 327-328 (2000)

エチル基を有する α,α -置換アミノ酸ジエチルグリシン, エチルブチルグリシンのホモペプチドを合成し, X線構造解析, NMRによりコンフォメーション解析を行った。その結果, ジエチルグリシンのホモペプチドは結晶中では 3_{10} -ヘリックス構造, 溶液中ではプラナーな構造であった。エチルブチルグリシンのホモペプチドは結晶中, 溶液中でいずれでもプラナーな構造であった。

Keywords: α,α -disubstituted amino acid, conformational analysis, homooligopeptides

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University

宮田直樹, 山越葉子, 末吉祥子, 増水章季*¹, 河野雅弘*¹, 笠明美*², 荒金久美*², 梅沢直樹*³, 長野哲雄*³: **光励起フラレンの生物作用発現に関与する酸化活性種の解析**

磁気共鳴と医学, 11, 9-12 (2000)

優れた光増感剤であるフラレンは, 光照射条件下種々の生物作用を示す。今回, 生物作用発現に関与する活性種の解析研究を行った。一重項酸素やスーパーオキシド消去剤存在下でのDNA切断実験結果の解析, 一重項酸素の発光による近赤外スペクトルの観測, スピントラップ剤を用いるEPRスペクトルの測定などにより, 電子欠損型の光増感剤である[60]フラレンは, 光照射によりスーパーオキシドならびにヒドロキシルラジカルを発生することがわかった。これらの活性種が生物作用発現に関与していると考えられる。

Keywords: fullerene, C60, hydroxyl radical, superoxide, photosensitizer

*¹ 日本電子ESR応用研

*² コーセー基礎研

*³ 東京大学大学院薬学研究科

D.Desai *¹, J.Krzeminsky*¹, J.-M.Lin *¹, A.Chada *², N.Miyata, H.Yagi*², D.M.Jerina*², S.Amin*¹: **Syntheses and identification of benzo[c]chrysenes metabolites**

Polycyclic Aromatic Compounds, 16, 255-264 (1999)

発ガン性ならびに変異原性を有することが知られているベンゾ[c]クリセン (B[c]C) は, 構造的にbay領域とfjord領域を有することからその代謝活性化機構が興味深い。今回, 予想代謝物を合成するとともに, それらを用いて代謝物の解析を行った。その結果, 代謝物の一つ1,2-ジヒドロ体がB[c]Cよりもより強い活性を示し活性代謝物であることが明らかになった。

Keywords: benzo[c]chrysenes, in vitro metabolism, mutagenicity, polycyclic hydrocarbon

*¹ American Health Foundation, USA

*² NIADDK, NIH, USA

Hachisuka, A., Nakajima, O., Yamazaki, T., Sawada, J.: **Localization of opioid-binding cell adhesion molecule (OBCAM) in adult rat brain**

Brain Res., 842, 482-486 (1999)

We investigated the tissue distribution and brain localization of opioid-binding cell adhesion molecule (OBCAM) in the adult rats by immunoblotting and immunohistochemistry using a monoclonal anti-OBCAM peptide antibody that is specific for OBCAM. OBCAM was preferentially expressed in the central nervous system (CNS) and at a very low level in the spleen. Within the brain, OBCAM was distributed in almost all the gray matter, but little or no immunoreactive OBCAM was found in the white matter. Morphologically, distribution pattern of OBCAM immunoreactivity was very similar to that of synaptophysin, suggesting a role in the synaptic machinery.

Keywords: OBCAM, rat brain, immunostaining

Saito, Y., Takagi, K., Teshima, R., Ikebuchi, H., Yamazaki, T., Sawada, J.: **Role of ecto-kinase in phorbol ester-enhanced growth hormone-binding protein release from human IM-9 cells**

Mol. Cell. Endocrinol. 152, 65-72 (1999)

The mechanisms of the phorbol ester-enhanced human growth hormone (hGH)-binding protein release were further investigated. hGH-BPs released by PDBu stimulation are derived from IM-9 cell surface hGH receptors and not generated within the cells. Protein kinase inhibitors with broad specificities, K-252a and K-252b, inhibited the PDBu-enhanced release with almost the same dose-dependency although only a trace amount of K-252b was incorporated into IM-9 cells than K-252a, suggesting that K-252b probably inhibits an ecto-kinase extracellularly. Taken together, these results suggest that, in addition to intracellular PKCa, activation of an undefined ecto-kinase may be also involved in the PDBu-enhanced hGH-BP release.

Keywords: IM-9, growth hormone-binding protein, ecto-kinase

Ihara, Y.*, Cohen-Doyle, M.F.*, Saito, Y., Williams, D.B.*: **Calnexin discriminates between protein conformational states and functions as a molecular chaperone *in vitro***

Mol. Cell, 4, 331-341 (1999)

Using purified components *in vitro*, calnexin effectively prevented the aggregation not only of glycoproteins bearing monoglucosylated oligosaccharides but also proteins lacking N-

glycans, an effect enhanced by ATP. It also suppressed the thermal denaturation of non-glycosylated proteins and enhanced their refolding in conjunction with other cellular components. Calnexin formed stable complexes with unfolded conformers of these proteins but not with the native molecules. Therefore, in addition to being a lectin, calnexin functions as a bona fide molecular chaperone capable of interacting with polypeptide segments of folding glycoproteins.

Keywords: calnexin, chaperone, folding

*University of Toronto

Saito, Y., Ihara, Y.*, Leach, M.L.*, Cohen-Doyle, M.F.*, Williams, D.B.*: **Calreticulin functions in vitro as a molecular chaperone for both glycosylated and unglycosylated proteins**

EMBO J., **23**, 6718-6729 (1999)

Calreticulin (CRT) is thought to be a molecular chaperone that interacts with glycoproteins exclusively through a lectin site specific for monoglucosylated oligosaccharides. We show that CRT suppresses the aggregation not only of a glycoprotein bearing monoglucosylated oligosaccharides but also that of non-glycosylated proteins. CRT also confers protection against thermal inactivation and maintains substrates in a folding-competent state. We conclude that in addition to being a lectin CRT possesses a polypeptide binding capacity capable of discriminating between protein conformational states and that it functions in vitro as a classical molecular chaperone.

Keywords: calreticulin, molecular chaperone

*University of Toronto

Takagi, K., Saito, Y., Nakajima, O., Sawada, J.: **Characterization of an antagonist monoclonal antibody, GHBP116, specific for human growth hormone receptors**

Biol. Pharm. Bull., **22**, 734-737 (1999)

To obtain an antagonist antibody against human growth hormone receptors (hGHRs), we prepared monoclonal antibodies against the recombinant hGHR extracellular domain. One of the clones, GHBP116, exhibited binding activity to intact human IM-9 cells and effectively immunoprecipitated the receptors in cell lysate. GHBP116 competitively inhibited 125I-human growth hormone (hGH) binding to the cells, ligand-induced receptor internalization, degradation, and phosphorylation of signal transducer and activator of transcription (STAT) 5 used as an indicator of JAK-STAT signaling. These results suggest that GHBP116 acts as a specific antagonist of hGH.

Keywords: growth hormone receptor, monoclonal antibody, immunoprecipitation

Suzuki, R.*¹, Furuno, T.*¹, McKay, D. M.*², Wolvers, D.*², Teshima, R., Nakanishi, M.*¹, and Bienenstock, J.*²: **Direct neurite-Mast cell communication in vitro occurs via the neuropeptide substance P.**

J. Immunol., **163**, 2410-2415 (1999)

We used an in vitro coculture approach comprising cultured murine superior cervical ganglia and rat leukemia basophilic cells (RBL-2H3 cells). Following loading with the calcium fluorophore, Fluo-3, neurite-RBL units were examined by confocal laser scanning microscopy. Addition of bradykinin, or scorpion venom, dose-dependently elicited neurite activation and, after a lag period, RBL Ca²⁺ mobilization. Addition of a neutralizing substance P Ab or a neurokinin (NK)-1 receptor antagonist dose-

dependently prevented the RBL activation that resulted as a consequence of neural activation by either bradykinin or scorpion venom.

Keywords: neurite, RBL-2H3 cells, substance P

*¹McMaster University

*²Nagoya City University

Teshima, R., Onose, J., Okunuki, H. and Sawada, J.: **Effect of Ca²⁺-ATPase inhibitors on MCP-1 production from BMMC and the involvement of p38 MAP kinase activation**

Int. Arch. Allergy Immunol., **121**, 34-43 (2000)

The effect of two Ca²⁺-ATPase inhibitors, cyclopiazonic acid (CPA) and 2,5-di-(tert-butyl)-1,4-hydroquinone (DTBHQ), on the release of MCP-1 from BMMCs (bone-marrow-derived mast cells) was investigated. CPA and DTBHQ increased the intracellular free Ca²⁺ concentration ([Ca²⁺]_i), and they induced MCP-1 release in a dose-dependent manner. These Ca²⁺-ATPase inhibitors induced MCP-1 release in the absence of phorbol ester, in contrast to their induction of TNF- α . MCP-1 release reached a maximum at 6-9 hr. It was inhibited by treatment with actinomycin D and the immunosuppressant cyclosporine A. MCP-1 release was also dose-dependently inhibited by the p38 MAP kinase inhibitor SB202190. Therefore, transcriptional activation and its release seems to be dependent on NF- κ B and p38 MAP kinase activation.

Keywords: Ca²⁺-ATPase inhibitors, MCP-1, BMMC

Teshima, R., Onose, J., Saito, Y., Ikebuchi, H., Kitani, S.* and Sawada, J.: **Casein-kinase-II-like ectokinase activity on RBL-2H3 cells**

Immunol. Lett., **68**, 369-374 (1999)

We studied the properties of the ectokinase activity on the outer cell-surfaces of RBL-2H3 cells and examined the phosphorylation of exogenous substrates to clarify the substrate specificity of the ectokinases on RBL-2H3 cells. Among the several protein substrates tested, casein was the most strongly phosphorylated with [γ -³²P]ATP, and casein kinase II peptide was also phosphorylated. Phosphorylation of casein and casein kinase II peptide was also observed by [γ -³²P]GTP. Western blot analysis using anti-casein kinase II antibody revealed a 44kDa casein kinase band in the membrane fraction and Fc ϵ RI complexes. This is the first report about the existence of ectokinase on mast cells.

Keywords: ectokinase, casein kinase, RBL-2H3 cells

*University of Tokyo

Miyazaki, C.*¹, Iba, N.*², Yamada, Y.*¹, Takahashi, H.*¹, Sawada, J. and Kurosawa, Y.*²: **Changes in the specificity of antibodies by site-specific mutagenesis followed by random mutagenesis.**

Protein Engng., **12**, 407-415, 1999

The specificity for 11-deoxycortisol (11-DOC) of a monoclonal antibody (mAb), designated SCET, was changed to specificity for cortisol (CS) by site-specific mutagenesis followed by random mutagenesis. The Fab form of SCET was expressed on the surface of a phage. During the first step, mutations were introduced at 14 amino acid positions in three complementarity-determining regions (CDRs) of the VH domain that seemed likely to form the steroid-binding pocket. A clone, DcC16, was isolated from the resultant library with multiple mutations and this clone was shown to have CS-binding activity but also to retain high 11-

DOC-binding activity. During the second step, mutations were introduced randomly into the entire VH-coding region of the DcC16 clone by an error-prone polymerase chain reaction, and CS-specific mutant antibodies were selected in the presence of 11-DOC as a competitor. Three representative clones were analyzed with the BIAcore instrument, and each revealed a large increase in the binding constant for CS and a decrease in that for 11-DOC. Structural models, constructed by computer simulation, indicated the probable molecular basis for these changes in specificity.

Keywords: monoclonal antibody, steroid, mutagenesis

¹ Toyota Central R&D Laboratories

² Fujita Health University

Nagaishi, K., Adachi, R., Matsui, S., Yamaguchi, T., Kasahara, T.*, Suzuki, K.: **Herbimycin A inhibits both dephosphorylation and translocation of cofilin induced by opsonized zymosan in macrophage-like U937 Cells**

J. Cell. Physiol., **180**, 345-354 (1999)

We have reported that a 21kDa phosphoprotein may play an important role in superoxide production by neutrophil-like differentiated HL-60 cells through dephosphorylation. The phosphoprotein was identified as cofilin, an actin-binding protein, and activation-induced changes in its intracellular distribution have been described. However, the physiological roles of cofilin in the phagocytes remain to be established and the regulatory mechanisms for dephosphorylation and translocation of cofilin are unknown. In this study we investigated the roles of cofilin in the opsonized zymosan (OZ)-activated macrophage-like U937 cells using herbimycin A, an inhibitor for protein tyrosin kinase. In the individual adherent phagocytes OZ induced various events: (1) production of superoxide, (2) phagocytosis of the insoluble particles OZ, (3) dephosphorylation of cofilin, (4) translocation of cofilin from cytosol to plasma membrane regions, (5) decrease in intracellular pH from 7.4 to about 6.8, and (6) rapid and transient increase in filamentous actin (F-actin) at the cell periphery. All of these events were inhibited or reduced significantly by herbimycin A. OZ increased phosphorylation of tyrosine of 110, 50, 34, and 29kDa proteins and herbimycin A inhibited it. These results suggest that a tyrosine kinase plays an essential role at upstream of these events through phosphorylation of such proteins. Furthermore, microinjection of anti-cofilin antibody to the differentiated U937 cells caused inhibition of the phagocytosis. These results suggest that cofilin plays critical roles in the phagocyte functions through changes in cytoskeletal organization.

Keywords: herbimycin A, cofilin, dephosphorylation

* 共立薬科大学

Azumi S., & K. Tanamoto. **Anti-endotoxin properties of cinnamon bark-derived compound and its effect on the endotoxin shock model.**

J. Endotoxin Res., **5**, 109-117 (1999)

シナモン由来のエンドトキシン活性抑制物質について、活性中心の化学的性状の解明と、抗LPS活性について検討を行った。化学分析の結果から活性中心は脂質部分にあることがわかった。LPS分子と混合することによって抑制物質はLPSの種々の細胞からのTNF- α 及びNO産生誘導、さらにはリムルス活性を抑制した。また、致死毒性及び発熱作用はそれぞれ1/1000及び1/100に減少した。一方致死量

及び発熱量のLPSをマウスもしくはウサギに抑制物質と共に投与することにより大部分のマウスは生存し、また発熱活性は有意に抑制された。以上の結果、この物質は細菌内毒素の有望な抑制物質であることが示された。

Keywords: cinnamon, endotoxin, anti-endotoxin substance

Tanamoto K & Azumi S. **Salmonella-type heptaacylated lipid A is inactive and acts as an antagonist of LPS action on human line cells.**

J. Immunol., **164**, 3149-3156 (2000)

3種の異なるサルモネラ由来リピドA及びサルモネラ型化学合成リピドA 516は、強いリムルス活性、マウス腹腔マクロファージ、及びJ774細胞からのTNF- α 産生誘導活性を示した。しかしながら*E. coli* LPS及び大腸菌型化学合成リピドA 506がヒト細胞にも同様に強いTNF- α 産生活性を示したのに対して、サルモネラ由来リピドAはほとんど活性を示さず、516は10 mg/mlの高濃度においてもまったくTNF- α 産生誘導を起こさなかった。同様の結果はNF- κ Bの活性化においても見られた。さらにヒト細胞に対して不活性な516は、506の作用にアンタゴニストとして作用した。一方、サルモネラLPSはリピドAと異なり、ヒト細胞に対しても*E. coli* LPSと同様の強い活性を示した。以上の結果からサルモネラ型リピドAは種特異性を示すこと、ヒト細胞は大腸菌型とサルモネラリピドAの一本の脂肪酸の構造差を認識していること、LPSの多糖部分がヒト細胞の活性化に関与していることが明らかになった。

Keywords: Salmonella lipid A, species specificity, endotoxin antagonist

Michiko Miyahara, Hirotaka Konuma: **Escherichia coli O157 Strains Which Caused Japanese Outbreaks Have Residues of Bacteriophage Sequences**

Bull. Pharm. Bull., **22**, 11372-1375 (1999)

Twelve strains of *Escherichia coli* O157 which caused outbreaks in Japan were used as DNA sources. The sequences of the gene encoding the Shiga toxin 2 in all 12 strains were almost identical and the sequences downstream of this gene were similar to that of bacteriophage 933W.

Keywords: *Escherichia coli* O157; bacteriophage 933W; Shiga toxin 2

小高秀正, 水落慎吾, 小沼博隆: ふき取り検査におけるおけるふき取る強さによる菌数の挙動に関する検討

日食微誌, **16**, 131-133 (1999)

環境や食品検体の表面を検査する方法としてふき取り法が一般的に用いられている。しかしながら、ふき取り法による表面の微生物のサンプリング方法にはふき取る力について記載されたものはない。そこで、ふき取る力を変えて、微生物の回収性を調べたところ、ふき取る圧力が弱いと菌数がばらつくこと突き止めた。この結果を踏まえて、ふき取る力が圧力表示でわかるトルクピンセットを考案し、ふき取る力を150g/cm²と300g/cm²で比較したところ、300g/cm²でふき取った方がバラツキが少なく、拭き取り法の信頼性を高めることができた。

Keywords: swab method, environmental monitoring, torque forceps

* 日水製薬株式会社

Hara-Kudo, Y.*¹, Konuma, H., Nakagawa, H.*², and Kumagai, S.*¹: **Escherichia coli O26 detection from foods using an enrichment procedure and an immunomagnetic separation**

method

Letters Applied Microbiol., **30**, 151-154 (2000)

We found effective enrichment procedures for detecting *Escherichia coli* O26 in foods using methods that are used for *E. coli* O157. Ground beef or radish sprouts inoculated with 6 colony forming units of *E. coli* O26 were homogenized in 225ml of various broths. After static incubation at 37 °C or 42 °C for 6h or 18h, we isolated the inoculated bacterium by plating onto Rainbow Agar O157 with novobiocin. In combination with the immunomagnetic separation method, *E. coli* O26 was isolated from all samples by using enrichment in tryptone soy broth at 37 °C for 6h and in modified *E. coli* broth with novobiocin (mEC+n) at 42 °C for 18h ground beef and radish sprouts, respectively. Enrichment *E. coli* O157 from both ground beef and radish sprouts.

Keywords: *Escherichia coli* O26, *Escherichia coli* O157:H7, ground beef

*1 国立感染症研究所

*2 財団法人東京顕微鏡院

Sakai, A., Yamakoshi, Y. and Miyata, N.: **Visible light irradiation of [60]fullerene causes killing and initiation of transformation in BALB/3T3 cells**

Fullerene Sci. Technol., **7**, 743-756 (1999)

Cell transformation in vitro is a model of carcinogenesis in vivo. Two-stage transformation assay increases the sensitivity of cells to chemicals and permits detection of carcinogens acting as initiating agents. [60]Fullerene (C₆₀) was cytotoxic in BALB/3T3 cells when it was irradiated by visible light, but not without light irradiation. Under conditions when C₆₀ was cytotoxic, it acted as an initiating agent for cell transformation, but it did not act as a complete transforming agent. The initiating activity of visible-light-irradiated C₆₀ was statistically significant in a modified two-stage transformation assay including a procedure for replating cells treated by C₆₀ and light, but it was equivocal in the standard two-stage transformation assay.

Keywords: fullerene, visible light irradiation, cell transformation

Suganuma, M.*¹, Okabe, S.*¹, Marino, M.W.*², Sakai, A., Sueoka, E.*¹ and Fujiki, H.*¹: **Essential role of tumor necrosis factor α (TNF- α) in tumor promotion as revealed by TNF- α -deficient mice**

Cancer Res., **59**, 4516-4518 (1999)

To examine the hypothesis that tumor necrosis factor (TNF) α is an essential cytokine in carcinogenesis, we conducted two-stage carcinogenesis experiments with an initiator, 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA), plus either of two tumor promoters, okadaic acid and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA), on the skin of TNF- α -deficient (TNF^{-/-}) mice. TNF^{-/-} mice treated with DMBA plus okadaic acid developed no tumors for up to 19 weeks, and at 20 weeks, the percentage of tumor-bearing TNF^{-/-} mice was 10 %, whereas the percentage of tumor-bearing TNF^{+/+} mice was 100 %. In TNF^{-/-} mice treated with DMBA plus TPA, tumor onset was delayed 4 weeks, and the time to development of small tumors in 100 % of mice was 9 weeks later than that seen in TNF^{+/+} CD-1 mice. The average number of tumors in TPA-treated TNF^{-/-} mice was 2.8, compared with 11.8 for TNF^{+/+} CD-1 mice. To understand the residual tumor-promoting activity in TNF^{-/-} mice, we also investigated the possible significance of interleukin (IL) 1 as an additional cytokine in tumor promotion. A single application of TPA and

okadaic acid increased IL-1 α and IL-1 β gene expression in TNF^{-/-} mice. All of our results demonstrate that TNF- α is the key cytokine for tumor promotion in mouse skin and, very possibly, for carcinogenesis in humans as well.

Keywords: tumor promotion, tumor necrosis factor α , interleukin 1

*¹ Saitama Cancer Center Research Institute

*² Ludwig Institute for Cancer Research

Tschiya, T.*¹, Umeda, M.*², Nishiyama, H.*³, Yoshimura, I.*³, Hayashi, M., Sakai, A., et al.: **An interlaboratory validation study of the improved transformation assay employing Balb/c 3T3 cells: Results of a collaborative study on the two-stage cell transformation assay by the non-genotoxic carcinogen study group**

ATLA, **27**, 685-702 (1999)

The Non-genotoxic Carcinogen Study Group of the Environmental Mutagen Society of Japan organized the first step of an interlaboratory validation study on an improved cell transformation assay employing Balb/c 3T3 A31-1-1 cells. Nineteen laboratories participated in this study. The modified transformation assay was evaluated for its responsiveness, its interlaboratory reproducibility and its transferability. In this study, a mixture of Dulbecco's modified Eagle's medium and nutrient mixture F12, supplemented with insulin-transferrin-ethanolamine-sodium selenite and 2 % fetal bovine serum (FBS) was used during the period of expression of transformed foci, instead of the usual minimum essential medium with 10% FBS. 20-Methylcholanthrene (MCA) and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) were selected as a prototype initiator and a tumor promoter, respectively. Two series of experiments were conducted. In the first series, the transformation activity of MCA was examined at various concentrations. In the absence of the promoting treatment with TPA, exposure to MCA only weakly induced transformed foci. In the presence of 0.1 μ g/ml TPA, all laboratories observed significant dose-dependent increases in the number of transformed foci with increasing MCA concentrations. In the second series of experiments, various concentrations of TPA were tested. In the absence of initiating treatment with MCA, exposure to TPA weakly induced transformed foci in about half of the laboratories. In the presence of 0.2 μ g/ml MCA, all the laboratories observed significant dose-dependent increases in the number of transformed foci with increasing TPA concentrations. The results from this study support the usefulness of this modified two-stage transformation assay with Balb/c 3T3 cells.

Keyword: cell transformation, Balb/c 3T3 cells, interlaboratory validation study

*¹ Safety Evaluation Center, Central Research Laboratory, Showa Denko K.K.

*² Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center

*³ Faculty of Engineering, Science University of Tokyo

相原真紀*, 田中辰明*, 高鳥浩介: 住環境にみる付着真菌の月別変動

防菌防黴, **28** (1), 3-8(2000)

同一住環境106ヶ所における付着真菌の月別変動を1996年7月~1997年12月にわたり調査した。住居内の温・湿度は、夏期に高温多湿傾向にあり、特に相対湿度は平均して70%以上になり、また冬期は50%以下であった。同一住居内付着真菌を月別にみたところ、総真菌数は秋から初冬にかけてピークを示した。同一住居内で特に特徴ある変

動を示した付着真菌は *Cladosporium*, *Penicillium*, *Eurotium*, 酵母であった。*Cladosporium* は、春から夏にかけてはほとんど検出されず、秋以降急激に検出数の多くなる傾向がみられた。

Keywords: indoor environment, relative humidity, fungi

*お茶の水女子大学

太田利子^{*1}, Jong-Chul PARK^{*2}, Hawl SUH^{*2}, 村松芳多子^{*3}, 高鳥浩介: 真菌試験における培養温度の影響
防菌防黴, 27, 309-313(1999)

真菌発育に影響をおよぼす培養温度の検討をした。培養温度20, 25, 28, 30, 32, 34, 36℃でCFU, 集落形成性, 孢子形成性を10真菌で検討した結果, いずれの真菌においても良好な温度域は, 20, 25, 28℃域であり, 特に25, 28℃は至適培養温度であった。培養温度が30℃より高くなるにつれCFU, 集落形成性, 孢子形成性とも低下する傾向が認められた。したがって真菌の培養温度は30℃以上は必ずしも適条件とはいえず, 30℃以下の培養温度とすることが望ましいものと結論された。

Keywords: incubation temperature, fungi, optimal growth temperature

^{*1}相模女子大学, ^{*2}延世大学, ^{*3}千葉県立衛生短期大学

村松芳多子^{*1}, 高鳥浩介, 大田利子^{*2}, Jong-Chul PARK^{*3}, Hawl SUH^{*3}, 秋山 茂^{*4}: 薬剤配合による抗真菌活性評価および形態変化
防菌防黴, 27, 287-293(1999)

衛生上常用される薬剤4種 (BC, TBZ, GC, SLS) を用いて薬剤配合による抗真菌活性を5種真菌を用いチェッカーボード方式で測定した。薬剤の2種等量配合によりカチオン系薬剤のBC, GCはアニオン系薬剤のSLSと強く拮抗し, 同濃度の配合では高濃度域まで失活した。TBZはとくにBCとの併用により黒色系真菌に対し, 有効な作用を認めた。薬剤配合によるそれぞれの真菌の形態変化をみたところ, 菌糸の不均一化, 膨化, 厚膜孢子産生が確認され, 明らかに薬剤抵抗性を示した。

Keywords: antifungal activities, checker board test, morphological changes

^{*1}千葉県立衛生短期大学, ^{*2}相模女子大学, ^{*3}延世大学, ^{*4}北里大学

村松芳多子^{*1}, 大田利子^{*2}, 李 憲俊^{*3}, Jong-Chul PARK^{*4}, Hawl SUH^{*4}, 鈴木明子, 成田紀子, 高鳥浩介: 真菌用培地による生菌数の測定と培地評価
防菌防黴, 27, 707-711(1999)

各種真菌用培地 (PDA, SDA, M40YA, DG-18A, CZA) によるCFU測定結果を検討した。単一真菌でのCFUをみる限り, 多くの真菌は各培地でほぼ一致する傾向にあった。しかし, 培地性状 (孢子産生性, 集落性状) を併せて観察すると真菌の種類により, 培地適性が認められた。単一真菌による培地特性は, PDAとM40YAにおいて孢子産生が高く, SDA, DG-18AとCZAにおいて菌糸形成が高く, また小集落も多かった。試料中の真菌培養による培地特性はPDA, SDAで広範な真菌を培養することが可能であった。一方, CZA, M40YAとDG-18Aは特定な真菌の培養に適していることが認められた。

Keywords: fungal media, CFU, mycological value

^{*1}千葉県立衛生短期大学, ^{*2}相模女子大学, ^{*3}衛生微生物研究センター, ^{*4}延世大学

小菅旬子^{*1}, 高鳥浩介, 安齊 了^{*2}: ウマ喉嚢炎病原

来 *Emericella nidulans* の生物学的性状

真菌誌, 40, 169-173(1999)

ウマ喉嚢炎病原由来 *Emericella nidulans* 分離株7株は, いずれも一般的な5種類の培地において同程度の発育速度であり, 形態にも顕著な差がないこと, 幅広い温度やpH条件下で発育可能であったが, 至適発育温度はウマの平均体温である38℃付近に, 至適発育pHは酸性側にあること, およびそのような発育に適した条件下では無性胞子を多量に産生することが明らかとなった。また, 全ての菌株が蛋白分解能や溶血能を有していることが明らかになった。以上の結果から *E. nidulans* は幅広い環境下で発育可能であり, ウマ生体に対する病原性を持つことも示唆された。

Keywords: *Emericella nidulans*, guttural pouch mycosis, biological characteristic

^{*1}宮崎大学, ^{*2}日本中央競馬会競走馬総合研究所

Park, J-C*, Han, D-W*, Hwang, Y-S*, Lee, H. J**, Takatori, K. and Suh, H*: Determination of a favorable medium for detection of fungal extracellular protease
Biocontrol Sci., 4, 91-95(1999)

To determine a favorable medium for detecting fungal extracellular protease (EP), a plate method was examined. In this study, 12 fungal strains were tested with 4 different types of Czapek Dox agar medium containing skim milk, and the clear zones around the colonies were compared on the different types of medium. Among them, 9 strains produced EP. Triton X-100 was required to detect an EP from *Alternaria alternata*, while in case of *penicillium frequentans*, saccharose was required. It was found that the media supplemented with both tritonX-100 and saccharose gave acceptable results in terms of EP detection.

Keywords: extracellular protease, plate method, tritonX-100

*Yonsei University, Korea

**Hyg. and Microbiol. Test and Res. Cent., Japan

Nakata, K., Takai, T. and Kaminuma, T: Development of A Receptor Database: Application to the Endocrine Disruptor Problem.

Bioinformatics, 15, 544-552 (1999)

受容体について構造や機能を含む種々の情報を階層的に表示するデータベースシステムを構築し, インターネット上で検索可能にした。既存のデータベース中の情報に加えてシステム内でデータを編集し高次の解析システムにかけた結果を表示できる。このシステムにより内分泌攪乱物質関連情報を解析することを試みた。

Keywords: receptor, database, endocrine disruptor, molecular structure

関沢純, 大屋幸江: 植物エストロゲン物質の日本人の健康への定量的リスク・ベネフィット解析

日本リスク研究会誌, 11(1), 75-82 (1999)

内分泌攪乱化学物質として多くの物質がとりざたされてきたが, 実際に日本人が曝露されるレベルでどのようなリスクまたはベネフィットがあるかを定量的に評価した報告はほとんど見られない。筆者は日本人がほぼ毎日摂取しておりさまざまな証拠から実際に日本人の健康に影響を及ぼしている可能性が考えられる大豆中のエストロゲン物質の摂取量, 体内レベルを評価し, 主として人で得られている知見と作用メカニズムの知見を総合して, 健康へのリスクとベネフィットを現時点で入手可能な情報に基づき推定した。

Keywords: phytoestrogen, quantitative risk-benefit analysis, soybean, isoflavonoid

Saga, Y., Kobayashi, M.^{*1}, Ohta, H.^{*1}, Murai, N.^{*1}, Nakai, N.^{*1}, Oshima, M.^{*1} and Taketo, M. M.^{*2}: **Impaired extrapyramidal function caused by the targeted disruption of retinoid X receptor RXRgamma1 isoform.**

Genes Cells, 4, 219-228 (1999)

Retinoid X receptors RXRalpha, beta and gamma exert multiple functions in the genetic regulation of mammalian signalling systems. In contrast to the widespread expression of RXRalpha and RXRbeta, the expression of RXRgamma is restricted to particular tissues in which RXRgamma1 is the major isoform expressed in the mouse corpus striatum. To investigate the function of this particular isoform RXRgamma1, we generated RXRgamma1 gene-knockout mice. Independent of genetic background, the expression of choline acetyltransferase (ChAT) in the cholinergic interneurons in the striatum (caudal putamen) was markedly reduced in the RXRgamma1 gene-null mice. Furthermore, the mutant exhibited an altered response to the administration of dopamine receptor antagonists, haloperidol and chlorpromazine, which normally induce catalepsy in mice. These results strongly suggest that RXRgamma1 plays an important role in either the development or activation of cholinergic neurons in nigrostriatal extrapyramidal pathways.

Keywords: Retinoid X receptors, catalepsy, nigrostriatal extrapyramidal pathway

^{*1} 万有製薬

^{*2} 東京大学薬学部

Kiernan, B.W.^{*1}, Garcion, E.^{*1}, Ferguson, J.^{*1}, Frost, E. E.^{*1}, Torres, E.M.^{*1}, Dunnett, S.B.^{*1}, Saga, Y., Aizawa, S.^{*2}, Faissner, A.^{*1}, Kaur, R.^{*1}, Franklin, R.J.^{*1} and French-Constant, C.^{*1}: **Myelination and behaviour of tenascin-C null transgenic mice**

Eur J Neurosci., 11, 3082-3092 (1999)

The extracellular matrix glycoprotein tenascin-C is widely expressed during development and repair, making it surprising that few abnormalities have been found in transgenic mice lacking this molecule. We have therefore re-examined the transgenic mice described by Saga et al. We find no abnormalities of myelination or oligodendrocyte precursor distribution in adult mice, showing that local concentrations of tenascin-C are not the sole mechanism responsible for the pattern of myelination in these regions of CNS. However, we do find a number of behavioural abnormalities in these mice and show that hyperlocomotion and deficits in coordination during beam walking can be ascribed to tenascin-C deficiency. The effects on coordination are, however, not seen on a 129 genetic background. Taken together, these results significantly extend the phenotype associated with tenascin-C deficiency but argue against a role in myelination.

Keywords: tenascin-C, hyperlocomotion, myelination

^{*1} Wellcome/CRC Institute of Developmental Biology and Cancer.

^{*2} 熊本大医学部

Saga, Y., Miyagawa-Tomita, S.^{*1}, Takagi, A., Kitajima, S., Miyazaki, J.^{*2} and Inoue T.: **MesP1 is expressed in the heart precursor cells and required for the formation of a single**

heart tube.

Development, 126, 3437-3447 (1999)

The Mesp1 gene encodes the basic HLH protein MesP1 which is expressed in the mesodermal cell lineage during early gastrulation. Disruption of the Mesp1 gene leads to aberrant heart morphogenesis, resulting in cardia bifida. In order to study the defects in Mesp1-expressing cells during gastrulation and in the specification of mesodermal cell lineages, we introduced a (beta)-galactosidase gene (lacZ) under the control of the Mesp1 promoter. Mesp1-expressing cells in the homozygous deficient embryos stayed in the primitive streak for a longer period of time before departure. In addition, using the Cre-loxP site-specific recombination system, we could determine the lineage of the Mesp1-expressing cells. These results strongly suggest that MesP1 is expressed in the heart tube precursor cells and is required for mesodermal cells to depart from the primitive streak and to generate a single heart tube.

Keywords: Mesp1, Cre-loxP site-specific recombination, heart morphogenesis

^{*1} 東京女子医大・心研小児

^{*2} 大阪大学医学部

Kanatani, A.^{*1}, Mashiko, S.^{*1}, Murai, N.^{*1}, Sugimoto, N.^{*1}, Ito, J.^{*1}, Fukuroda, T.^{*1}, Fukami, T.^{*1}, Morin, N.^{*2}, MacNeil, D.J.^{*2}, Van der Ploeg L.H.^{*2}, Saga, Y., Nishimura, S.^{*1} and Ihara, M.^{*1}: **Role of the Y1 receptor in the regulation of neuropeptide Y-mediated feeding: comparison of wild-type, Y1 receptor-deficient, and Y5 receptor-deficient mice**

Endocrinology, 41, 1011-1016 (2000)

Neuropeptide Y (NPY) increases food intake through the action of hypothalamic NPY receptors. Although the involvement of Y1 and Y5 receptors in feeding regulation has been suggested, the relative importance of each of these NPY receptors and the participation of a novel feeding receptor are still unclear. To address this issue, we generated a Y1 receptor-deficient (Y1^{-/-}) and a Y5 receptor-deficient (Y5^{-/-}) mouse line. The icv NPY-induced food intake was remarkably reduced in Y1^{-/-} mice, but was not significantly altered by inactivation of the Y5 receptor. Stimulation of feeding by moderately selective Y5 agonists [PYY-(3-36), human PP, and bovine PP] was reduced in Y5^{-/-} mice, although food intake did not decrease to vehicle control levels. These results indicate that the Y5 receptor functions as one of the feeding receptors.

Keywords: NPY, feeding regulation, feeding receptor

^{*1} 万有製薬

^{*2} Merck Research Laboratories

Sawada, A.^{*1}, Fritz, A.^{*2}, Jiang, Y.-J.^{*3}, Yamamoto, A.^{*4}, Yamasu, K.^{*5}, Kuroiwa, A.^{*1}, Saga, Y. and Takeda, H.^{*6}: **Zebrafish Mesp family genes, mesp-a and mesp-b are segmentally expressed in the presomitic mesoderm, and Mesp-b confers the anterior identity to the developing somites.**

Development, 127, 1691-1702 (2000)

In this study, we have characterized zebrafish mesp-a and mesp-b genes that are closely related to Mesp family genes in other vertebrates. In fused somites (fss) embryos, initial mesp-a expression remains intact, but is not detected during the segmentation period. This suggests that these genes are downstream targets of fss at the segmentation stage. Furthermore, we found that zebrafish her1 expression oscillates in the presomitic mesoderm. The her1 stripe, which first appears in the tailbud region, moves in a caudal to rostral direction, and it finally overlaps the most

rostral mesp stripe. Ectopic expression of Mesp-b in embryos causes a loss of the posterior identity within the somite primordium, leading to a segmentation defect. These observations suggest that zebrafish mesp genes are involved in anteroposterior specification within the presumptive somites.

Keywords: mesp-a, mesp-b, her1

¹名古屋大学理学部

²Emory Univ

³Imperial Cancer Research Fund

⁴熊本大学医学部

⁵埼玉大学理学部

⁶国立遺伝研・初期発生

Saitoh, M., Umemura, T., Kawasaki, Y., Momma, J., Matsushima, Y., Sakemi, K., Isama, K., Kitajima, S., Ogawa, Y., Hasegawa, R., Suzuki, T., Hayashi, M., Inoue, T., Ohno, Y., Sofuni, T., Kurokawa, Y. and Tsuda, M.: **Toxicity study of a rubber antioxidant, mixture of 2-mercapto-methylbenzimidazoles, by repeated oral administration to rats**

Fd. Chem. Toxicol., **37**, 777-787 (1999)

In this investigation, acute and subacute oral toxicity studies of 2-mercaptomethyl-benzimidazoles (MMBIs) employed industrially as rubber antioxidants in Wistar rats were conducted. The LD50 was estimated to be 330 mg/kg. In the subacute oral toxicity study, male rats administered 100 mg/kg MMBIs exhibited a 1.8-fold increase in thyroid weight associated with histopathological changes but not altered serum thyroid hormone levels. Female rats administered 100 mg/kg MMBIs exhibited significant increases of liver and kidney but not thyroid weights, and serum cholesterol level. No-observed-effect levels for male and female rats were found to be 4 and 20 mg/kg, respectively, in this subacute oral toxicity study.

Keywords: 2-mercaptomethylbenzimidazoles, antithyroid toxicity, repeated oral administration

Umemura, T., Kai, S.¹, Hasegawa, R., Sai, K., Kurokawa, Y. and Williams, G.M.²: **Pentachlorophenol (PCP) produces liver oxidative stress and promotes but does not initiate hepatocarcinogenesis in B6C3F1 mice**

Carcinogenesis, **20**, 1115-1120 (1999)

To elucidate the mechanism of hepato-carcinogenesis of pentachlorophenol (PCP) in mice, critical effects related to carcinogenicity were studied in the livers of B6C3F1 male mice administered PCP at concentrations of 600 and 1200 ppm in the diet for 8 weeks. 8-oxodeoxy-guanosine (8-oxodG) in the liver nuclear DNA and hepatocyte cell proliferation were examined. Also, initiation and promotion were assessed in a 2-stage hepatocarcinogenesis model. Significant elevations of 8-oxodG levels and cell proliferation were observed in a dose-dependent manner. PCP promotes, but does not initiate hepato-carcinogenesis. These findings are interpreted to demonstrate that the promoting action is related to oxidative stress and compensatory hepatocellular proliferation.

Keywords: pentachlorophenol, 8-oxodeoxyguanosine, hepatocarcinogenesis

¹昭和女子大学

²New York Medical College

Umemura, T., Kodama, Y., Hioki, K*, Inoue, T., Nomura, T.* and Kurokawa, Y.: **Susceptibility to urethane carcinogenesis of transgenic mice carrying a human prototype c-Ha-ras**

gene (rasH2 mice) and its modification by butylhydroxy-toluene

Cancer Lett., **145**, 101-106 (1999)

The susceptibility of rasH2 mice to urethane lung carcinogenesis and the modifying effects of BHT on development of pulmonary lesions were examined. Single i.p. injections of urethane at 250 mg/kg in males or 500 mg/kg in females induced alveolar/bronchiolar adenomas within 6 weeks. At 4 weeks after the injection with a dose of 1000 mg/kg, adenomas occurred in both sexes. BHT administration increased the multiplicity of hyperplasias observed 3 weeks after the urethane injection and additionally caused adenomas which did not occur in the urethane alone-treated animals. The overall data suggest the possibility of rapid assays for lung carcinogens using rasH2 mice.

Keywords: rasH2 mice, in vivo rapid assay, lung carcinogenesis

* 実験動物中央研究所

Umemura, T., Kodama, Y., Kurokawa, Y. and Williams, G.M.*: **Lack of oxidative DNA damage or initiation of carcinogenesis in the kidneys of male F344 rats given subchronic exposure to p-dichlorobenzene (pDCB) at a carcinogenic dose**

Arch. Toxicol., **73**, 54-59 (2000)

To examine possible mechanisms of kidney carcinogenesis, pDCB was studied for its ability to produce 8-oxodeoxyguanosine (8-oxodG) in kidney nuclear DNA and for initiating activity in a two-stage renal carcinogenesis model. As a result, pDCB did not produce oxidative DNA damage in the rat kidney or effect initiation of kidney carcinogenesis. These data suggest that oxidative stress is not involved in pDCB-induced renal carcinogenesis and the α 2u-globulin-mediated chronic nephropathy probably acts as a promoter, not an initiation of renal carcinogenesis. Accordingly, pDCB is judged to have no cancer hazard to humans who are not susceptible to the α 2u-globulin nephropathy.

Keywords: p-dichlorobenzene, 8-oxodeoxyguanosine, renal carcinogenesis

* New York Medical College

Iwata, T.*, Kamikawa, J.*, Higuchi, T.*, Yagi, K.*, Matsuzaki, T.*, Kanno, J. and Maekawa, A.*: **Development of Invasive Adenocarcinoma in a Long-Standing Diverted Ileal J-Pouch for Ulcerative Colitis**

Dis Colon Rectum., **43**, p101-104 (2000)

潰瘍性大腸炎患者に対して全結腸切除後に行われた回腸Jポーチ造設部位に、小腸由来であるにも関わらず、潰瘍性大腸炎様の炎症変化、異型上皮巣を伴う浸潤性高分化腺癌の発生を認めた。

Keywords: ulcerative colitis, total colectomy, J-pouch adenocarcinoma

* (財)佐々木研究所付属杏雲堂病院

樋口哲朗*, 岩間毅夫*, 家城和男*, 金 仁燮*, 松崎淳*, 菅野 純: 長期の経過観察中に回腸癌が発生した家族性を示す若年性ポリポシスの一例
胃と腸, **35**, 451-455 (2000)

回腸癌を先進部とする腸重積患者の遺伝子解析を含む症例報告

Keywords: Juvenile polyposis, ileal adenocarcinoma, invagination

* (財)佐々木研究所付属杏雲堂病院

Fujiwara, M.*¹, Okayasu, I.*², Orita, M.*¹, Komatsu, J.*¹, Yoshitsugu, M.*¹, Kato, Y.*¹, Bandoh, T.*¹, Toyoshima, H.*¹, Kase, Y.*³, Sugihara, K.*⁴, Kanno, J. and Hayashi, Y.*⁵: **Significant Increase in Prostaglandin E-Main Urinary Metabolite by Laxative Administration: Comparison with Ulcerative Colitis.**

Digestion, 61, 201-206 (2000)

潰瘍性大腸炎の病勢とプロスタグランディンE2の増減が対応することを受け、下剤誘発性のプロスタグランディンE2の増加を健常人ボランティアにより検討した。

Keywords: laxatives, prostaglandin E, ulcerative colitis

*¹ 日本赤十字医療センター

*² 北里大学医学部

*³ 津村株式会社

*⁴ 九段坂病院

*⁵ 北里大学薬学部

Shiraga, T.*¹, Hata, T.*¹, Yamazoe, Y.*², and Ohno, Y., Iwasaki, K.*¹: **N-Sulphoconjugation of amines by human cytosolic hydroxysteroid sulphotransferase**

Xenobiotica, 29, 341-347 (1999)

ヒト肝可溶性分画は脂環式アミン及び芳香族アミンのN-硫酸抱合及びhydroxysteroid及びphenolのO-硫酸抱合活性を有すること及び脂環式アミン硫酸抱合活性はhydroxysteroid O-硫酸抱合活性と良く対応するが、phenol O-硫酸抱合活性とは対応しないことを示した。また、ヒト肝臓から脂環式アミン硫酸転移酵素を精製し、その性質を明らかにした。この酵素は34KDaで、可溶性分画中の存在量は脂環式アミン硫酸抱合活性及びhydroxysteroid O-硫酸抱合活性と良く対応していた。

Keywords: sulfation, human liver, amine sulfotransferase

*¹ 藤沢薬品工業

*² 東北大学薬学部

Saitoh, M., Umemura, T., Inoue, T., Ohno, Y., Sofuni, T., Kurokawa, Y., Tsuda, M.: **Toxicity study of a rubber antioxidant, mixture of 2-mercaptomethylbenzimidazoles, by repeated oral administration to rats**

Food and Chemical Toxicology, 37, 777-787 (1999)

ゴムの抗酸化剤のメルカプトメチルベンズイミダゾールの経口投与による一般毒性をラットで検討した。その結果100mg/kg, 4週間投与により体重減少, 肝・腎重量の増加が認められるが、メルカプトベンズイミダゾールとは異なり、甲状腺重量の変化は認められないことを示した。

Keywords: antioxidant, mercaptomethylbenzimidazole, general toxicity

Shiraga, T.*, Niwa, T.*, Teramura, Y.*, Kagayama, A.*, Tsutsui, M.*, Ohno, Y., Iwasaki, K.*: **Oxidative metabolism of tacrolimus and its metabolite by human cytochrome P450 3A subfamily**

Xenobio. Metabol. And Disp. 14, 277-285 (1999)

タクロリムスのヒト肝ミクロゾームでの代謝による主代謝物としてM-1及びM-VII, 13,15-O-脱メチル化体を得た。また、ヒト発現系P450によるM-1及びM-VIIの生成はCYP3A群によってのみ触媒されることを明らかにした。

Keywords: tacrolimus, human liver, metabolism, CYP3A

* 藤沢薬品工業

Koizumi, S., Bootman, M.D.*, Berridge, M.J.*, Lipp, P.*:

Regulation of ryanodine receptor opening by luminal Ca²⁺ underlies quantal Ca²⁺ release in PC12 cells

J. Biol. Chem., 274, 33327-33333 (1999)

Mechanisms underlying graded or 'quantal' Ca²⁺ release from ryanodine receptors (RyRs) were investigated in PC12 cells. Quantal Ca²⁺ release was observed in cells stimulated with 1 to 40 mM caffeine. The Ca²⁺ load of the caffeine-sensitive stores was modulated by allowing them to refill for varying times after complete discharge with maximal caffeine. The threshold for RyR activation was sensitised ~10-fold as the Ca²⁺ load increased from a minimal to a maximal loading. In addition, the fraction of Ca²⁺ released by low caffeine concentrations increased. Our data suggest that RyRs are sensitive to luminal Ca²⁺ over the full range of Ca²⁺ loads that can be achieved in an intact PC12 cell, and that changes in RyR sensitivity may be responsible for the termination of Ca²⁺ release underlying the quantal effect.

Keywords: Graded Ca²⁺ release, Ryanodine receptors

* Babraham Institute

Tsuda, M., Ueno, S.* and Inoue, K.: **In vivo pathway of thermal hyperalgesia by intrathecal administration of a,b-methylene ATP in mouse spinal cord: Involvement of glutamate-NMDA receptor system**

Br.J.Pharmacol., 127, 449-456 (1999)

We investigated the mechanisms of the P2X receptors agonist α,β -methylene ATP (α,β meATP)-induced modulation of acute nociception in mouse spinal cord. Intrathecal administration of α,β meATP produced a significant and dose-dependent thermal hyperalgesic response. This response was completely blocked by a non-selective P2 receptor and a selective P2X1, P2X3 and P2X2+3 receptors antagonist. P2X1 receptor was not involved in spinal nociceptive pathway. The thermal hyperalgesia by α,β meATP was inhibited by the intrathecal pretreatment with botulinum neurotoxin B and N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonists. These findings suggest that the α,β meATP-induced thermal hyperalgesia may be mediated by spinal P2X3 receptor to evoke spinal glutamate release.

Keywords: α,β meATP, P2X3 receptor subtype, thermal hyperalgesia

* Fukuoka University School of Medicine

Tsuda, M., Ueno, S.* and Inoue, K.: **Evidence for the involvement of spinal endogenous ATP and P2X receptors in the nociceptive responses caused by formalin and capsaicin in mice**

Br.J.Pharmacol., 128, 1497-1504 (1999)

We examined the effects of intrathecal treatment with P2X receptor antagonists on the formalin- and capsaicin-induced nociceptive behaviors in mice. Intrathecal pretreatment with general P2 receptors antagonist pyridoxal-phosphate-6-azophenyl-2',4'-disulphonic acid (PPADS) significantly suppressed the formalin-induced nociceptive behavior. Pretreatment with selective antagonist for the P2X1, P2X3 and P2X2+3 2',3'-O-(2,4,6-trinitrophenyl)adenosine 5'-triphosphate (TNP-ATP) significantly reduced the first phase, but not second phase. Capsaicin-induced nociceptive behavior was also significantly suppressed by intrathecal pretreatment with PPADS or TNP-ATP. These findings suggest that spinal endogenous ATP may play a role in the generation of formalin- and capsaicin-induced neurogenic pain through the PPADS-sensitive receptors.

Keywords: α, β meATP, P2X3 receptor, neurogenic pain

* Fukuoka University School of Medicine

Rhee, J. S.*, Wang, Z. M.*, Nabekura, J.*, Inoue, K. and Akaike, N.*: **ATP facilitates spontaneous glycinergic IPSC frequency at dissociated dorsal horn interneurone synapses** *J. Physiol. (Lond.)*, **524**, 471-483 (2000)

The ATP action on spontaneous miniature glycinergic inhibitory postsynaptic currents (mIPSCs) was investigated in rat substantia gelatinosa (SG) neurons dissociated from the 2nd layer of the dorsal horn with presynaptic glycinergic nerve terminals. ATP reversibly facilitated the frequency of the mIPSCs in a concentration-dependent manner without affecting their amplitude distribution. 2-MethylthioATP mimicked the ATP action, while ab-methylene-ATP had no effect on mIPSCs. The facilitatory effect of ATP on mIPSC frequency was abolished by suramin and pyridoxal-5-phosphate-6-azophenyl-2', 4'-disulphonic acid and in a Ca^{2+} -free external solution but not by Cd^{2+} . These results suggest that ATP enhances glycine release from nerve terminals, presumably resulting in the inhibition of SG neurons which conduct nociceptive signals to the CNS.

Keywords: ATPreceptor, dorsal horn, glycinergic neuron

* Kyusyu University School of Medicine

Shinoura, H.*, Take, H.*, Hirasawa, A.*, Inoue, K., Ohno, Y., Hashimoto, K.* and Tsujimoto, G.*: **Key amino acids of vasopressin V1a receptor responsible for the species difference in the affinity of OPC-21268**

FEBS Lett., **466**, 255-258 (2000)

A non-peptide, vasopressin V1a receptor-selective antagonist, OPC-21268, exhibited a markedly higher affinity for the rat V1a receptor ($K_i = 380$ nM) than for the human V1a receptor ($K_i = 140$ microM). To delineate the region responsible for the high affinity binding of OPC-21268 for the rat V1a receptor, we have constructed a series of chimeric human and rat V1a receptors, and examined the chimeric and point-mutated receptors by competitive radioligand binding analysis. The results showed that the transmembrane domain (TMD) VI-VII of the vasopressin V1a receptor, in particular the amino acid residue Ala-342 in TMD VII, is the major component conferring the rat-selective binding of OPC-21268 to the V1a receptor

Keywords: vasopressin V1a receptor, chimeric receptors, point-mutated receptors

* National Children's Medical Research Center

Tomioka, A.*¹, Ueno, S.*², Kohama, K.*¹, Goto, F.*¹ and Inoue, K.: **Propofol potentiates ATP-activated currents on recombinant P2X4 receptor channels expressed in human embryonic kidney 293 cells.**

Neurosci Lett., **284**, 167-170 (2000)

We examined the effects of a general anesthetic 2, 6-diisopropylphenol (propofol) on ATP- and α, β -methylene ATP (α, β meATP)-activated currents in the human embryonic kidney 293 (HEK 293) cells expressing recombinant P2X receptor channels, using the whole-cell patch-clamp method. Propofol at clinical relevant concentrations (approximately 56 μM) potentiated the current responses through the P2X(4) receptor in a dose-dependent manner, whereas propofol did not affect the responses through the P2X(2) receptor or through the heterologous complex of the P2X(2) and P2X(3) (P2X(2+3)) receptor. These results suggest that activation of P2X(4) subtype in the brain and

the motor neurons of the spinal anterior horn might be involved in the excitatory effect by propofol such as convulsion and unexpected movements.

Keywords: propofol, P2X4 receptor subtype, excitatory effect

*1 Gunma University School of Medicine

*2 Fukuoka University School of Medicine

Nakazawa, K., Inoue, K. and Ohno, Y.: **Block and unblock by imipramine of cloned and mutated P2X2 receptor/channel expressed in *Xenopus* oocytes**

Neurosci. Lett., **264**, 93-96 (1999)

アフリカツメガエルの卵母細胞に発現させた野性型および改変型ATP受容体チャネル (P2X2受容体) に対するイミプラミンの作用を検討した。イミプラミン (100 μM) は野性型のチャネルを介する電流を部分的に抑制した。高濃度 (300 μM) においては抑制作用の減弱 ("脱抑制") が観察された。チャネル孔の開口部付近にある負の電荷あるいは極性を有するアミノ酸残基を中性化してイミプラミンの効果を検討した。Asp315の中性化により100 μM のイミプラミンによる抑制作用が減弱した。Thr330の中性化では、この抑制作用が促進された。Asn333の中性化では、300 μM のイミプラミンによる脱抑制作用が消失した。以上のことからイミプラミンはこれらのアミノ酸残基との相互作用によりチャネルに影響を与えることが示唆された。

Keywords: ATP receptor/channel, imipramine, site-directed mutagenesis

Nakazawa, K. and Ohno, Y.: **5-Hydroxytryptamine inhibits P2X2 receptor channel pore mutants**

Cell. Mol. Neurobiol., **19**, 665-669 (1999)

アフリカツメガエルの卵母細胞に発現させた野性型および改変型ATP受容体チャネル (P2X2受容体) に対するセロトニンの作用を検討した。セロトニン (10 μM) は野性型のチャネルを介する電流を増強した。Thr330またはAsn333をIleに置換した改変型チャネルにおいては、セロトニンによる電流抑制が観察された。以上のことからセロトニンがチャネルの開口部と相互作用することが示唆された。

Keywords: P2X2 receptor/channel, 5-hydroxytryptamine, site-directed mutagenesis

Nakazawa, K. and Ohno, Y.: **Neighboring glycine residues are essential for P2X2 receptor/channel function**

Eur. J. Pharmacol. **370**, R5-R6 (1999)

P2X2受容体/チャネルのグリシンを多く含む領域の役割を改変型チャネルを作製することにより検討した。Gly247をAlaに置換した場合、ATPに対する反応性が消失した。Gly248をAlaに置換した場合にはATPに対する反応性の減弱が観察され、Valに置換した場合には反応性が消失した。以上のことから、これらの並列したグリシン残基がチャネル機能に必須であることが示唆された。

Keywords: ATP receptor/channel, ATP sensitivity, site-directed mutagenesis

Nakazawa, K. and Ohno, Y.: **Block by 5-hydroxytryptamine and apomorphine of recombinant human neuronal nicotinic receptors**

Eur. J. Pharmacol. **374**, 293-299 (1999)

アフリカツメガエルの卵母細胞に発現させたヒト型ニコチン様アセチルコリン受容体/チャネルに対するセロトニンおよびアポモルフィンの作用を検討した。セロトニンお

よびアポモルフィンはこのチャンネルを介するイオン電流を抑制した。抑制の度合はチャンネルを構成するサブユニットの種類に依存していた。アセチルコリンの濃度-作用曲線の最大反応の低下よりこれらの薬物は非競合抑制を示すこと、また、抑制の電位依存性よりその作用点がチャンネル孔であることが示唆された。

Keywords: recombinant human nicotinic acetylcholine receptor/channel, 5-hydroxytryptamine, apomorphine

Ozawa, S., Schoket, B.*¹, McDaniel, L.P.*², Tang, Y.-M.*², Ambrosone, C. B.*², Kostic, S.*³, Vincze, I.*¹ and Kadlubar, F. F.*²: **Analyses of bronchial bulky DNA adduct levels and CYP2C9, GSTP1 and NQO1 genotypes in a Hungarian study population with pulmonary diseases**
Carcinogenesis **20**, 991-995 (1999)

CYP2C9, GSTP1 and NQO1 遺伝子の各異型遺伝子と気管支組織の多環芳香族炭化水素のDNA付加体量との関連をハンガリー人集団について調べた。

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbons, genotype, drug metabolizing enzymes

*¹ National Institute of Environmental Health, Hungary

*² National Center for Toxicological Research, USA

*³ Koranyi National Institute of Pulmonary, Hungary

Ozawa, S., Shimizu, M.*¹, Katoh, T.*², Miyajima, A., Ohno, Y., Matsumoto, Y.*¹, Fukuoka, M.*¹, Tang, Y.-M.*³, Lang, N.P.*⁴ and Kadlubar, F.F.*³: **Sulfating-activity and stability of cDNA-expressed allozymes of human phenol sulfotransferase, ST1A3*1 (²¹³Arg) and ST1A3*2 (²¹³His), both of which exist in Japanese as well as Caucasians**
J. Biochem. (Tokyo) **126**, 271-277 (1999)

ヒトフェノール硫酸転移酵素の異型酵素分子種(ST1A3*2, ²¹³His)の機能を野性型分子種(ST1A3*1, ²¹³Arg)と比較し、*2型分子種は野性型分子種に比べ、熱に不安定であることを明らかにした。

Keywords: human phenol sulfotransferase, allelic variants, heterologous cell expression systems

*¹ 昭和薬科大学

*² 産業医科大学

*³ National Center for Toxicological Research, USA

*⁴ Arkansas Cancer Research Center, USA

Yang, M.*¹, Katoh, T.*², Delongchamp, R.*¹, Ozawa, S., Kohshi, K.*² and Kawamoto, T.*²: **Relationship between NAT1 genotype and phenotype in a Japanese population**
Pharmacogenetics **10**, 225-232 (2000)

ヒトアリルアミンN-アセチル転移酵素1(NAT1)の異型野性型対立遺伝子(*10)と野性型対立遺伝子(*4)を有するヒトの末梢血リンパ球のNAT1依存的活性について検討した。

Keywords: human arylamine N-acetyltransferase 1 (NAT1), allelic variants, enzymatic activities in lymphocytes

*¹ National Center for Toxicological Research, USA

*² 産業医科大学

Nakajima, M.*, Sasaki, M.*, Kobayashi, Y.*, Ohno, Y., Usami, M.: **Developmental toxicity of indium in cultured rat embryos**
Teratogenesis Carcinog. Mutagen., **19**, 205-209 (1999)

Rat embryos at day 9.5 of pregnancy were cultured for 48 h in the presence of indium trichloride under various exposure condi-

tions. Indium was embryotoxic to cultured rat embryos according to the embryonic age, and the exposure concentration was more critical than the exposure time. It was considered that the developmental toxicity of indium is a direct effect on the embryo or yolk sac, and that weak developmental toxicity of indium by oral administration was due to low exposure concentrations of the embryo.

Keywords: embryo culture, indium trichloride, toxicokinetics

* Institute for Life Science Research, Asahi Chemical Industry Co., Ltd., Japan

Usami, M., Tabata, H., Ohno, Y.: **Effects of glutathione depletion on selenite- and selenate-induced embryotoxicity in cultured rat embryos**
Teratogenesis Carcinog. Mutagen., **19**, 255-266 (1999)

Rat embryos at day 9.5 of gestation were cultured for 48 h in the presence of Se as either sodium selenite. Embryonic GSH was depleted by the addition of L-buthionine-[S,R]-sulfoximine (BSO) without embryotoxicity. The incidence of selenite-induced malformation of the embryos was decreased with BSO, but the incidence of selenate-induced malformation was increased. It was considered that embryonic GSH was involved in the embryotoxicity of selenite and selenate.

Keywords: embryo culture, glutathione, buthionine sulfoximine

Hirabayashi, N.*¹, Matsuki, Y.*¹, Suzuki, E.*¹, Usami, M., Ohno, Y., Shimada, K.*²: **Toxicokinetic study of fadrozole, a non-steroidal aromatase inhibitor, in chicken eggs by the injection into the air sac**
Jpn. Poult. Sci., **36**, 382-387 (1999)

ニワトリ卵の気室にfadrozoleを投与し、胚および卵黄・卵白中のfadrozole量の経時変化および投与量との関係をHPLCにより調べた。その結果、卵黄・卵白ではほぼ投与量に依存してfadrozole濃度の上昇が認められたが、胚への分布については非線形を呈した。

Keywords: fadrozole, chicken embryo, toxicokinetics

*¹ Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center, Japan

*² Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, Japan

Nishikimi, H.*, Kansaku, N.*, Saito, N.*, Usami, M., Ohno, Y., Shimada, K.*: **Sex differentiation and mRNA expression of P450c17, P450arom and AMH in gonads of the chicken**
Mol. Reprod. Develop., **55**, 20-30 (2000)

Effects of in ovo injection of nonsteroidal aromatase inhibitor (fadrozole) and estradiol on mRNA levels of P450c17, P450arom and anti-Müllerian hormone (AMH) in the gonads of chicken embryos were examined. The results indicated that the expressions of P450arom and AMH are sexually dimorphic and are reciprocally regulated.

Keywords: chicken embryo, sex differentiation, mRNA

* Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, Japan

紅林秀雄, 高橋昭江, 鹿庭なほ子, 高橋 惇: **安息香酸のナトリウム塩及びカリウム塩のラットにおける体内動態**

J. Health Science, **45**, 391-400 (1999)

安息香酸のナトリウム塩及びカリウム塩の各3用量を雄性ラットに経口投与しその体内動態を調べた。その結果、

これらの塩による違いは認められなかったが、投与量に依存して吸収、分布、代謝および排泄が遅くなる飽和現象が判明した。

Keywords: disposition, sodium benzoate, potassium benzoate

Sakemi, K., Usami, M., Mitsunaga, K., Ohno, Y., Tsuda, M.: **Comparative toxicokinetic study of rubber antioxidants, 2-mercaptobenzimidazole and 2-mercaptomethylbenzimidazole, by single oral administration in rats**

J. Toxicol. Sci., **24**, 399-405 (1999)

ゴムの老化防止剤として使用されている、2-メルカプトベンズイミダゾール (MBI) 及びそのメチル誘導体 (MMBI) をラットへ単回経口投与し、血中及び尿中の薬物濃度を経時的に測定し、TKパラメータを比較検討した。急性毒性の発現 (自発運動の低下、よろめき歩行、伏臥、横臥、昏睡) と血中未変化体濃度との間に相関関係があることを明らかにした。またMMBIの尿中代謝物として脱硫酸体を明らかにした。

Keywords: 2-mercaptobenzimidazole, 2-mercaptomethylbenzimidazole, toxicokinetics

Maita, K.*, Kuwahara, M.*, Kosaka, T.*, Inui, K.*, Sugimoto, K.*, Takeuchi, Y.*, Hatakenaka, N.*, Harada, T.*, Yasuhara, K., Mitsumori, K.: **Testicular toxicity of thiamphenicol in Sprague-Dawley rats**

J. Toxicol. Pathol., **12**, 27-34 (1999)

Group of 12 male SD rats received oral treatment with thiamphenicol (TAP) at a dose of 0, 100, or 200 mg/kg/day for 4 weeks and, then, 4 of each group were left untreated for further 13 weeks. The fertility were not affected in all treated groups except 2 males at 200 mg/kg/day. The organ weights of testes and accessory genital organs, and the serum LH and testosterone levels were decreased, but not changed at 100 mg/kg/day. Histopathologically, disorganization of seminiferous tubules at 200 mg/kg/day, and the mild decreased number of all types of germ cells in stage analysis of the seminiferous tubules at 100 mg/kg/day were observed. After withdrawal period, all testes from rats at 200 mg/kg/day showed the structure so called "Sertoli only syndrome". The present results may suggest that the role of Sertoli cells should be more highlighted in the consideration of mechanism of testicular toxicity of TAP.

Keywords: testicular toxicity, thiamphenicol, rat

* The Institute of Environmental Toxicology

Takagi, H., Mitsumori, K., Onodera, H., Takegawa, K., Shimo, T., Koujitani, T., Hirose, M.: **A preliminary study of the effect of *Plantago ovata* forsk on the development of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-initiated rat mammary tumors under the influence of hypercholesterolemia**

J. Toxicol. Pathol., **12**, 141-145 (1999)

To elucidate whether *Plantago ovata* forsk (PO) exhibits inhibiting effects on mammary carcinogenesis under a condition of hypercholesterolemia, female SD rats were first given a single oral administration of DMBA. From one week later, group 1 and group 2 received high cholesterol diets (HC) with and without 5% PO supplementation for 26 weeks, respectively. Group 3 and group 4 received basal diet (BD) with and without 5% PO supplementation for the same period, respectively. At the termination of the study, the serum levels of total cholesterol in group 1 were significantly lower than those in group 2 and the number of

mammary masses was significantly decreased. Histopathologically, this decrease was due to the decreased incidences of mammary adenocarcinomas in group 1 compared with group 2, whereas due to the increased incidences of mammary adenocarcinomas in group 3 compared with group 4. The results of the present study suggest a possibility that PO exerts inhibiting effects on mammary carcinogenesis by decreasing cholesterol levels.

Keywords: mammary carcinogenesis, high cholesterol, *plantago ovata* forsk

Mitsumori, K., Onodera, H., Takahashi, M.*¹, Funakoshi, T.*², Tamura, T., Yasuhara, K., Takegawa, K., Takahashi, M.: **Promoting effects of kojic acid due to serum TSH elevation resulting from reduced serum thyroid hormone levels on development of thyroid proliferative lesions in rats initiated with N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine**

Carcinogenesis, **20**, 173-176 (1999)

To examine whether kojic acid (KA) exerts a promoting effect on thyroid carcinogenesis, male rats were initiated with BHP and received basal diet containing 0 or 2%KA for 12 weeks. The serum T3 and T4 levels were significantly decreased and serum TSH was markedly increased in the BHP+KA group at weeks 4 and 12. Focal thyroid follicular hyperplasias and adenomas were observed in the BHP+KA group at weeks 4 and 12. These results suggest that thyroid proliferative lesions were induced by KA administration due to continuous serum TSH stimulation through the negative feedback mechanism of the pituitary-thyroid axis.

Keywords: kojic acid, thyroid tumor, TSH

*¹ Division of Pathology, Sasaki Institute

*² Safety Research Institute, Yoshitomi Pharmaceuticals

Tamura, T., Mitsumori, K., Onodera, H., Fujimoto, N.*, Yasuhara, K., Takegawa, K., Takahashi, M.: **Inhibition of thyroid iodine uptake and organification in rats treated with kojic acid**

Toxicol. Sci., **47**, 170-175 (1999)

To elucidate the mechanisms of reduction of serum thyroid hormones caused by continuous administration of kojic acid (KA) and its thyroid tumor-promotion effects, male rats were given basal diet containing 0%, 0.008%, 0.03%, 0.125%, 0.5%, or 2% KA for 4 weeks. The thyroid ¹²⁵I uptake was significantly decreased in the groups receiving 0.03% or more. Significant reduction of organic formation of iodine and serum T3 and T4 levels were observed in the 2% KA group along with pronounced elevation of serum TSH. Decreased colloid and follicular cell hypertrophy in the thyroid were observed in the groups given 0.03% or more. In morphometrical analysis, the ratio of the area of follicular epithelial cells to the area of colloids was significantly increased in the groups given 0.03% or more. The results suggest that KA alteration of thyroid-related hormone levels in the 2% KA group are due to inhibition of iodide uptake and iodine organification in the thyroid.

Keywords: kojic acid, thyroid iodine uptake, iodine organification

* Hiroshima University Medical School

Tamura, T., Mitsumori, K., Onodera, H., Takahashi, M.*¹, Funakoshi, T.*², Yasuhara, K., Takegawa, K., Takagi, H., Hirose, M.: **Time course observation of serum thyroid-related hormone levels and thyroid proliferative lesions in**

rats treated with kojic acid after DHPN initiation*J. Toxicol. Sci.*, 24, 145-155 (1999)

Time course changes in thyroid proliferative lesions as well as related hormone levels of male rats initiated with DHPN followed by basal diet containing 0, 2 or 4% kojic acid (KA) were examined at Weeks 1, 2, 4, 8 and 12. Serum T3/T4 levels in the DHPN+2%KA and DHPN+4%KA groups were significantly reduced as compared with the DHPN-alone group at each time point. Serum TSH levels in both DHPN+KA groups were significantly increased at each time point in a treatment period-dependent manner from Weeks 1 to 12. Focal follicular cell hyperplasias and adenomas of the thyroid were observed in the DHPN+2%KA group from Week 4 and in the DHPN+4%KA group from Week 8. These results strongly suggest that thyroid proliferative lesions were induced by KA administration due to continuous serum TSH stimulation through the negative feedback mechanism of the pituitary-thyroid axis.

Keywords: kojic acid, thyroid tumor, TSH

^{*1} Division of Pathology, Sasaki Institute

^{*2} Safety Research Institute, Yoshitomi Pharmaceuticals

Shinoda, K.^{*1}, Mitsumori, K., Yasuhara, K., Uneyama, C., Onodera, H., Hirose, M. and Uehara, M.^{*2}: **Doxorubicin induces male germ cell apoptosis in rats**

Arch. Toxicol., 73, 274-281 (1999)

To clarify whether apoptosis is involved in doxorubicin (DXR)-induced testicular toxicity, adult rats were treated with a single intravenous dose of DXR (8 or 12 mg/kg) and euthanized at 3, 6, 12, 24, and 48 h thereafter. Germ cell degeneration was first found 6 h after dosing in meiotically dividing spermatocytes and early round spermatids of seminiferous tubules at stage I, and subsequently observed in spermatogonia at stages I-VI showing ultrastructural characteristics of apoptosis. Coincident with the appearance of morphologic changes, degenerating germ cells were shown to be undergoing apoptosis as revealed by in situ terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling. DNA laddering on gel electrophoresis was apparent 24 and 48 h after dosing. The results demonstrate that apoptosis plays an important role in the induction of testicular toxicity caused by DXR with meiotically dividing spermatocytes and type A and intermediate spermatogonia as highly vulnerable target cells.

Keywords: doxorubicin, apoptosis, testis

^{*1} Chemicals Evaluations and Research Institute

^{*2} Faculty of Agriculture, Tottori University

Ichiki, T., Onodera, H., Uneyama, C., Takegawa, K., Yasuhara K., Hirose, M., Kikuchi, M.^{*}, Mitsumori, K.: **Liver tumor promoting effects of febantel in a two-stage hepatocarcinogenesis model of rats using d-galactosamine and diethylnitrosamine**

J. Toxicol. Pathol., 12, 113-117 (1999)

To examine whether febantel has a tumor promoting activity, male rats were initiated with a single intraperitoneal injection of DEN. Groups 1, 2, and 3 were fed diet containing 2500, 500, and 0 ppm febantel, respectively, for 7 weeks. D-galactosamine (DGA) of 300 mg/kg was administered intraperitoneally at Weeks 1 and 6 of febantel treatment. The remaining two groups were fed diet containing 2000 or 0 ppm febantel without DGA treatment for 7 weeks. Centrilobular liver cell hypertrophy was observed in the DEN/DGA+2500 ppm and DEN+2000 ppm

groups. Significant induction of CYP1A1/2, 2B1/2 and 4A1/3 was observed in the DEN/DGA+2500 ppm and DEN+2000 ppm groups, as compared to the corresponding control groups. Significant increases in GST-P positive cells and/or mini-foci in the liver were observed in the DEN/DGA+2,500 ppm group. These results suggest that febantel exerts liver tumor promotion potential.

Keywords: febantel, liver, carcinogenesis

^{*} School of Medicine, Fukuoka University

Shoda, T., Onodera, H., Takeda, M.^{*1}, Uneyama, C., Imazawa, T., Takegawa, K., Yasuhara, K., Watanabe, T.^{*2}, Hirose, M., Mitsumori, K.: **Liver tumor promoting effects of fenbendazole in rats**

Toxicol. Pathol., 27, 553-562 (1999)

To examine whether fenbendazole has tumor promoting activity, rats were initiated with a single intraperitoneal injection of DEN or given the saline vehicle alone, and given diet containing 3600, 1800, 600, 200, 70 or 0 ppm of fenbendazole for 8 weeks. After 8 weeks, periportal hepatocellular hypertrophy was observed in the groups given 600 ppm and greater. Induction of cytochrome P450 (CYP) 1A2, 2B1 or 4A1 was noted in the fenbendazole-treated groups. The numbers and areas of connexin 32 (Cx32)-positive spots per cm² in centrilobular hepatocytes were significantly decreased with fenbendazole-treatment after DEN initiation. In situ hybridization for Cx32 mRNA revealed a remarkable decrease in its expression in the centrilobular hepatocytes in the DEN+70 ppm group. The numbers of GST-P positive foci were significantly increased in the DEN+1800 and DEN+3600 ppm groups. The present results indicate that fenbendazole may be a liver tumor promoter.

Keywords: fenbendazole, liver, carcinogenesis

^{*1} Institute of Environmental Toxicology

^{*2} Research/Development Division, Sumika Technoservice

Shoda, T.^{*}, Mitsumori, K., Onodera, H., Toyoda, K., Uneyama, C., Imazawa, T., Takahashi, M., Hirose, M.: **The relationship between decrease in Cx32 and induction of P450 isozymes in the early phase of clofibrate hepatocarcinogenesis in the rat**

Arch. Toxicol., 73, 373-380 (1999)

To examine the relationship between the decrease in Cx32 and induction of P450 isozymes in the early phase of clofibrate hepatocarcinogenesis, male rats were initiated with a single intraperitoneal injection of DEN or given the saline vehicle alone and given diet containing 0.18, 0.09 or 0% clofibrate for 6 weeks. Diffuse hepatocellular hypertrophy with granular cytoplasmic eosinophilia was observed in the clofibrate treated rats. Positive immunostaining for anti-CYP 4A1 and CYP 2B1 were observed diffusely and centrilobularly, respectively. The numbers and areas of connexin 32 (Cx32)-positive spots per hepatocyte in the centrilobular areas in the treated rats were significantly decreased. The numbers and areas of GST-P positive foci were decreased in a dose dependent manner in the clofibrate treated groups. These results suggest that the CYP 2B1/2 induction and Cx32 decrease in centrilobular hepatocytes may also play important roles in clofibrate actions in the liver.

Keywords: clofibrate, liver, promotion

^{*} Research Laboratories, Torii Pharmaceutical Co., Ltd.

Koujitan, T., Yasuhara, K., Kobayashi, H.^{*1}, Shimada, A.^{*2},

Onodera, H., Takagi, H., Hirose, M., Mitsumori, K.: **Tumor promoting activity of 2,6-dimethylaniline in a two-stage nasal carcinogenesis model in N-bis(2-hydroxypropyl) nitrosamine-treated rats**

Cancer Lett., **142**, 161-171 (1999)

Potential promotion activity on nasal carcinogenesis of 2,6-dimethylaniline (DMA), an adrenergic agonist metabolite of xylazine which is used for food-producing animals as a sedative agent, was examined. Male F344 rats received diet containing 0 or 3000 ppm DMA for 52 weeks after initiation with DHPN. Histopathological assessment showed the incidence of carcinomas in the DHPN + DMA group (33%) to be significantly elevated as compared with that for the DHPN alone group (5%). Incidences and/or multiplicity of epithelial hyperplasias and dysplastic foci were also increased in the DHPN + DMA group. These lesions were exclusively observed in the olfactory mucosa. The lowest plasma levels of DMA in tumor- and dysplastic foci-bearing rats were 0.05 and 0.20 g/ml, respectively. These results indicate that DHPN acts as an appropriate initiator for nasal carcinogenesis and that DMA exerts a tumor promoting effect on the olfactory mucosa in the rat nasal cavity.

Keywords: 2,6-dimethylaniline, carcinogenicity, nasal cavity

*¹Research Institute of Japan Plant Protection Association

*²The Institute of Environmental Toxicology

Koujitani, T., Yasuhara, K., Kobayashi, H.*¹, Shimada, A.*², Onodera, H., Takagi, H., Tamura, T., Hirose, M., Mitsumori, K.: **Absence of tumor promoting activity of xylazine in a two-stage nasal carcinogenesis model in N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine-treated rats**

J. Toxicol. Pathol., **12**, 203-208 (1999)

Potential promotion activity of nasal carcinogenesis by xylazine, used in veterinary medicine, was examined using a DHPN-initiated two-stage nasal carcinogenesis model. Male rats received diet containing 1000 or 0 ppm xylazine hydrochloride (XZ) for 52 weeks after initiation with DHPN. Epithelial hyperplasias, dysplastic foci, adenomas, undifferentiated carcinomas, and/or a squamous cell carcinoma in the nasal cavity were observed in the groups initiated with DHPN, but the incidences of these proliferative lesions were not altered by the treatment of XZ. Plasma levels of xylazine and 2,6-dimethylaniline (DMA) were almost below the detection limit. These results suggest that XZ does not have any tumor promoting effect in the nasal tissues and its conversion to carcinogenic DMA is very low in vivo. The possibility of nasal carcinogenic effects of DMA in consumers via ingestion of edible tissues in food-producing animals treated with xylazine is extremely low.

Keywords: xylazine, carcinogenicity, nasal cavity

*¹Research Institute of Japan Plant Protection Association

*²The Institute of Environmental Toxicology

Fujimoto, N.*, Onodera, H., Mitsumori, K., Tamura, T., Maruyama, S.*, Ito, A.*: **Changes in thyroid function during development of thyroid hyperplasia induced by kojic acid in F344 rats**

Carcinogenesis, **20**, 1567-1571 (1999)

To clarify the mechanism of tumorigenesis by kojic acid (KA), iodine uptake in the thyroid and serum levels of TSH and thyroid hormone were investigated in rats fed diet containing 2% KA. After 4 weeks, thyroid hyperplasia was apparent in males, associated with a decrease in ¹²⁵I uptake into the thyroid to only 3% of

that in controls. The serum T3/T4 levels dropped from the initial values and TSH increased seven times. Inhibition of organic iodination was only observed after 3 weeks treatment. On return to the control diet, normal serum T3, T4 and TSH levels become evident within 48 hr, suggesting that KA interrupts thyroid function, primarily by inhibiting iodine intake, consequently causing a decrease in serum T3 and T4. Increased TSH from the pituitary in turn stimulates thyroid hyperplasia, which is reversible on withdrawal of KA.

Keywords: kojic acid, thyroid hormone, F344 rat

*Hiroshima University

Kasahara, K., Nishikawa, A., Furukawa, F., Ikezaki, S., Tanakamaru, Z., Takagi, H., Ikeda, T., Imazawa, T., Takahashi, M.: **Suppressive effects of josamycin on the development of altered liver cell foci and chronic nephropathy in a carcinogenicity study**

Food Chem. Toxicol., **37**, 61-67 (1999)

The carcinogenicity of josamycin was examined in F344 rats. Groups of 50 males and 50 females were given the compound in their diet at concentrations of 0, 1.25 or 2.5% for 104-weeks; these dose levels were selected on the basis of the results of a sub-chronic study, in which animals rather rejected 5% josamycin. All surviving rats were killed at wk 106. A variety of tumours developed in all groups, including the control group, but all the neoplastic lesions were histologically similar to those known to occur spontaneously in this strain of rats, and no statistically significant increase in the incidence of any tumour was found in the treated groups of either sex. Interestingly, the josamycin treatment significantly reduced the development of altered liver cell foci and chronic nephropathy in a dose-dependent manner. Thus, it was concluded that, under the present experimental conditions, josamycin is not carcinogenic in F344 rats.

Keywords: josamycin, carcinogenicity study

Nishikawa, A., Furukawa, F., Lee, I-S.*¹, Kasahara, K., Tanakamaru, Z., Nakamura, H., Miyauchi, M., Kinase, N.*², Hirose, M.: **Promoting effects of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone on rat glandular stomach carcinogenesis initiated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine**

Cancer Res., **59**, 2045-2049 (1999)

The modifying effects of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX), a mutagenic by-product in chlorinated water, on the development of glandular stomach cancers were investigated in male Wistar rats. After initiation with 100 ppm MNNG solution and 5% NaCl diet for 8 weeks, 30 rats each in groups 1-3 were given MX in the drinking water at concentrations of 30, 10, or 0 ppm for the following 57 weeks. Ten animals each in groups 4-6 were administered the MX without prior carcinogen exposure. The incidences and multiplicities of adenocarcinomas in the glandular stomachs were significantly higher in the initiated 30 ppm MX group than those in the MNNG/NaCl group. The incidences of atypical hyperplasias in the glandular stomachs were also significantly increased by the MX treatments. With their multiplicity, the effects were clearly dose dependent. The results of the present study thus indicate that MX exerts promoting effects when given during the postinitiation phase of two-stage glandular stomach carcinogenesis in rats.

Keywords: MX, stomach carcinogenesis, promotion

*¹Keimyung University

*2 University of Shizuoka

Miyauchi, M., Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Nakamura, H., Takahashi, M., Hirose, M.: **Carcinogenic risk assessment of MeIQx and PhIP in a newborn mouse two-stage tumorigenesis assay**

Cancer Lett., 142, 75-81 (1999)

A newborn mouse two-stage tumorigenesis assay was evaluated as a possible alternative to chronic rodent carcinogenicity bioassays by investigating the carcinogenicity of two major heterocyclic amines, MeIQx and PhIP. One week after birth, CD-1 mice of both sexes were subcutaneously administered BOP at a dose of 50 mg/kg as an initiation treatment and starting 2 weeks thereafter they were fed diets supplemented with MeIQx at concentrations of 300, 30, 3 or 0 ppm or PhIP at 200, 50, 10 or 0 ppm for 23 weeks. Pulmonary adenomas and adenocarcinomas were observed in all groups with high incidences, without any significant differences between the groups. MeIQx and PhIP did not influence the multiplicity except in the group given 10 ppm PhIP where it significantly increased the number of pulmonary adenomas. Similarly, hepatocellular adenomas and carcinomas were found in all groups with high incidences, and again MeIQx and PhIP did not increase their incidences or multiplicities. These results thus suggest that the tumor-promoting effects of MeIQx or PhIP may be rather weak, if present, as far as this newborn two-stage model is concerned.

Keywords: newborn mouse, MeIQx, PhIP

Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Tanakamaru, Z., Miyauchi, M., Nakamura, H., Ikeda, T., Imazawa, T., Hirose, M.: **Failure of phenethyl isothiocyanate to inhibit hamster tumorigenesis induced by N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine when given during the post-initiation phase**

Cancer Lett., 141, 109-115 (1999)

The chemopreventive influence of phenethyl isothiocyanate (PEITC) during the post-initiation stage was investigated in the BOP-initiated hamster tumorigenesis model. Animals in groups 1-3, each consisting of 30 hamsters, were injected twice with BOP. Starting 1 week after the second BOP injection, hamsters in groups 1 and 2 were fed diets supplemented with 6 and 3 micromol/g of PEITC, respectively, for 51 weeks. Animals in group 3 were treated as an initiation positive control. Animals in groups 4-6 were given 6 micromol/g or 3 micromol/g of PEITC alone, or were non-treated, matched negative controls for groups 1-3. Taken together with our previous finding that PEITC dramatically inhibited the initiation phase of BOP-induced pancreatic and lung tumorigenesis in hamsters, it can be concluded that PEITC specifically exerts chemopreventive effects only when given concomitantly with the carcinogen.

Keywords: phenethyl isothiocyanate, post-initiation

Ikezaki, S., Nishikawa, A., Furukawa, F., Tanakamaru, Z., Nakamura, H., Mori, H.*, Hirose, M.: **Influences of long-term administration of 24R, 25-dihydroxyvitamin D₃, a vitamin D₃ derivative, in rats**

J. Toxicol. Sci., 24, 133-139 (1999)

In order to examine the influences by long-term feeding of 24R, 25 dihydroxyvitamin D₃[24R, 25(OH)2D₃], an active form of vitamin D, male Wistar rats were fed a powder diet containing 0 or 5 ppm 24R, 25(OH)2D₃ for 57 weeks. Urinary calcium levels were significantly increased by the administration of 24R,

25(OH)2D₃ at weeks 3, 22 and 56, although the levels of serum calcium did not differ between the groups at week 57. In the 24R, 25(OH)2D₃ group, weights of the adrenals and femurs were significantly increased. Histopathologically, this was found due to thickening of cortical bone in the femurs, and medullary hyperplasia and pheochromocytoma of the adrenals. These results indicate that 24R, 25(OH)2D₃ at a dose with which serum calcium is not chronically increased causes thickening of the cortex of the femur, and development of adrenal proliferative lesions.

Keywords: 24R, 25-dihydroxyvitamin D₃, long-term study

* Gifu University School of Medicine

Mori, H.*, Matsunaga, K.*, Tanakamaru, Z.*, Kawabata, K.*, Yamada, Y.*, Sugie, S.*, Nishikawa, A.: **Effects of protocatechuic acid, S-methylmethanethiosulfonate or 5-hydroxy-4-(2-phenyl-(E)ethenyl)-2(5H)-furanone (KYN-54) on 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced pulmonary carcinogenesis in mice**

Cancer Lett., 135, 123-127 (1999)

Modifying effects of dietary exposure of protocatechuic acid (PCA), S-methylmethanethiosulfonate (MMTS), and 5-hydroxy-4-(2-phenyl-(E)ethenyl)-2(5H)-furanone (KYN-54) on NNK-induced pulmonary carcinogenesis were examined in female A/J mice. Each of the test chemicals was given in diets during initiation or post-initiation phases (PCA, 1000 ppm; MMTS, 100 ppm; KYN-54, 200 ppm). All of these did not exert any preventive effect in this model when the incidence or multiplicity of pulmonary tumors (adenomas) of mice given NNK and the test chemical was compared to that of mice exposed to the carcinogen alone. In contrast, KYN-54 has a promoting effect on pulmonary carcinogenesis in mice. These data indicate an organotropic activity of these compounds and suggest that candidate compounds for cancer chemoprevention need to be carefully examined for effectiveness in multiple organs by different models.

Keywords: protocatechuic acid, S-methylmethanethiosulfonate, 5-hydroxy-4-(2-phenyl-(E)ethenyl)-2(5H)-furanone

* Gifu University School of Medicine

Koide, A.*, Fuwa, K.*, Furukawa, F., Hirose, M., Nishikawa, A., Mori, Y.*: **Effect of cigarette smoke on the mutagenic activation of environmental carcinogens by rodent liver**

Mutat. Res., 428, 165-76 (1999)

In order to assess the effect of cigarette smoke (CS) on metabolic enzymes, male hamsters and rats were exposed for two weeks to smoke produced in a Hamburg type II smoking machine. Mutagenic activities of seven heterocyclic amines (HCAs) in TA98 in the presence of rat or hamster liver S9 were elevated above controls. Enhancement of mutagenic activities of PhIP and aflatoxin B(1) was observed only in CS-exposed hamster. 7,8-Benzoflavone and/or furafylline considerably inhibited the mutagenic activation of IQ and Trp-P-1 in the presence of liver S9 from untreated hamsters and sham smoke- or CS-exposed hamsters and rats. Western immunoblot analyses of liver microsomes revealed that CS-exposure increased the levels of hamster CYP1A2 and rat CYP1A2 and CYP1A1, without significant change in the levels of CYP2E1 and CYP2B and 3A isoforms in each species. The presently observed selective induction of HCA activation and CYP isozymes due to CS supports the idea that CS may contribute to enhancing effects on initiation by carcinogens which are metabolically activated by hepatic CYP1A1/1A2.

Keywords: cigarette smoke, mutagenic activation, environmental carcinogen

* Gifu Pharmaceutical University

Chung, F.-L.*¹, Nath, R.G.*¹, Nagao, M.*², Nishikawa, A., Zhou, G.D.*³, Randerath, K.*³: **Endogenous formation and significance of 1,N2-propanodeoxyguanosine adducts**
Mutat. Res., **424**, 71-81 (1999)

The detection of 1, N2-propanodeoxyguanosine adducts in the DNA of rodent and human tissues as endogenous lesions has raised important questions regarding the source of their formation and their roles in carcinogenesis. Both in vitro and in vivo studies have generated substantial evidence which supports the involvement of short- and long-chain enals derived from oxidized polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in their formation. These studies collectively demonstrate that tissue lipid peroxidation is a main endogenous pathway leading to propano adduction in DNA. The possible contribution from environmental sources, however, cannot be completely excluded. The mutagenicity of enals and the mutations observed in site-specific mutagenesis studies using a model 1, N2-propanodeoxyguanosine adduct suggest that these adducts are potential promutagenic lesions. The increased levels of the propano adducts in the tissue of carcinogen-treated animals also provide suggestive evidence for their roles in carcinogenesis. The involvement of these adducts in tumor promotion is speculated on the basis that oxidative condition in tissues is believed to be associated with this process.

Keywords: 1,N2-propanodeoxyguanosine, lipid peroxidation, carcinogenesis

*¹ American Health Foundation

*² National Cancer Center Research Institute

*³ Baylor College of Medicine

Furukawa, F., Nishikawa, A., Kasahara, K., Lee, I-S.*¹, Wakabayashi, K.*², Takahashi, M., Hirose, M.: **Inhibition by beta-carotene of upper respiratory tumorigenesis in hamsters receiving diethylnitrosamine followed by cigarette smoke exposure**

Jpn. J. Cancer Res., **90**, 154-161 (1999)

The modifying effects of beta-carotene at various doses on the development of upper respiratory tract tumors were investigated in Syrian hamsters treated with DEN and cigarette smoke. After a single s.c. injection of 100 mg/kg DEN, groups 1-4 hamsters were respectively administered diets supplemented with beta-carotene, at doses of 0.5%, 0.05%, 0.005% and 0% during experimental weeks 1 to 13, and simultaneously exposed to cigarette smoke. In all the groups, epithelial hyperplasias and/or papillomas were induced in the larynx and trachea. However, the incidences and multiplicities of papillomas in group 1 were significantly decreased as compared to the group 4 values. Moreover, the beta-carotene treatments significantly reduced both incidences and multiplicities of hyperplasias in a dose-dependent manner. Our results thus indicate that beta-carotene exerts inhibitory effects, even at the high dose of 0.25%, under the present experimental conditions.

Keywords: beta-carotene, cigarette smoke, respiratory tumorigenesis

*¹ Keimyung University

*² National Cancer Center Research Institute

Furukawa, F., Nishikawa, A., Miyauchi, M., Nakamura, H., Son, H.-Y., Hirose, M.: **Concurrent administration of fish**

meal and sodium nitrite does not promote glandular stomach carcinogenesis in rats after treatment with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

J. Toxicol. Pathol., **12**, 171-176 (1999)

Post-initiation modifying effects of concurrent administration of fish meal and sodium nitrite on the development of glandular stomach tumors after treatment with MNNG were investigated in male Wistar rats. Groups 1-3 were given 100 ppm MNNG in their drinking water and 10% NaCl in diet for 8 weeks as an initiation treatment for gastric cancer induction and thereafter respectively fed diets containing 64%, 32%, and 8% fish meal, and simultaneously given 0.12% sodium nitrite in the drinking water for 52 weeks. Groups 4-6 were similarly treated without the application of MNNG and NaCl. At the end of the 60th experimental week, all surviving animals were autopsied and examined histopathologically for the existence of gastric proliferative lesions. The incidences and multiplicity of atypical hyperplasias or adenocarcinomas were comparable among groups 1-3. No gastric proliferative lesions were found in groups 4-6. Our results suggest that concurrent administration of fish meal and sodium nitrite does not affect the post-initiation phase of MNNG-initiated glandular stomach carcinogenesis in the rat.

Keywords: fish meal, sodium nitrite, stomach carcinogenesis

Lee, I-S.*¹, Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Kim, S-U.*²: **Effects of Selaginella tamariscina on in vitro tumor cell growth, p53 expression, G1 arrest and in vivo gastric cell proliferation**

Cancer Lett., **148**, 81-86 (1999)

Selaginella tamariscina (ST), an oriental medicinal plant, was extracted using several solvents, and each fraction was assayed for its tumoricidal effects with MTT. Then influences on expression of p53 and induction of G1 arrest in cell cycle were respectively analyzed by northern blotting and flow cytometry. Modifying effects of pulverized ST on cell turnover in the stomach were also investigated in rats given 150mg/kg of MNNG by gavage and then fed a diet containing 5%, 1% or 0% ST. Fractions I-V showed significant tumoricidal effects against cultured human leukemia cells whereas fractions II-IV did not affect normal human lymphocytes. Among the effective fractions, the water-extracted fraction efficiently increased p53 gene expression and induced G1 arrest. The 1% ST feeding caused a significant reduction in the PCNA-labeling index of the glandular stomach epithelium as compared with the MNNG alone group value although 5% ST feeding was only associated with a tendency for decrease. These results suggest that ST could be a candidate chemopreventive as well as chemotherapeutic agent against gastric cancer.

Keywords: selaginella tamariscina, stomach cancer, cell proliferation

* Keimyung University

Tanaka, T.*¹, Sugiura, H.*², Inaba, R.*³, Nishikawa, A., Murakami, A.*⁴, Koshimizu, K.*⁴, Ohigashi, H.*⁵: **Immunomodulatory action of citrus auraptene on macrophage functions and cytokine production of lymphocytes in female BALB/c mice**

Carcinogenesis, **20**, 1471-1476 (1999)

The modifying effects of auraptene on macrophage and lymphocyte functions were investigated in mice. Female BALB/c mice were gavaged with auraptene at a dose of 100, 200 or 400

mg/kg once a day for 10 consecutive days. Glucose consumption of peritoneal macrophages was significantly higher than that in the control in auraptene-treated mice. Activity of acid phosphatase in peritoneal macrophages was increased at a dose level of 100 mg/kg. In addition, peritoneal macrophages in the auraptene-treated mice showed increased activity of beta-glucuronidase and increased production of interleukin (IL)-1 β and tumor necrosis factor- α . Stimulation indices in mice given auraptene at a dose of 200 mg/kg were significantly higher than that in the control group. However, IL-2 and IFN production stimulated by Con A were significantly increased in mice at 100 and 200 mg/kg. These findings might suggest that oral administration of auraptene effectively enhanced macrophage and lymphocyte functions in mice.

Keywords: auraptene, macrophage, cytokine

*¹ Kanazawa Medical University

*² Gifu Pharmaceutical University

*³ Gifu University School of Medicine

*⁴ Kinki University

*⁵ Kyoto University

Tamura, T., Shibutani, M., Toyoda, K., Shoda, T., Takada, K., Uneyama, C., Takahashi, M., Hirose, M.: **Tumor-promoting activities of hydroquinone and 1,1-dimethylhydrazine after initiation of newborn mice with 1-methyl-1-nitrosourea** *Cancer Lett.*, **143**, 71-80 (1999)

To clarify the suitability of a newborn-mouse assay to detect tumor-promoting activities of carcinogens, the non-genotoxic hydroquinone(HQ) and genotoxic 1,1-dimethyl-hydrazine (UDMH) were administered to mice during the promotion stage after treatment with MNU at day 9 after birth. Initiated males and females thus received either 0.8%HQ in basal diet, or UDMH, at 20mg/kg b.w. once weekly by s.c. injection, from day 14 until 30 weeks of age. HQ significantly increased the incidence and/or multiplicity of altered foci and adenomas/carcinomas in male liver, and adenomas/carcinomas in female lung. In addition, 4/11 mice in the MNU+HQ-treated males developed lung carcinomas. UDMH also exhibited a tendency to increase the incidence and multiplicity of lung adenomas in females. Thus tumor-promoting effects of HQ or UDMH were apparently exerted in the target organs and the MNU-initiated two-stage newborn-mouse carcinogenesis assay may be useful for detection of genotoxic or non-genotoxic carcinogenicity.

Keywords: new-born, two-stage carcinogenesis assay, mouse

Lee, C.C.R.*¹, Wanibuchi, H.*¹, Yamamoto, S.*¹, Hirose, M., Hayashi, Y.*², Fukushima, S.*¹: **Molecular cytogenetic identification of cyclin D1 gene amplification in a renal pelvic tumor attributed to phenacetin abuse** *Pathol. Int.*, **49**, 648-652 (1999)

A phenacetin-associated renal pelvic carcinoma from an 80-year-old female patient was evaluated by molecular cytogenetic methods. Fluorescence in situ hybridization was used to identify chromosome gains or losses for the cyclin D1, p53, Rb and c-myc genes and the ploidy of their respective chromosomes. Cyclin D1 gene amplification, but normal copy numbers of p53, Rb and c-myc, and normal ploidy of chromosomes 8, 11, 13 and 17 were observed. Expression of cyclin D1 protein was confirmed by immunohistochemistry. In the absence of p53, Rb or c-myc abnormalities, the results suggested that cyclin D1 gene amplification and its protein overexpression may be involved in

the genesis of renal pelvic carcinomas associated with phenacetin abuse.

Keywords: cyclin D1, p53, phenacetin

*¹ Osaka City University Medical School

*² Nagoya Higashi Municipal Hospital

Hagiwara, A.*¹, Boonyaphiphat, P.*¹, Tanaka, H.*¹, Kawabe, M.*¹, Tamano, S.*¹, Kaneko, H.*², Matsui, M.*², Hirose, M., Ito, N.*³, Shirai, T.*⁴: **Organ-dependent modifying effects of caffeine, and two naturally occurring antioxidants alpha-tocopherol and n-tritriacontane-16,18-dione, on 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)-induced mammary and colonic carcinogenesis in female F344 rats** *Jpn. J. Cancer Res.*, **90**, 399-405 (1999)

Modifying effects of caffeine, alpha-tocopherol, and n-tritriacontane-16,18-dione (TTAD) on PhIP-induced mammary and colonic carcinogenesis were investigated in female F344 rats. Groups of 20 rats were given 0.02% PhIP alone, or together with 0.1% caffeine, 0.5% alpha-tocopherol or 0.1% TTAD for up to 54 weeks. The final combined incidences and multiplicity of mammary adenomas and adenocarcinomas were significantly lowered in the PhIP plus caffeine group as compared to the PhIP alone value. On the other hand, rats given PhIP plus caffeine exhibited an elevated incidence of colon tumors. Metabolic activation of PhIP was inhibited by addition of caffeine in an in vitro assay. The results indicate that caffeine exerts a potent chemopreventive action against PhIP-induced mammary carcinogenesis, but acts as a co-carcinogen for PhIP-induced colonic carcinogenesis.

Keywords: PhIP, caffeine, mammary and colonic carcinogenesis

*¹ Daiyu-kai Institute of Medical Science

*² Sumitomo Chemical Co., Ltd.

*³ Nagoya City University

*⁴ Nagoya City University Medical School

Hirose, M., Hakoi, K.*¹, Takahashi, S.*¹, Hoshiya, T.*¹, Akagi, K.*¹, Lin, C.*¹, Saito, K.*², Kaneko, H.*², Shirai, T.*¹: **Sequential morphological and biological changes in the glandular stomach induced by oral administration of catechol to male F344 rats**

Toxicol. Pathol., **27**, 448-455 (1999)

Histogenesis and mechanisms of catechol-induced rat glandular stomach carcinogenesis were investigated in male F344 rats. The initial morphological changes were edema of the gastric wall, inflammatory-cell infiltration, erosion in pyloric region close to the duodenum, and considerable increase in apoptosis at 12 hr; later, changes included augmented DNA synthesis and cell proliferation on day 1. Downward hyperplasia appeared at edges of ulceration at week 2, then submucosal hyperplasia in the course of adenoma development. No increase in lipid peroxide levels was evident in gastric epithelium fed catechol for 1 wk. Amounts of catechol bound to tissue protein were not specifically high in the glandular stomach. These results indicate that regenerative cell proliferation due to toxicity plays an important role in catechol-induced glandular stomach carcinogenesis. Protein binding and free radicals may not be largely responsible for the toxicity.

Keywords: catechol, cell proliferation, cytotoxicity

*¹ Nagoya City University Medical School

*² Sumitomo Chemical Co., Ltd.

Kimoto, N.*¹, Hirose, M., Kawabe, M.*¹, Satoh, T.*², Miyatake, H.*², Shirai, T.*¹: **Post-initiation effects of a super critical extract of propolis in a rat two-stage carcinogenesis model in female F344 rats**

Cancer Lett., **147**, 221-227 (1999)

Post-initiation modifying effects of dietary administration of a super critical extract of propolis on major organs were examined. After initiation with 4 carcinogens, female rats were administered diet containing 0.1 or 0.01% propolis for 33 weeks. The incidence and multiplicity of mammary carcinomas were significantly decreased by the 0.1 and 0.01% propolis treatments. In the urinary bladder, the incidence of PN hyperplasia but not tumors was, in contrast, significantly increased by 0.1% propolis. Similarly, the number and area of GST-P positive liver foci were significantly elevated with this high dose. The results indicate that a low dose of a super critical extract of propolis may find application as a potent chemopreventor of mammary carcinogenesis.

Keywords: chemoprevention, mammary gland, propolis, F344 rat

*¹Nagoya City University Medical School

*²Tokushima Bunri University

Futakuchi, M.*, Hirose, M., Ogiso, T.*, Kato, K.*, Sano, M.*, Ogawa, K.*, Shirai, T.*: **Establishment of an in vivo highly metastatic rat hepatocellular carcinoma model**

Jpn. J. Cancer Res., **90**, 1196-1202 (1999)

Diethylnitrosamine exposure followed by a 16-week treatment with N-nitrosomorpholine was found to be a most efficient method for the induction of hepatocellular carcinoma metastasizing to the lung. Loss of cadherin, demonstrated immunohistochemically, occurred in an early stage of carcinogenesis, and this was reflected in malignant conversion of primary lesions. This model, with its essential similarities to malignant tumor behavior in man, should find application not only for elucidation of the mechanisms underlying metastasis, but also in the development of anti-metastatic agents.

Keywords: hepatocarcinogenesis, lung metastasis, N-nitrosomorpholine

* Nagoya City University Medical School

Hirose, M., Takahashi, S.*, Ogawa, K.*, Futakuchi, M.*, Shirai, T.*: **Phenolics: blocking agents for heterocyclic amine-induced carcinogenesis**

Fd. Chem. Toxicol., **37**, 985-992 (1999)

Chemopreventive effects of synthetic and naturally occurring antioxidants on heterocyclic amine (HCA)-induced rat carcinogenesis and mechanisms of inhibition were assessed. In a medium-term liver bioassay, combined treatment with 0.03% MeIQx and synthetic antioxidants such as HTHQ, BHA, BHT, TBHQ or propyl gallate, each at a dose of 0.25%, inhibited development of GST-P positive foci, after initiation with DEN. 8-OHdG and malondialdehyde and 4-hydroxynonenal levels were not largely influenced by the treatment with MeIQx or antioxidants, either alone or in combination. On the other hand, quercetin, rutin, curcumin, daidzin, ferulic acid and genistein all exerted significant enhancing effects. The incidence of mammary carcinomas in female F344 rats induced by oral administration of 0.02% PhIP for 52 weeks was significantly decreased by simultaneous treatment with 0.5% HTHQ. These results indicate that synthetic antioxidant HTHQ is a very strong chemopreventor of HCA-induced carcinogenesis and that depressed metabolic activation rather than antioxidant activity

is responsible for the observed effect.

Keywords: phenolic antioxidant, heterocyclic amine, chemoprevention

* Nagoya City University Medical School

Hirose, M., Fukushima, S.*¹, Imaida, K.*², Ito, N.*³, Shirai, T.*²: **Modifying effects of phytic acid and gamma-oryzanol on the promotion stage of rat carcinogenesis**

Anticancer Res., **19**, 3665-3670 (1999)

The modifying effects of phytic acid and gamma-oryzanol on the promotion stage of carcinogenesis were investigated. In a multi-organ carcinogenesis model, although the appearance of hepatic tumors was suppressed, the incidence of urinary bladder papillomas was increased by 2% phytic acid. In addition, the incidence and multiplicity of lung tumors were significantly increased by 1% gamma-oryzanol. Enhancing effects on DHPN-induced lung tumor were observed only at a dose of 1% gamma-oryzanol. When the modifying effects of phytic acid, and its salts were further examined in rats pretreated with BBN, a clear increase in the incidences of bladder tumors was noted only in sodium-PA. Examination of the modifying potential of phytic acid and gamma-oryzanol on DMBA-induced mammary carcinogenesis in female SD rats revealed that the average tumor diameter was significantly reduced and the average survival time was increased with phytic acid. These results indicate that phytic acid inhibits hepatic and mammary carcinogenesis, while its sodium-salt is a promoter of bladder carcinogenesis. The effect of phytic acid itself on urinary bladder carcinogenesis is equivocal. Gamma-oryzanol is a promoter of lung carcinogenesis but its effect is weak and exerted only at a very high dose level.

Keywords: chemoprevention, phytic acid, gamma-oryzanol

*¹Osaka City University Medical School

*²Nagoya City University Medical School

*³Nagoya City University

Hirose, M., Takahashi, S.*¹, Ogawa, K.*¹, Futakuchi, M.*¹, Shirai, T.*¹, Shibutani, M., Uneyama, C., Toyoda, K., Iwata H.*²: **Chemoprevention of heterocyclic amine-induced carcinogenesis by phenolic compounds in rats**

Cancer Lett., **143**, 173-178 (1999)

Chemopreventive effects of synthetic and naturally occurring antioxidants on heterocyclic amine (HCA)-induced rat carcinogenesis and mechanisms of inhibition were assessed. In a medium-term liver bioassay, combined treatment with 0.03% MeIQx and synthetic antioxidants such as HTHQ, BHA, BHT, TBHQ and propyl gallate, each at a dose of 0.25%, and troglitazone at doses 0.5 and 0.1%, potently inhibited development of GST-P positive foci as compared with MeIQx alone values, while quercetin, rutin, curcumin, daidzin, ferulic acid and genistein all exerted significant enhancing effects. HTHQ also inhibited PhIP-induced colon carcinogenesis in a two stage colon carcinogenesis model. Methoxyresorfin O-demethylase activity in rat liver microsomes in vitro was clearly inhibited by the addition of synthetic antioxidants, with particularly strong inhibition being observed in HTHQ. These results indicate that synthetic antioxidants, HTHQ in particular, is a very strong chemopreventor of HCA-induced carcinogenesis. Depression of metabolic activation is responsible for the observed effect.

Keywords: heterocyclic amine, antioxidants, chemoprevention, carcinogenesis

*¹Nagoya City University Medical School

*²Mitsubishi Chemical Co.

Hiratsuka, H.*¹, Satoh, S.*², Satoh, M.*³, Nishijima, M.*⁴, Katsuki, Y.*⁴, Suzuki, J.*⁴, Nakagawa, J.*⁴, Sumiyoshi, M.*⁵, Shibutani, M., Mitsumori, K., Tanaka-Kagawa, T., Ando, M.: **Tissue distribution of cadmium in rats given minimum amounts of cadmium-polluted rice or cadmium chloride for 8 months**

Toxicol. Appl. Pharmacol., **160**, 183-91 (1999)

To investigate the relationship between cadmium (Cd) toxicity, intestinal absorption, and its organ distribution in rats treated orally with minimum amounts of Cd, female rats were given diets consisting of 28% purified diet and 72% ordinary rice containing Cd-polluted rice or CdCl₂ for up to 8 months. As a result, no Cd-related toxic changes were observed. The concentrations of Cd in the liver and kidneys and MT in the liver, kidney, serum, and urine increased dose-dependently, whereas MT in the intestinal mucosa did not alter markedly at any time point. The distribution rates of Cd to the liver increased dose-dependently, whereas those to the kidney decreased dose-dependently. The Cd retention rates 5 days after ¹⁰⁹Cd administration ranged from 0.2 to 1.0% at any time point. These results suggest that the distribution of Cd to the liver and kidneys after the oral administration vary depending on the dosage levels of Cd. The difference of the distribution pattern of Cd to the liver and kidney is probably due to the difference in the form of the absorbed Cd, i.e., free ion or Cd-MT complex, although not closely related to the MT in the intestinal mucosa.

Keywords: cadmium, tracer study, tissue distribution

*¹Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd.

*²Ina Research Inc.

*³National Institute for Environmental Studies

*⁴The Tokyo Metropolitan Research Laboratory Public Health

*⁵Japan Food Research Laboratories

Nishikawa, T.*¹, Haresaku, M.*¹, Adachi, K.*¹, Masuda M.*¹ and Hayashi, M.: **Study of a rat skin *in vivo* micronucleus test: data generated by mitomycin C and methyl methanesulfonate**

Mutat. Res., **444**, 159-166 (1999)

We have developed an *in vivo* micronucleus (MN) test that uses rat skin as the target organ. Sample preparation involves cold-treating the epidermis with trypsin, peeling it off with a fine forceps, treating it in hypotonic solution, and staining it with acridine orange. We evaluated the assay using mitomycin C (MMC) and methyl methanesulfonate (MMS) as model clastogens, applying them as single and repeat treatments. Both chemicals induced a significant, dose-dependent increase in micronucleus frequency in basal cells. One treatment per day for three days was optimal for MN induction.

Keywords: skin, genotoxicity, micronucleus test

*Life Science Research Center, Lion

Tsuchiya, T. *, Hayashi, M., 他 38 名: **An interlaboratory validation study of the improved transformation assay employing Balb/c 3T3 cells: Results of a collaborative study on the two-stage cell transformation assay by the non-genotoxic carcinogen study group**

ATLA, **27**, 685-702 (1999)

The Non-Genotoxic Carcinogen Study Group of the

Environmental Mutagen Society of Japan organized the first step of an interlaboratory validation study on an improved cell transformation assay employing Balb/c 3T3 A31-1-1 cells. Nineteen laboratories participated in this study. The modified transformation assay was evaluated for its responsiveness, its interlaboratory reproducibility and its transferability. In this study, a mixture of Dulbecco's modified Eagle's medium and nutrient mixture F12, supplemented with insulin-transferrin-ethanolamine-sodium selenite and 2% fetal bovine serum (FBS) was used during the period of expression of transformed foci. The results from this study support the usefulness of this modified two-stage transformation assay with Balb/c3T3 cells.

Keywords: cell transformation assay, Balb/c 3T3 cells, interlaboratory validation study

*Central Research Laboratory, Showa Denko 他 19 機関

Saotome, K.*¹, Sofuni, T. and Hayashi, M.: **A micronucleus assay in sea urchin embryos**

Mutat. Res., **446**, 121-127 (1999)

We have developed a micronucleus assay for use in sea urchin embryos. Treatment embryos at the early blastula stage (about 256 cells) were exposed to genotoxic treated with chemicals overnight until control embryos reached the gastrula stage. Then all embryos were suspended in 1 M urea, dissociated by pipetting, and fixed with methanol:acetic acid (9:1). The preparations were air-dried and stained with acridine orange. The test chemicals (mitomycin C, vinblastine and 1-β-D-arabinofuranosylcytosine) induced clear micronuclei dose-dependently. The maximum frequency induced with mitomycin C was 2-3% in *Clypeaster japonicus* and 1-2% in *Hemicentrotus pulcherrimus*.

Keywords: micronucleus assay, Sea urchin embryos, Air-drying method

*Yokohama City Institute of Health

Hothorn, L.A.*¹, Hayashi, M. and Seidel, D.*²: **Dose-response relationships in mutagenicity assays including an appropriate positive control group: a multiple testing approach**

Environ. Ecol. Stat., **7**, 27-42 (2000)

The objective of mutagenicity assays in regulatory toxicology is the decision on non-mutagenicity or mutagenicity. An inherent problem of statistical tests is the possibility of false decisions, i.e., a mutagenic substance will be falsely labeled as non-mutagenic or a non-mutagenic substance will be falsely labeled as mutagenic. These probabilities of false negative and/or false positive decision can be limited by using suitable testing procedures as well as a design including an appropriate positive control. Using the proof of hazard concept the well-known many-to-one procedures with total order restriction for increasing effect differences are used, while using the proof of safety concept procedures on equivalence with total order restriction are discussed. Both approaches are demonstrated on a real data example.

Keywords: dose-response analysis, positive control, mutagenicity studies

*Univ. Hanover, Germany

Matsushima, T.*¹, Hayashi, M., Matsuoka, A., Ishidate, M. Jr.*², Miura, K.F.*², Shimizu, H.*³, Suzuki, Y.*³, Morimoto, K.*⁴, Ogura, H.*⁴, Mure, K.*⁴, Koshi, K.*⁵ and Sofuni, T.: **Validation study of the *in vitro* micronucleus test in a Chinese hamster lung cell line (CHL/IU)**

Mutagenesis, **14**, 569-580 (1999)

We conducted a collaborative validation study, under the auspices of the Japanese Ministry of Labour, on the *in vitro* micronucleus test to see if it could be used as an alternative to the *in vitro* chromosome aberration test for evaluation of chemical safety. Concordance between was satisfactorily high (88.7%), and we concluded that the *in vitro* micronucleus test could be used in place of the chromosomal aberration test as a simple and rapid method for detecting clastogens and aneugens *in vitro*. We also propose a protocol for the test.

Keywords: *in vitro* micronucleus test, Chinese hamster lung cell line, validation study

*¹ Japan Bioassay Research Center

*² Chromosome Research Center, Olympus Optical Co.

*³ The Jikei University School of Medicine

*⁴ Osaka University School of Medicine

*⁵ National Institute of Industrial Health

Suzuki, T., Itoh, S.*¹, Nakajima, M.*², Hachiya, N.*³ and Hara, T.*⁴: **Target organ and time-course in the mutagenicity of five carcinogens in MutaTMMouse: a summary report of the second collaborative study of the transgenic mouse mutation assay by JEMS/MMS**

Mutat. Res., **444**, 259-268 (1999)

Groups of mice were injected intraperitoneally with *N*-nitroso-di-*n*-propylamine (NDPA), propyl nitrosourea, 7,12-dimethylbenz [*a*]-anthracene, 4-nitroquinoline-1-oxide (4NQO), or procarbazine. *LacZ* mutant frequencies of various organs, sampled 7, 14 and 28 days after treatment, were analyzed by positive selection. All chemicals, except NDPA, induced micronuclei. All chemicals increased *lacZ* MF in all of their target organs for carcinogenesis. Positive responses were also observed in a part of non-target organs although the increases were smaller than those in the target. These results suggest that a positive response in MF means the organ is susceptible for carcinogenesis but it does not always happen. The time-course of MF increases differed among tissues.

Keywords: organ specificity, MutaTMMouse, *lacZ*

*¹ Drug Safety Research Laboratory, Daiichi Pharmaceutical

*² Biosafety Research Center, Foods, Drugs and Pesticides

*³ Akita University School of Medicine

*⁴ Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center

Suzuki, T., Uno, Y.*¹, Idehara, K.*², Baba, T.*², Maniwa, J.*³, Ohkouchi, A.*², Wang, X., Hayashi, M., Sofuni, T., Tsuruoka, M.*⁴, Miyajima, H.*⁴ and Kondo, K.*⁴: **Procarbazine genotoxicity in the MutaTMMouse; strong clastogenicity and organ-specific induction of *lacZ* mutations**

Mutat. Res., **444**, 269-281 (1999)

We analyzed the mutagenicity of procarbazine, a drug used for cancer chemotherapy, in various organs and the clastogenicity of the drug in hematopoietic cells of the *lacZ* transgenic MutaTMMouse. At 50 mg/kg, procarbazine induced micronuclei in hematopoietic cells, but it did not increase the *lacZ* mutant frequency (MF) in bone marrow, liver, testis, spleen, kidney, and lung. Five daily administrations of 150 mg/kg yielded highly positive MF responses in the drug's target organs for carcinogenesis (lung, bone marrow, and spleen). Liver showed only a slight increase in *lacZ* MF and brain showed no increase. The testis MF more than doubled suggests that procarbazine is mutagenic to germ cells.

Keywords: procarbazine, MutaTMMouse, *lacZ*

*¹ Toxicology Laboratory, Mitsubishi Chemical

*² Daicel Chemical

*³ Zeneca KK. Pharmaceuticals

*⁴ Developmental Research Laboratories, Shionogi

Matsuoka, A., Matsuura, K., Sakamoto, H., Hayashi, M. and Sofuni, T.: **A proposal for a simple way to distinguish aneugens from clastogens in the *in vitro* micronucleus test**

Mutagenesis, **14**, 385-389 (1999)

We hypothesized based on the previous study in the *in vitro* micronucleus (MN) test that the frequency of polynuclear (PN) and mitotic (M) cells induced can distinguish aneugens from clastogens. To test the hypothesis, we conducted the MN test with well-known aneugens and clastogens. The clastogens induced MN but more than 200 PN or M cells. The aneugens induced MN, PN and M cells. We proposed that in addition to the increase in MN cells, chemicals that induce ≥ 200 PN cells/1000 cells and a statistically significant increase in M cells are aneugens and chemicals that induce <100 PN cells/1000 cells and do not increase M cell frequency are clastogens.

Keywords: aneugens, the *in vitro* micronucleus test

Matsuoka, A., Sakamoto, H., Tadokoro, S., Tada, A.*¹, Terao, Y.*², Nukaya, H.*² and Wakabayashi, K.*¹: **The 2-phenylbenzotriazole-type water pollutant PBTA-2 has cytochalasin B-mimetic activity**

Mutat. Res., **464**, 161-167 (2000)

2-[2-(Acetylamino)-4-[*N*-(2-cyanoethyl)ethylamino]-5-methoxyphenyl]-5-amino-7-bromo-4-chloro-2*H*-benzotriazole (PBTA-2) has been identified in samples from the Nishitakase River in Kyoto, Japan, and shows potent mutagenic activities in *S. typhimurium* with S9 mix. We conducted the *in vitro* micronucleus (MN) test on PBTA-2 in a Chinese hamster cell line CHL. PBTA-2 induced MN cells weakly, but PN cells strongly and dose dependently. PBTA-2 predominantly induced equal-sized binucleated cells. Rhodamine phalloidin staining revealed that PBTA-2 caused actin filament abnormalities similar to those caused by cytochalasin B. Cytochalasin B induced PN cells predominantly and almost all the cells were equal-sized and binucleate. The results suggest that PBTA-2 has cytochalasin B-mimetic activity, although agents affecting actin filaments, such as cytochalasins, phallotoxins and chloroepoxide, have been derived only from molds so far.

Keywords: PBTA-2, cytochalasin B-mimetic activity

*¹ National Cancer Center Research Institute

*² University of Shizuoka

Masumura, K., Matsui, M., Katoh, M.*¹, Horiya, N.*², Ueda, O.*³, Tanabe, H., Yamada, M., Suzuki, H.*³, Sofuni, T. and Nohmi, T.: **Spectra of *gpt* mutations in ethylnitrosourea-treated and untreated transgenic mice.**

Environ. Mol. Mutagen., **34**(1), 1-8 (1999)

We have established a new transgenic mouse mutagenicity assay for the efficient detection of point mutations and deletions *in vivo*. In this assay, the *gpt* gene of *Escherichia coli* is used as a reporter for the detection of point mutations. Treatment of mice with ENU (150 mg/kg) enhanced the *gpt* mutant frequency in bone marrow. In the ENU-treated mice, more than 90% of the *gpt* mutations were base change mutations; the predominant types were A:T to T:A and G:C to A:T. We also report the establishment of homozygous transgenic mice that have transgene lambda EG10 DNA in both chromosome 17 of C57BL/6J mouse.

Keywords: transgenic mouse, *gpt*, ethylnitrosourea

^{*1} University of Chile

^{*2} Hatano Research Institute

^{*3} Chugai Pharmaceutical Co. Ltd.

Nohmi, T., Suzuki, M., Masumura, K., Yamada, M., Matsui, K., Ueda, O.^{*1}, Suzuki, H.^{*1}, Katoh, M.^{*2}, Ikeda, H.^{*3} and Sofuni, T.: **Spi⁻ selection: An efficient method to detect gamma-ray-induced deletions in transgenic mice.**

Environ. Mol. Mutagen., 34(1), 9-15 (1999)

To facilitate the detection and molecular analysis of deletion mutations *in vivo*, we established a transgenic mouse model using Spi⁻ (sensitive to P2 interference) selection. We showed nucleotide sequences of 41 junctions of deletion mutations induced by gamma-ray-irradiation. More than half of the large deletions occurred between short homologous sequences. The remaining junctions had no such homologous sequences. Two Spi⁻ mutants had P (palindrome)-like nucleotide additions at the breakpoints, which are observed in the coding junctions of V(D)J recombination, suggesting that broken DNA ends with hairpin structures can be intermediates in the repair of radiation-induced double-strand breaks.

Keywords: Spi⁻ selection, transgenic mouse, deletions

^{*1} Chugai Pharmaceutical Co. Ltd.

^{*2} University of Chile

^{*3} Institute of Medical Science, University of Tokyo

Masumura, K., Matsui, K., Yamada, M., Horiguchi, M.^{*1}, Ishida, K.^{*2}, Watanabe, M.^{*2}, Ueda, O.^{*3}, Suzuki, H.^{*3}, Kanke, Y.^{*1}, Tindall, K.R.^{*4}, Wakabayashi, K.^{*2}, Sofuni, T. and Nohmi, T.: **Mutagenicity of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-*b*]pyridine (PhIP) in the new *gpt* delta transgenic mouse.**

Cancer Lett., 143(2), 241-4 (1999)

Gender differences and organ specificity of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP)-induced mutagenesis were examined. The *gpt* delta transgenic mouse model employed the two distinct selections, i.e., 6-thioguanine selection for point mutations and Spi⁻ selection for deletions, respectively. In both selections, the highest mutant frequencies were observed in colon, followed by in spleen and liver. No significant differences in mutant frequencies were observed in colon and liver between male and female mice. The correlation between PhIP-induced mutagenesis and carcinogenesis in colon is discussed.

Keywords: PhIP, 6-thioguanine selection, Spi⁻ selection

^{*1} Tokyo University of Agriculture

^{*2} National Cancer Center Research Institute

^{*3} Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

^{*4} NIEHS, NIH, USA

Horiguchi, M.^{*1}, Masumura, K., Ikehata, H.^{*2}, Ono, T.^{*2}, Kanke, Y.^{*1}, Sofuni, T. and Nohmi, T.: **UVB-induced *gpt* mutations in the skin of *gpt* delta transgenic mice.**

Environ. Mol. Mutagen., 34(2-3), 72-9 (1999)

Ultraviolet light B (UVB)-induced mutagenesis was studied in *gpt* delta transgenic mice. The mice were exposed to UVB at single doses of 0.3, 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0 kJ/m². At 4 weeks after irradiation, the mutant frequencies (MF) of the *gpt* gene were determined in the epidermis and the dermis. The epidermis exhibited a higher sensitivity to UVB than the dermis at doses of 0.3 and 0.5 kJ/m² UVB. The UVB-induced mutation spectrum in the epider-

mis was dominated by G:C to A:T transitions at dipyrimidine sites, such as 5'-TC-3', 5'-CC-3', and 5'-T/C-CG-3'. Tandem transitions such as CC to TT were also observed. In contrast, G:C to A:T transitions at CpG sites and deletions were observed in nonirradiated mice. Hot spots of transitions were observed at different sites in UVB-irradiated and nonirradiated mice. These results indicate that *gpt* delta transgenic mouse is a suitable model for *in vivo* UVB-induced mutations at the molecular level.

Keywords: ultraviolet light B (UVB), *gpt* delta transgenic mouse, epidermis

^{*1} Tokyo University of Agriculture

^{*2} Tohoku University School of Medicine

Okada, N.*, Masumura, K., Nohmi, T. and Yajima, N.*: **Efficient detection of deletions induced by a single treatment of mitomycin C in transgenic mouse *gpt* delta using the Spi⁻ selection.**

Environ. Mol. Mutagen., 34(2-3), 106-11 (1999)

Spi⁻ selection has an advantage to preferentially identify deletions because only lambda phages deficient in both the *red* and *gam* gene functions are allowed to form phage plaques. We examined whether *in vivo* deletions induced by mitomycin C (MMC) are detectable by the Spi⁻ assay in the *gpt* delta transgenic mouse model. The mice were treated with MMC (0.5, 1.0, 2.0, and 4.0 mg/kg, single i.p.) and sacrificed 14 days after the dosing. The treatment at 4.0 mg/kg approximately doubled the Spi⁻ mutant frequency in the bone marrow. The molecular analyses indicated that seven Spi⁻ mutants at 4.0 mg/kg group had deletions with sizes from 0.8 to 8.5 kb, whereas no such deletions were observed in the control group. The results suggest that deletions induced by MMC in the bone marrow are efficiently detectable by Spi⁻ selection and also that the molecular analyses are useful to evaluate the significance of a marginal increase in mutant frequency in the transgenic rodent mutation assays.

Keywords: mitomycin C, *gpt* delta mouse, deletion

* Snow Brand Milk Products Co. Ltd.

Sui, H.*, Suzuki, M., Yamada, M., Hara, T.*, Kawakami, K.*, Shibuya, T.*, Nohmi, T. and Sofuni, T.: **Effects of O⁶-alkylguanine-DNA alkyltransferase deficiency in *Escherichia coli* as the host for the detection of mutations in *lacI* transgenic mice**

Environ. Mol. Mutagen., 34 (2-3):221-6 (1999)

It is known that no mutagenicity of methyl methanesulfonate (MMS) is detected in epididymal sperm in various transgenic mice assays. To investigate whether DNA lesions in mature sperm can be transformed into mutations during replication of lambda phage in *E. coli* cells, we developed strain YG5152, which is a derivative of SCS-8 but is deficient in the genes encoding O⁶-alkylguanine-DNA alkyltransferases. Big Blue™ mice were treated with MMS or ENU and the phages rescued from mature sperm were infected to the *E. coli* strains. The MF of ENU-treated mice in YG5152 was two times higher than that in SCS-8. No increase was observed in the MMS-treated mice even in YG5152. These results suggest that, although YG5152 efficiently detects *ex vivo* mutations, no detectable levels of mutagenic methyl adducts are present in mature sperm of MMS-treated mice.

Keywords: sperm, O⁶-alkylguanine-DNA alkyltransferases, methyl methanesulfonate,

* Hatano Research Institute, Food and drug safety Center

Minowa, O.^{*1}, Arai, T.^{*2}, Hirano, M.^{*1}, Monden, Y.^{*2}, Nakai, S.^{*1}, Fukuda, M.^{*1}, Itoh, M.^{*1}, Takano, H.^{*1}, Hippou, Y.^{*3}, Aburatani, H.^{*3}, Masumura, K., Nohmi, T., Nishimura, S.^{*2} and Noda, T.^{*1}: **Mmh/Ogg1 gene inactivation results in accumulation of 8-hydroxyguanine in mice.**

Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, **97**(8), 4156-61 (2000)

The major mutagenic base lesion in DNA caused by exposure to reactive oxygen species is 8-hydroxyguanine (8-OH-G). Products of the human *MMH/OGG1* gene are known to catalyze *in vitro* the reactions repairing this DNA lesion. To analyze the function of *Mmh* *in vivo*, we generated a mouse line carrying a mutant *Mmh* allele. *Mmh* homozygous mutant mice were found to have lost nicking activity in liver extracts for substrate DNA containing 8-OH-G. Substantial increase of spontaneous mutation frequencies was identified in *Mmh* mutant mice bearing transgenic *gpt* genes. These results indicate that exposure of DNA to endogenous oxidative species produces the mutagenic adduct 8-OH-G in mice, and *Mmh* plays an essential role in repair of this DNA damage.

Keywords: *OGG1*, 8-oxoguanine, transgenic mouse

^{*1} The Cancer Institute, Japanese Foundation for Cancer Research

^{*2} Banyu Tsukuba Research Institute

^{*3} University of Tokyo

Kamataki, T.^{*1}, Suzuki, A.^{*1}, Kushida, H.^{*1}, Iwata, H.^{*1}, Watanabe, M.^{*2}, Nohmi, T. and Fujita, K.^{*1}: **Establishment of a *Salmonella* tester strain highly sensitive to mutagenic heterocyclic amines.**

Cancer Lett., **143**, 113-116 (1999)

A co-expression plasmid (p1A2OR) carrying human CYP1A2 and NADPH-P450 reductase cDNAs and an expression plasmid (pOAT) carrying *Salmonella* TA1538/ARO cells were constructed. The CYP and OAT expressed in the *Salmonella* cells showed catalytic activity. The TA1538/ARO strain exhibited high sensitivity to heterocyclic amines (HCAs) such as 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (MeIQ), 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ), 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (MeIQx), 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) as compared with the parent Ames tester strain TA1538. It is suggested that the intracellular expression of drug-metabolizing enzymes makes the *Salmonella* cells highly sensitive to the HCA.

Keywords: heterocyclic amines, CYP, Ames test

^{*1} Hokkaido University

^{*2} National Cancer Center Research Institute

Wagner, J.^{*}, Gruz, P., Kim, S.-R., Yamada, M., Matsui, K., Fuchs, R.P.P. ^{*} and Nohmi, T.: **The *dinB* gene encodes a novel *E. coli* DNA polymerase, DNA pol IV, involved in mutagenesis.**

Mol. Cell, **4**, 281-286 (1999)

In *Escherichia coli*, the *dinB* gene is required for the SOS-induced lambda untargeted mutagenesis pathway and confers a mutator phenotype to the cell when the gene product is overexpressed. Here, we report that the purified DinB protein is a DNA polymerase. This novel *E. coli* DNA polymerase (polIV) is shown to be strictly distributive, devoid of proofreading activity, and prone to elongate bulged (misaligned) primer/template structures. Site-directed mutagenesis experiments of *dinB* also demonstrate that the polymerase activity of DinB is required for its *in*

vivo mutagenicity. Along with the sequence homologies previously found within the UmuC-like protein family, these results indicate that the uncovered DNA polymerase activity may be a common feature of all these homologous proteins.

Keywords: DNA polymerase, mutagenesis, *Escherichia coli*

^{*} IRCAD CNRS, France

Iwashita, S.^{*}, Nobukuni, T.^{*}, Tanaka, S.^{*}, Kobayashi, M.^{*}, Iwanaga, T.^{*}, Tamate, H.B.^{*}, Masui, T., Takahashi, I.^{*} and Hashimoto, K.^{*}: **Partial nuclear localization of a bovine phosphoprotein, BCNT, that includes a region derived from a LINE repetitive sequence in Ruminantia.**

Biochim Biophys Acta, **1427**: 408-16 (2000)

BCNT, named after Bucentaur, contains a 324-amino-acid region derived from LINE repetitive sequence in Ruminantia. We at first examined cellular localization and biochemical characteristics of bovine BCNT which is missing in human and mouse BCNTs. A significant amount of bovine BCNT is localized in the nuclei, while the major portion is present in the cytosol. Furthermore, bovine BCNT are phosphorylated by casein kinase II *in vitro*.

Keywords: LINE repetitive sequence, nuclear localization, BCNT

^{*} Mitsubishi Kasei Institute of Life Sciences

Oomizu, S.^{*}, Honda, J.^{*}, Takeuchi, S.^{*}, Kakeya, T.^{*}, Masui, T. and Takahashi, S.: **Transforming growth factor-alpha stimulates proliferation of mammatrophs and corticotrophs in the mouse pituitary.**

J. Endocrinol., **165**: 493-501 (2000)

This study pursued the role of transforming growth factor-alpha (TGF-alpha) in the oestrogen-induced growth of mouse pituitary cells *in vitro*. Oestradiol-17beta (OE(2)) and TGF-alpha stimulated mammatrophic and corticotrophic cell proliferation. RG-13022, an EGF receptor inhibitor, inhibited the cell proliferation induced by EGF or OE(2). Treatment with antisense TGF-alpha oligodeoxynucleotide (ODN) inhibited the cell proliferation induced by OE(2), but treatment with antisense EGF ODN did not. OE(2) stimulated TGF-alpha mRNA and EGF receptor mRNA expression. These results indicate that TGF-alpha mediates the stimulatory effect of oestrogen on the pituitary cell.

Keywords: mouse, pituitary, TGF-alpha

^{*} Okayama University

Tanabe, H., Takada, Y., Minegishi, D., Kurematsu, M., Masui, T. and Mizusawa, H.: **Cell line individualization by STR Multiplex system in the cellbank found cross-contamination between ECV304 and EJ-1/T24.**

Tiss. Cult. Res. Commun., **18**, 329-338 (1999)

Recent technical advances have enabled us to analyze multilocus short tandem repeat (STR) regions simultaneously by a method, called STR Multiplex system, that uses a single PCR amplification in one tube. We established a new evaluation system for the identification of cell lines based on an STR Multiplex method that uses 9 different loci: D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, vWA, TH01, Amelogenin, TPOX, and CSF1PO. The STR profiling data from 96 cell lines were examined and an efficiency of this approach for cell standardization was found. We have analyzed the STR profiles of human cell lines, ECV304, EJ-1 and T24, and Cell Cultures to have been cross-contaminated. Our results clearly detect the cross-contamination between

ECV304 and EJ-1/T24. The cross-contamination was estimated to be derived from the T24 cells. Collectively, the STR Multiplex system provides a rapid, precise, and powerful method in cell line identification for quality control at the JCRB Cell Bank.

Keywords: STR Multiplex system, Cell line identification, Cross-contamination

長谷川隆一, 広瀬明彦, 西川秋佳, 紅林秀雄, 江馬 眞, 黒川雄二: ジクロロ酢酸の毒性評価と経口摂取による1日耐容摂取量の算定

水環境学会誌, 22, app 821-826 (1999)

飲料水の消毒副生成物の1つであるジクロロ酢酸は, 1992年にWHO飲料水ガイドラインで水質基準が設定され, 日本でも監視項目として選定された。その後, 1998年には, それぞれで改訂が行なわれた。本報告では, これらの基準設定の根拠となった毒性情報に最新の知見を加え, 経口摂取に対するジクロロ酢酸の耐容一日摂取量(TDI)を再評価した。

Keywords: dichloroacetic acid, toxicity evaluation, drinking water, tolerable daily intake

Hirose A, Nishikawa A, Kinae N*, Hasegawa R: **Toxicological properties of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) and the risk assessment in drinking water**

Rev. Environ. Health, 14, 103-120 (1999)

MX(3-Chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone)は, 水道の塩素消毒処理の過程で生じる副生成物の一つであるが, サルモネラを使ったAmes試験において強力な変異原性を示す物質としても知られている。MXは, 各国で飲料水中に数十ppbオーダーで検出されていると共に, 近年ラットに対して発がん性があることが報告され, ヒトの健康影響に対する評価を行うことが急務となっている。本報告ではMXの毒性影響に関する情報を毒性の種類ごとに分類し, 各毒性に対してNOAEL(またはLOAEL), 発がん性に関してはユニットリスクを算出した。さらに, 各々に対するTDI(tolerable daily intake)とVSD(virtual safety dose)を算出し, 飲料水中におけるMXの安全性を評価した。

Keywords: disinfectant by-product, carcinogen, tolerable daily intake(TDI), virtual safety dose(VSD)

* 静岡県立大学

岩上正蔵*¹, 山下治夫*¹, 岡田敏史: 液体クロマトグラフ法における「システムの再現性」について

医薬品研究, 29, 544-549(1998)

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は, 操作条件中に「試験の再現性」として「相対標準偏差〇〇%以下」と規定されている。これらの規定にあたって, 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ことを指摘し, その規定にあたっては, 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を考慮して規定すべきことを考察した。

Keywords: system repeatability, system suitability, Japanese Pharmacopoeia

*¹ 大阪府立公衆衛生研究所薬事指導部

Miyazaki, T., Yomota, C. and Okada, S.: **Depolymerization of hyaluronate by the phototoxic drugs phenothiazines and sulfacetamide**

Colloid Polym. Sci. 278, 84-89 (2000)

Phenothiazine and sulfacetamide, known as phototoxic drugs, depolymerized aqueous sodium hyaluronate (HA) in the light state. The depolymerization was followed by SEC equipped with a low-angle laser light scattering. The molecular weight of HA practically unchanged without UV irradiation in the presence of drugs, or with UV irradiation in the absence of drugs. It indicated that these drugs required photo energy to yield any kind of damaging chemical species for HA depolymerization. We investigated the reactive species by use of some radical scavengers and elimination of oxygen. Promazine and promethazine depolymerized HA through active oxygen radicals, because the depolymerization was inhibited under anaerobic condition. Further, since the reaction was controlled by mannitol, hydroxyl radical was supposed as the damaging active oxygen. Chlorpromazine and sulfacetamide preferably depolymerized HA under anaerobic condition, therefore, the participation of hydrated electron was proposed.

Keywords: hyaluronate, depolymerization, phototoxic drugs

Yomota, C. Tagashira, Y. Okada, S. Hayashi, Y. Matsuda, R: **Prediction of Measurement Precision by Chemometric Invalidation of Flow Pulsation in Refractive Index Detection of Liquid Chromatography**

Analytical Sciences, 15, 549-554(1999)

The standard deviation and relative standard deviation of measurements in the refractive index detection of liquid chromatography are predicted based on 1/f fluctuation model which is made up of white noise and the markov process. First repeated measurement and Monte Carlo simulation corroborate the repeatability of this prediction in the absence of flow pulsation. Pulsation, if any, can be distinguished in the frequency space from the 1/f noise which is common to most analytical instruments. In this case, the uncertainty prediction is also available without modifying the prediction theory, if a zero window is set at the time period of a fundamental tone of the pulsation.

Keywords: precision, uncertainty, refractive index detector

四方田千佳子, 田頭洋子, 勝峰万里*, 岩木和夫*, 松田りえ子, 林 謙: クロマトグラフィ分析における適切なデータ取り込み間隔について 1.適切なデータ取り込み間隔の推定

分析化学, 49, 225-231 (2000)

HPLCとイオンクロマトグラフにおいてデータ取り込み間隔を変化させた場合の, 測定精度の変化を調べた。測定精度はFUMI理論に基づいて, 繰り返し測定なしにピークの形とノイズの確率論的性質から予測した。ピークの形を正確に観測するためには, データ取り込み間隔はピーク領域で最低約30データポイントが必要であることが明らかとなった。クロマトグラムを保存するメモリ容量と測定精度を考慮すると, ピーク領域のデータポイントは30-50くらいになるように設定することが適切であると結論した。

Keywords: chromatography, precision, sampling intervals

* (株)荏原総合研究所

Saito, H., Kawagishi A.,*, Tanaka, M.*, Tanimoto, T., Okada, S., Komatsu, H.* and Handa, T.*: **Coalescence of lipid emulsions in floating and freeze-thawing processes: examination**

of the coalescence transition state theory*J. Colloid Interface Sci.* 219, 129-134 (1999)

エマルションの物理化学的な安定性に及ぼす表面脂質やコア脂質の影響について、粒子表面膜の自発的曲率の点から議論した。一般にトリグリセライド-リン脂質系の脂質エマルションは物理化学的に安定であるが、アシル鎖が不飽和脂肪酸から成るリン脂質やコレステロールなどの負の曲率を持つ表面脂質をエマルションに加えると、超遠心による負荷や凍結融解過程で粒子間の凝集による粒子径の増大が観察された。また蛍光プローブによる脂質混合実験の結果、粒子の凝集は表面脂質膜の融合を伴っていることが確認された。さらに、トリグリセライドのアシル鎖長によっても粒子の安定性が変化することを見出した。これらエマルション粒子の凝集・融合過程を、Kabalinovらの coalescence transition state theory から議論した。

Keywords: emulsions, phospholipid, coalescence

* 京都大学大学院薬学研究所

谷本 剛, 斎藤博幸, 前川京子, 北島 文, 岩田美保, 岡田敏史, 石井 清*1, 海老名甲一*1, 穂積 宏*2, 宮本一夫*2, 八重津昌孝*3, 樋口 登*3, 大山美宏*4, 岩本正人*4: 国立医薬品食品衛生研究所組織培養ウロキナーゼ標準品新規設定のための品質評価

医薬品研究, 30, 289-294 (1999)

国立医薬品食品衛生研究所組織培養ウロキナーゼ標準品を新規に設定した。標準品原料は5機関の共同検定によって、免疫化学的、物理化学的、酵素化学的に評価した。二重免疫拡散法によって、標準品原料は抗組織培養ウロキナーゼ血清に対して一本の沈降線を形成し、この沈降線はヒト尿由来ウロキナーゼの沈降線と融合することを認めた。ゲル浸透HPLC法で求めた標準品原料の分子量は30,700 ± 400と推定された。二段法で求めたウロキナーゼ力価は1バイアル当たり8,221 ± 582単位であった。

これらの結果に基づいて、本標準品原料を初回の国立医薬品食品衛生研究所組織培養ウロキナーゼ標準品 (Control 981) とすることとし、1バイアル当たり8,200単位を含有すると認定した。

Keywords: Tissue culture urokinase, Urokinase, NIHS reference standard

*1 ダイナボット株式会社, *2 大日本製薬株式会社,

*3 杏林製薬株式会社, *4 三菱化学株式会社

Saito, H. and Handa, T.*: Structure and dynamics of surface monolayers in lipid emulsions and their role in apolipoprotein binding

Curr. Topics Colloid Interface Sci. 3, 19-33 (1999)

血漿リポ蛋白質が分泌されてから異化されるまでの過程で起こる主要な脂質組成変化は、表面コレステロールとコア中のコレステリルエステル増加である。リポ蛋白質モデル粒子として脂質エマルションを用い、コレステロール及びそのエステルによる粒子構造の変化を詳細に検討した結果、コレステロールは表面膜アシル鎖の運動性を、コレステリルエステルはコアの流動性をそれぞれ低下させることで粒子構造に変化を与え、結果としてアポリポ蛋白質の結合性を制御していることが明らかとなった。

Keywords: emulsions, lipoproteins, apolipoprotein

* 京都大学大学院薬学研究所

Nakamura, Y., Tsumura, Y., Tonogai, Y., Shibata, T.: Fecal steroid excretion is increased in rats by oral administration

of gymnemic acids contained in *Gymnema sylvestre* leaves

J. Nutr., 129, 1214-1222 (1999)

The effects of gymnemic acids on fecal steroid excretion were investigated in rats. Three kinds of extracts from *Gymnema sylvestre* leaves, extract (GSE), acid precipitate (GSA) and column fractionate (GSF), of which the gymnemagenin (an aglycone of gymnemic acids) concentrations are 58.87, 161.6, and 363.3 mg/g respectively, were administered to rats orally at the dose of 0.05-1.0 g/kg for 22 d. GSA and GSF decreased body weight gain and food intakes in a dose-dependent manner ($P < 0.01$). GSF (1.0 g/kg) significantly increased fecal excretion of neutral steroids and bile acids in a dose-dependent manner ($P < 0.05$). The increases in fecal steroid excretion of cholesterol, total neutral steroids, total bile acids and cholic acid (CA)-related bile acids were acute and significantly correlated with fecal gymnemagenin levels ($r^2 = 0.2316-0.9861$, $P < 0.05$). These results demonstrated for the first time that a high dose of gymnemic acids increases fecal cholesterol and CA-derived bile acid excretion.

Keywords: gymnemic acids, cholesterol, bile acids

Yoshii, K., Okada, M., Tsumura, Y., Nakamura, Y., Ishimitsu, S. and Tonogai, Y.: Supercritical Fluid Extraction of Ten Chloracetanilide Pesticides and Pyriminobac-methyl in crops: comparison with the Japanese Bulletin method

J. AOAC Int., 82, 1239-1245 (1999)

In Japan, the maximum residue limit and an analytical bulletin method for alachlor and pyriminobac-methyl were recently published. Because this method has some problems, such as many interfering chromatographic peaks for some residues in certain crops, time-consuming sample preparation and so forth, we have developed an alternative method. In the developed method, pesticides are extracted by SFE and directly cleaned up with a trap column consisting of Extrelut and Florisil (acetone/n-hexane 3:7 as eluent) or Bond Elut SAX and PSA (acetone/n-hexane 1:1 as eluent). The test solution was quantitatively determined by GC/MS. Average recoveries of spiked samples (0.1 ppm) were between 52 and 104 % with the bulletin method, and between 68 and 106 % with the developed method.

Keywords: SFE, GC/MS, pesticide

Amakura, Y., Miyake, M.*1, Ito, H.*1, Murakaku, S.*1, Araki, S.*1, Itoh, Y.*1, Lu, C.-F.*2, Tang, L.-L.*2, Yen, K.-Y.*2, Okuda, T.*1 and Yoshida, T.*1: Acalyphidin M1, M2 and D1, ellagitannins from *Acalypha hispida*

Phytochemistry, 50, 667-675 (1999)

Two new monomeric hydrolysable tannins, acalyphidins M1 and M2, together with fourteen known polyphenols were isolated from the leaves of *A. hispida*, and characterized as 1-O-galloyl-3,6-(R)-hexahydroxydiphenoyl-4-O-breviforincarboxyl-b-D-glucose, and oxidative metabolite of geraniin, respectively, by spectroscopic and chemical methods. A new hydrolysable tannin dimer, acalyphidin D1, which is composed of two moles of geraniin, was also isolated and characterized as an acetonol derivatives.

Keywords: *Acalypha hispida*, Euphorbiaceae, Tannins

*1 岡山大学

*2 Graduate Institute of Pharmacognosy, Taipei Medical College

Yoshida, T.*1, Amakura, Y., Yokura, N.*1, Ito, H.*1, Isaza, J.

H.^{*2}, Ramirez, S.^{*2}, Pelaez, D.P.^{*2} and Renner, S.S.^{*3}:
Oligomeric hydrolysable tannins from *Tibouchina multiflora*

Phytochemistry, 52, 1661-1666 (1999)

Two hydrolysable tannins, nobotanins O and P, were isolated from the leaf extract of *T. multiflora* and their dimeric and tetrameric structures elucidated on the basis of spectral data and chemical correlations with nobotanins B and K, respectively. Thirteen known hydrolysable tannins including nobotanins A, B, C and J, which are oligomers characteristic of the Melastomataceae, were also isolated.

Keywords: *Tibouchina multiflora*, Melastomataceae, Ellagitannin oligomer

^{*1} 岡山大学

^{*2} Facultad de Tecnologia, Universidad Tecnologica de Pereira

^{*3} Missouri Botanical Garden, Biology Department, University of Missouri-St Louis

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K.: **Suppression of uterine decidualization as a cause of implantation failure induced by triphenyltin chloride in rats**

Arch. Toxicol., 73, 175-179 (1999)

In our previous study, triphenyltin chloride (TPTCl) was found to induce implantation failure, preimplantation embryonic loss, in rats. In this study, the effects of TPTCl on the uterine function, as a cause of implantation failure, were determined using pseudopregnant rats. Female rats were given TPTCl by gastric intubation at 0, 3.1, 4.7 or 6.3 mg/kg on pseudopregnant day (PPD) 0 to PPD 3 and the decidual cell response was induced on PPD 4. The uterine weight on PPD 9 served as an index of the uterine decidualization. A significant decrease in the uterine weight, which indicates suppression of the uterine decidualization, was detected at 4.7 and 6.3 mg/kg. In our previous study, these doses induced a significant increase in implantation failure in female rats given TPTCl on gestational day (GD) 0 to 3. The ovarian weight and number of corpora lutea in the TPTCl-treated groups were comparable to the controls. A significant decrease in the serum progesterone levels after administration of TPTCl was found at 4.7 and 6.3 mg/kg. These findings suggest that implantation failure due to TPTCl may be mediated via the suppression of uterine decidualization correlated with the reduction in serum progesterone levels.

Keywords: triphenyltin, implantation failure, decidual cell response

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K.: **Adverse effects of diphenyltin dichloride on initiation and maintenance of pregnancy in rats**

Toxicol. Lett., 108, 17-25 (1999)

Following successful mating, female rats were given DPTCl by gastric intubation at 0, 4.1, 8.3, 16.5, 24.8 or 33.0 mg/kg on days 0-3 or days 4-7 of pregnancy. Female rats were sacrificed on day 20 of pregnancy and pregnancy outcome was determined. The pregnancy rate was significantly decreased after administration of DPTCl on days 0-3 at 24.8 mg/kg and on days 4-7 at 33.0 mg/kg. The incidence of preimplantation loss was significantly increased after administration on days 0-3 at 16.5 mg/kg and above and on days 4-7 at 33.0 mg/kg. In females having implantations, the numbers of implantations and live fetuses and the incidences of pre- and postimplantation loss in the groups given

DPTCl on days 0-3 were comparable to the controls. The incidence of postimplantation loss was significantly increased after administration of DPTCl on days 4-7 at 33.0 mg/kg. A pair-feeding study revealed no evidence of pre- and postimplantation embryolethality induced by food restriction. It could be concluded that DPTCl during early pregnancy causes early embryonic loss and DPTCl has greater effects on reproduction when administered during earlier than later stages of blastogenesis.

Keywords: diphenyltin, embryonic loss, implantation failure

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K.: **Developmental effects of plasticizer butyl benzyl phthalate after a single administration in rats**

J. Appl. Toxicol., 19, 357-365 (1999)

The objective of this study was to determine the susceptible day for the developmental toxicity of butyl benzyl phthalate (BBP) by a single administration on one of the days during organogenesis. Pregnant rats were given a single dose of BBP by gastric intubation at 1000 mg/kg on one of days 13-15 of pregnancy and at 1500 mg/kg on one of days 6-16 of pregnancy. Postimplantation embryolethality was found in pregnant rats given on one of days 6-16, except for day 7. Teratogenicity was noted after a single dosing of BBP on one of days 6, 7, 9, 10, 12, 14 and 15. Deformity of the cervical vertebrae was frequently observed after administration of BBP on day 7. Cleft palate and fusion of the sternbrae were exclusively found after administration of BBP on day 15. It can be concluded that the manifestation of deviant development induced by BBP varies with the developmental stage at the time of administration and that BBP induces two discrete responses from embryos to teratogenicity during early and late organogenesis.

Keywords: butyl benzyl phthalate, teratogenicity, embryolethality

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K.: **Effects of dibutyl phthalate on reproductive function in pregnant and pseudopregnant rats**

Reprod. Toxicol., 14, 13-19 (2000)

In our previous studies, dibutyl phthalate (DBP) was found to be embryolethal and teratogenic in rats. In this study, the effects of DBP on reproductive function were investigated on pregnant and pseudopregnant rats. Rats were given DBP by gastric intubation at 0, 250, 500, 750, 1000, 1250 or 1500 mg/kg on days 0 to 8 of pregnancy and the pregnancy outcome was determined on day 20 of pregnancy. The same doses of DBP were given to pseudopregnant rats, with an induced decidual cell response, on days 0 to 8 of pseudopregnancy and the uterine weight on day 9 served as an index of the uterine decidualization. DBP caused significant increases in the incidences of preimplantation loss in females successfully mated at 1250 and 1500 mg/kg and of postimplantation loss in females having implantations at 750 mg/kg and above. The uterine decidualization in pseudopregnant rats was significantly decreased at 750 mg/kg and above. These findings suggest that early embryonic loss due to DBP may be mediated, at least in part, via the suppression of uterine decidualization, an impairment of uterine function.

Key Words: dibutyl phthalate, early embryonic loss, decidual cell response

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K.: **Critical period for adverse effects on development of reproductive system in male offspring of rats given di-n-butyl phthalate during**

late pregnancy

Toxicol. Lett., **111**, 271-278 (2000)

Pregnant rats were given dibutyl phthalate (DBP) by gastric intubation at 1000 or 1500 mg/kg on days 12-14 or days 18-20 of pregnancy or at 500, 1000 or 1500 mg/kg on days 15-17 of pregnancy. A significant increase in the number of resorptions per litter was found in the groups given DBP at 1500 mg/kg on days 12-14 and days 15-17 of pregnancy. The weights of male and female fetuses were significantly decreased in the groups given DBP at 1000 and 1500 mg/kg on days 12-14 and days 18-20 and at 1500 mg/kg on days 15-17. A significant increase in the incidence of fetuses with undescended testes was found at 1500 mg/kg on days 12-14 and at all doses on days 15-17. A significant decrease in the anogenital distance (AGD) of male fetuses was observed in the groups treated with DBP regardless of the days of treatment. The AGD/body weight ratio in male fetuses was significantly reduced in the groups given DBP on days 15-17, but neither on days 12-14 nor days 18-20. The AGD of female fetuses in the DBP-treated groups was comparable to that in the control group. It was concluded that period of days 15-17 of pregnancy was the most susceptible for DBP-induced undescended testes and decreased AGD in male offspring.

Keywords: dibutyl phthalate, anogenital distance, undescended testes

村井敏美, 中川ゆかり, 前田秀子, 川島邦夫, 田中重則^{*1}, 田村弘志^{*1}, 土谷正和^{*2}, 高岡文^{*2}, 松川正之^{*3}, 堀内善信^{*4}: 国立医薬品食品衛生研究所標準品「エンドトキシン100標準品」の新規設定

医薬品研究, **31**, 75-79 (2000)

バイアル当たりのエンドトキシン充填量をより少量としたエンドトキシン標準品を新規に設定するため, その候補品を製造し, 評価した結果, 当該候補品は十分な保存安定性を備えていることが確認され, 5機関による共同検定で力価120 EU/バイアルと定められた。これらの成績に基づき, 同候補品を国立医薬品食品衛生研究所標準品「エンドトキシン100標準品」の初回ロットとして認定した。

Keywords: Endotoxin, NIHS reference standard, Stability, Potency

^{*1} 生化学工業 (株)

^{*2} 和光純薬工業 (株)

^{*3} 第一化学薬品 (株)

^{*4} 国立感染症研究所

芝野真喜雄^{*1}, 川瀬さおり^{*1}, 村上理恵^{*1}, 喜多俊二^{*1}, 草野源次郎^{*1}, 柴田敏郎, 島山好雄, 縣 功^{*2}: ウラルカンゾウ (*Glycyrrhiza uralensis*) 栽培のための基礎研究 (1)

Natural Medicines, **54** (2), 70-74 (2000)

日本の環境に適応したウラルカンゾウを選抜する目的で, 6系統を3年間栽培して比較した結果, 北海道医療大学系統ならびに北海道薬用植物栽培試験場系統の2系統が, 収量やグリチルリチン含量の面で栽培品種としての適性を備えた系統であることが判明した。

Keywords: *Glycyrrhiza uralensis*, cultivation, glycyrrhizin contents

^{*1} 大阪薬科大学

^{*2} 北海道医療大学

Minami, M., Mia, Md W., Sakai, E., Nishi, K., Satake, M.,

Kondo, S.*¹, Nunoura, Y.*¹ and Shibata, T.: Variation in Flowering Date, Shoot Growth and Contents of Choleric Substances in Capitulum in *Artemisia capillaris* Collected from Various Locations in Japan

Plant Production Science, **2** (4), 241-246 (1999)

生薬インテンコウの基原植物であるカワラヨモギについて, 日本の10地点に野生する植物を採取し, 筑波にて比較栽培した結果, 低緯度地方に自生する系統ほど, 開花期が遅れ花穂や茎葉重量が増加するが活性成分含量には差がないこと, 地上部の生育量や活性成分含量の集団内変異が大いことが判明した。また, 多変量解析の結果, 4つのグループに分かれることも判明した。

Keywords: *Artemisia capillaris*, capillarisin, 6,7-dimethylesculetin

* 小太郎漢方製薬(株) 研究所

Minami, M., Mia, Md W., Sakai, E., Nishi, K., Satake, M., Kondo, S.*¹, Oka, K.*¹, Tabei, Y.*², Koga-Ban, Y.*², Kayano, T.*² and Shibata, T.: The Difference of flowering date, flower head size, choleric substances content and molecular characters between erect and prostrate-growth forms of *Artemisia capillaris* in Japan

J. Phytogeogr. Taxon., **47** (1), 1-15 (1999)

カワラヨモギについて, 日本の18地点の野生植物を比較栽培し, また, 国立科学博物館所蔵の62点のさく葉標本を調査した結果, 河岸に野生するものは直立型, 海岸のものは多くがほふく型となり, ジメチルエスクレチン含量は直立型が有意に高いことが判明した。また, 葉緑体DNAのDIG-RAPD分析の結果, 河岸型と海岸型の2グループに分かれた。

Keywords: *Artemisia capillaris*, growth form, DIG-RAPD

^{*1} 小太郎漢方製薬(株) 研究所

^{*2} 農林水産省生物資源研究所

Mia, Md W., Sakai, E., Minami, M., Anetai, M.*¹, Aoyagi, M.*¹ and Shibata, T.: Root Growth of *Astragalus mongholicus* and *A. membranaceus* as Affected by Soil Compaction

Natural Medicines, **53** (6), 302-307 (1999)

生薬黄耆の基原植物キバナオウギ, ナイモウオウギについて, 塩化ビニールパイプを用いて栽培し, 根の生育・成分に及ぼす土壌硬度の影響を検討した結果, 両種ともに10kg cm⁻²以上の土壌硬度条件では, 主根の伸長や分枝根の発生に影響が認められ, 特にキバナオウギにおいて, その反応がより敏感であること, アストラガロサイドおよび希エタノールエキス含量は土壌硬度が低下するにつれて増加することを明らかにした。

Keywords: *Astragalus mongholicus*, *Astragalus membranaceus*, soil penetration resistance

* 北海道立衛生研究所

Shibano, M.*¹, Nukui, H.*¹, Kita, S.*¹, Kusano, G.*¹, Shibata, T., Watanabe, H.*² and Ohashi, H.*³: Studies on Index Compound for HPLC Analysis of *Glycyrrhiza macedonica*

Natural Medicines, **53** (4), 166-172 (1999)

生薬甘草の基原植物である *Glycyrrhiza* 属植物について, 指標成分による同定を行う研究の一環として, 今回, 地上部の形質より同定した *Glycyrrhiza macedonica* の MeOH エキスの HPLC 分析により, 地上部から7種, 地下部から5種の成分を単離同定し, その内4種を新規化合物として報告した。

Keywords: *Glycyrrhiza macedonica*, MeOH extract

^{*1} 大阪薬科大学

*² 武田薬品工業*³ 東北大学理学部**Hosokawa, K., Oikawa, Y.*, Yamamura, S.*: Clonal propagation of *Wasabia japonica* by shoot tip culture.***Planta Medica* 65 (7), 676 (1999)

ワサビの優良系統真妻の茎頂培養方法について検討した。その結果、サイトカイニンとして 1 mg/l BA の条件が最も優れていることを見出した。オーキシンの併用ではその効果が認められなかった。増殖したシュートはホルモンフリーの条件下で容易に発根し順化することができた。この最適条件では 1 本のシュートから 1 年間に 50,000 本のシュートを増殖できることができた。

Keywords: micropropagation, *Wasabia japonica*

* (財) 岩手生物工学研究センター

Honda, K.*, Tsutsui, K.*, Hosokawa, K.: Analysis of the flower pigments of some *Delphinium* species and their interspecific hybrids produced via ovule culture.*Scientia Horticulturae* 82, 125-134 (1999)

子房培養により作出したデルフィニウム属植物の種間雑種 (*D. cardinale* x *D. grandiflorum* と *D. grandiflorum* x *D. nudicaule*) についてその花色成分であるアントシアニンを調査し、花色発現の遺伝と共にデルフィニウム属植物の育種の可能性について検討した。

Keywords: *Delphinium*, flower pigments, hybridization breeding

* 北海道大学

Hosokawa, K., Minami, M., Kawahara, K.*¹, Nakamura, I.*², Shibata, T.: Discrimination among three species of medicinal *Scutellaria* plants using RAPD markers.*Planta Medica* 66, 270-272 (2000)

形態的に似ている薬用植物である *Scutellaria* 属植物 3 種 (*S. baicalensis*, *S. galericulata*, *S. lateriflora*) を RAPD 法を用いて識別することについて検討した。その結果、検討した 10 種類のプライマーの内 3 種類のプライマーで 3 種の *Scutellaria* 属植物の識別を可能にするための種特異的バンドを見いだした。

Keywords: RAPD marker, *Scutellaria*

*¹ 日野薬品*² 千葉大学**Hosokawa, K., Matsuki, R.*, Oikawa, Y.*, Yamamura, S.*: Production of transgenic gentian plants by particle bombardment of suspension-culture cells.***Plant Cell Reports*, 19 (5), 454-458 (2000)

リンドウ (品種 Polarno white) の形質転換をパーティクルガンにより行った。葉外植片からカルスを誘導し、懸濁培養細胞を調製した。この懸濁培養細胞にパーティクルガンを行い、ハイグロマイシン耐性カルスの選抜・再分化により、ハイグロマイシン耐性リンドウを作出した。形質転換リンドウの確認はサザン解析により実施した。

Keywords: Gentian, Particle bombardment, Transformation

* (財) 岩手生物工学研究センター

Washida, D.*¹, Shimomura, K., Nakajima, Y.*², Takido, M.*¹ and Kitanaka, S.*¹: Ginsenosides in hairy roots of a *Panax* hybrid*Phytochemistry*, 49, 2331-2335 (1998)

Hairy roots of an interspecific hybrid ginseng (*Panax ginseng*

x *P. quiquefolium*), named Pqg, were established by the infection of *Agrobacterium rhizogenes* ATCC 15834. Growth and ginsenosides content of hairy roots cultured in various basal liquid media were measured periodically from 2 to 8 weeks. In Gamborg B5 liquid medium, the hairy roots showed best growth (5.87 g fresh weight per flask) at week 8. The highest content of ginsenoside was 2.87 % as dry weight at week 8 when cultured in 1/8 Murashige-Skoog liquid medium. The ginsenoside content of Pqg hairy roots was comparable to that of Pqg root cultivated in the field. However the highest yield of ginsenosides was obtained in B5 liquid medium (3.85 mg per flask at week 8).

Keywords: *Panax ginseng*, *P. quiquefolium*, hairy root

*¹ 日本大学*² 長野農業技術研修センター**Gondo, M.*¹, Tanaka, N.*¹, Tanaka, T.*², Shimomura, K., Nakanishi, F.*³ and Ishimaru, K.: A naphthalene glycoside from callus cultures of *Diospyros kaki****Phytochemistry*, 51, 879-881 (1999)

Calli of *Diospyros kaki* Thunb. were induced on half-strength Murashige-Skoog solid medium supplemented with 1.0 mg/l IAA and 0.1 mg/l BA in the dark and successfully subcultured on the same medium. A new phenolic metabolite, 7-methyl-1, 4, 5-trihydroxy-naphthalene 4-O-(6'-O-β-xylopyranosyl)-β-glucopyranoside, was isolated from MeOH extract of the callus cultures and the chemical structure elucidated by NMR spectroscopic evidences.

Keywords: *Diospyros kaki*, callus, naphthalene

*¹ 佐賀大学*² 長崎大学*³ 東京学芸大学**Nishikawa, K.*¹, Furukawa H.*¹, Fujioka, T.*², Fujii, H.*², Mihashi, K.*², Shimomura, K. and Ishimaru, K.*¹: Phenolics in tissue cultures of *Scutellaria****Natural Medicines*, 53, 209-213 (1999)

Concentrations of eight phenolics, acteoside (1), baicalin (2), wogonin 7-glucuronide (3), baicalein (4), wogonin (5), skullcapflavone I (6), skullcapflavone II (7) and chrysin (8) in shoot cultures of nine *Scutellaria* species were determined. The nine species were classified into four groups on the basis of the major phenolics in shoot cultures, i. e., (A) *S. iyoensis* and *S. ventenatii* of which major phenolics were 1, 3 and 5, (B) *S. lateriflora* of which major phenolics were 4 and 5, (C) *S. incana*, *S. orientalis* and *S. taurica* of which major phenolics were 3 and 5 and (D) *S. pontica*, *S. galericulata* and *S. alpina* of which major phenolic was 1. On the other hand, callus cultures of seven *Scutellaria* species produced 1 as the major phenolic of which the maximum concentration was 4.04 % in the light and 4.06 % in the dark in *S. iyoensis* callus.

Keywords: *Scutellaria*, *Lamiaceae*, shoot culture

*¹ 佐賀大学*² 福岡大学**Sommer, S.*¹, Köhle, A.*¹, Yazaki, K.*², Shimomura, K., Brechthold, A.*¹ and Heide, L.*¹: Genetic engineering of shikonin biosynthesis hairy root cultures of *Lithospermum erythrorhizon* transformed with the bacterial *ubiC* gene***Plant Molecular Biology*, 39, 683-693 (1999)

The biosynthetic pathway to 4-hydrobenzoate (4HB), a precursor of the naphthoquinone pigment shikonin, was modified in

Lithospermum erythrorhizon hairy root cultures by introduction of the bacterial gene *ubiC*. This gene of *Escherichia coli* encodes chorismate pyruvate-lyase (CPL), an enzyme that converts chorismate into 4HB and is not normally present in plants. The *UbiC* gene was fused to the sequence for a chloroplast transit peptide and placed under control of a constitutive plant promoter. This construct was introduced into *L. erythrorhizon* by *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation. The resulting hairy root cultures showed high CPL activity. 4HB produced by the CPL reaction was utilized for shikonin biosynthesis, as shown by *in vivo* inhibition of the native pathway to 4HB with 2-aminoindan-2-phosphonic acid (AIP), an inhibitor of phenylalanine ammonia-lyase. A feeding experiment with [1,7-¹³C₂] shikimate showed that in the absence of AIP the artificially introduced CPL reaction contributed ca. 20 % of the overall 4HB biosynthesis in the transgenic cultures. *ubiC* transformation did not lead to a statistically significant increase of shikonin formation, but to 5-fold increase of the accumulation of menisdaurin, a nitrile glucoside which is presumably related to aromatic amino acid metabolism.

Keywords: *Lithospermum erythrorhizon*, *UbiC*, shikonin

*¹ Pharmazeutisches Institut, Universität Tübingen

*² 京都大学

Tanaka, N.*, Shimomura, K. and Ishimaru, K.*: **Antioxidative and radical scavenging activities of *Cornus capitata* Japanese. *J. of Food Chemistry*, 6, 48-52 (1999)**

Antioxidative and radical scavenging activities of methanol extract of *C. capitata* adventitious roots, cultured in the medium with various concentrations of Cu²⁺, were investigated. The activities of the root extract were compared to those of gallic acid and related metabolite (galloylglucoses) standards.

Keywords: *Cornus capitata*, galloylglucose, antioxidation

* 佐賀大学

Nishikawa, K.*¹, Furukawa, H.*¹, Fujioka, T.*², Fujii, H.*², Mihashi, K.*², Shimomura, K. and Ishimaru, K.*¹: **Flavone production in transformed root cultures of *Scutellaria baicalensis* Georgi**

Phytochemistry, 52, 885-890 (1999)

A new flavone derivative 5, 2'-dihydroxy-6, 7, 8, 3'-tetramethoxyflavone, together with two known phenolics skullcapflavone I and acteoside (3), was isolated from *Scutellaria*

baicalensis transformed roots (clone C) in which β -glucuronidase gene has been integrated by the infection with *Agrobacterium rhizogenes* A13. Another transformed roots (clone W) were also induced by the infection with *A. rhizogenes* ATCC 15834 (wild type). Both clones C and W, cultured in phytohormone-free BF liquid medium, produced 3 at high content (maximum; clone C: 1.807 % and clone W: 2.962 %, dry weight) under the light and dark conditions. The contents of glucuronide-type flavonoids such as baicalin and wogonin 7-O-glucuronide in clone W were almost three-times larger than those in clone C. Compound 3, which was not detected in the intact plant roots, was also accumulated in leaf (0.233 %, dry weight) and root (0.681 %, dry weight) portions of *in vitro* cultured plantlets.

Keywords: *Scutellaria baicalensis*, β -glucuronidase, hairy root

*¹ 佐賀大学

*² 福岡大学

Matsuura, E.*, Shimomura, K. and Ishimaru, K.*: **Flavonoid and polyacetylene from *Pratia nummularia* Natural Medicines**, 54, 44 (2000)

From the aerial parts of *Pratia nummularia*, four flavonoids (diosmin, linarin, apigenin 7-O-rutinoside and luteolin 7-O-rutinoside) and a polyacetylene (lobetyolin) were isolated and their chemical structures were characterized by NMR spectroscopic data.

Keywords: *Pratia nummularia*, flavonoid, polyacetylene

* 佐賀大学

Nishikawa, K.*¹, Munechika, T.*¹, Ibaraki, M.*¹, Fujioka, T.*², Fujii, H.*², Mihashi, K.*², Shimomura, K. and Ishimaru, K.*¹: **New benzoxepin glucoside from transformed root cultures of *Helianthus annuus* L.**

Natural Medicines, 54 (2), 93-96 (2000)

A new benzoxepin glucoside was isolated from *Helianthus annuus* L. root transformed with *Agrobacterium rhizogenes* MAFF 03-01724, and its chemical structure was elucidated by NMR spectroscopic analysis. From the *H. annuus* transformed root, two quinic acid derivatives, 3-O-caffeoyl quinic acid (chlorogenic acid) and 3,5-di-O-caffeoyl quinic acid, were also isolated.

Keywords: *Helianthus annuus*, hairy root, benzoxepin

*¹ 佐賀大学

*² 福岡大学

青柳伸男：品質の再評価—一評価法

カレントセラピー, 17, 103-108 (1999)

後発医薬品の溶出試験による品質再評価に関して、その目的は先発品と後発品の生物学的同等性を保証することにあることを述べ、生物学的同等性の観点から品質評価の妥当性を紹介した。即ち、生理学的変動域のpHで溶出試験を実施し、先発品と後発品の溶出速度に差がなければ、バイオアベイラビリティにもほぼ差がないと考えられ、品質再評価を効率的に行うには、溶出試験により同等性を確認するのが適していることを述べた。

Keywords: generic drug, dissolution test, reevaluation

青柳伸男：溶出試験の変動要因と適格性保証

日病薬誌, 35, 1589-1592 (1999)

溶出試験の結果は施設間で異なりやすいこと、その理由として制御しにくい変動要因が多いことを述べ、その中での脱気、振動は重要な要因となり得ることを紹介した。そして、溶出試験の適格性を保証するためには、メカニカルな検証、カリブレータを用いた検証、SOPの整備が大切であることを述べた。

Keywords: dissolution test, validation, calibrator

鹿庭なほ子, 尾島善一*1：医薬品の分析法の真度及び精度を評価するための実験計画①

Pharm Tech Japan, 16(3), 171-179 (2000)

分析を実施する試験室の実態を踏まえた分析法バリデーションのあり方について、特に真度及び精度の評価方法について解説を行った。分析法の評価は、併行精度を基に行うのではなく、室内再現精度を基に行うべきであること、真度及び精度の正確な推定値を得るためには、十分な標本サイズで実験を行う必要があることを、説いた。また、分析法バリデーション用の試料の調製についても考察した。

Keywords: Analytical validation, Trueness, Intermediate precision

*1 東京理科大学理工学部

鹿庭なほ子, 尾島善一*1：医薬品の分析法の真度及び精度を評価するための実験計画②

Pharm Tech Japan, 16(4), 541-565 (2000)

試験室の規模や実状に応じて、室内再現精度を評価する際に考慮が必要な変動要因について考察を行い、具体的な実験計画の例を示した。また、室内再現精度の計算方法、自由度の計算方法についても示した。

Keywords: Analytical validation, Experimental design, Degree of freedom

*1 東京理科大学理工学部

吉岡澄江：医薬品の承認申請のための安定性試験に関する最近の動向

ファームテックジャパン, 16, 475-480 (2000)

ICH安定性試験ガイドラインにおいて、改訂作業がステップ2の合意に達した項目の中から、1) 低温貯法を適用する医薬品や2) 半透過性容器に容れられた医薬品の試験法、および3) 加速試験の測定頻度など、具体的な試験方法に関する項目について解説した。さらに、安定性試験の省力化を目指した新しい方法としてすでにガイドラインにおいて採用されているブラケットングとマトリキシングについても、その具体的な方法の概要を解説した。

Keywords: Stability, Guideline, Storage condition

Nakahara, Y.: Effects of Physicochemical Factors on Incorporation of Drugs into Hair and Behavior of Drugs in Hair Root.

CRC Press, New York, 1999, pp. 49-72.

Effects of physicochemical factors on incorporation of drugs into hair were investigated. As a result, it was proven that basic drugs were incorporated into hair much faster and at higher concentrations than neutral and acidic drugs, more lipophilic parent drugs are a major component in hair, the drug incorporation into hair greatly depends on the melanin and especially eumelanin content of the hair and there are many chemical structural factors affecting drug incorporation tendencies into hair. Furthermore, we have shown that drugs are very quickly incorporated into the hair bulb, and that drugs in hair root show peak concentrations within 6 to 33 hours after administration.

Keywords: drug incorporation into hair, drug disposition, hair analysis

中原 雄二：薬物検査での毛髪分析の利用

医学のあゆみ, 190, 1051-1055 (1999).

依存性薬物の毛髪分析の進歩に関し、以下の項目別に研究の動向を解説した。

1. はじめに
2. 毛髪とはどのような組織か
3. 毛髪中の薬物の抽出
4. 毛髪中での薬物の挙動
5. 毛髪中の薬物分布と薬物使用時期
6. 毛髪中に見出されている薬物
7. 毛髪中の薬物の安定性

Keywords: Hair analysis, drug abuse, drug incorporation into hair

Hayakawa, T.: New drug approval process in Japan

Curr. Opin. Biotechnol., 10, 307-311 (1999)

The current situation in Japan regarding the approval process for new drugs is described. These include: 1) the legal basis of drug evaluation/registration and review system; 2) organizations involved in the new drug application review and restructuring of the review system; 3) the current new drug application review system; and 4) technical requirement for biotechnological /biological products.

Keywords: New drug approval process, Biotechnological/ biological products

早川 堯夫：日局生物薬品の品質・安全性確保に関する研究

—ウイルス安全性確保の基本要件（中間報告）—

医薬品研究, 30, 602-617 (1999)

日局生物薬品の品質・安全性確保に関する研究の一環として、ウイルス安全性を確保するための基本的要件に焦点をあてた調査研究を行った。とくに以下の項目について詳細な検討を行った。1) 局方生物薬品のウイルス面での安全性問題のこれまでと将来への方策、2) 生物薬品のウイルス安全性はどのような視点でどこまで追求すべきか、3) 局方生物薬品のウイルスに対する安全性確保のために必要な一般的要素、4) 局方生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための参考情報に盛り込むべき事項、5) 局方生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための参考情報の各事項において記述すべき内容、6) 原料、7) 製造及びウイルス試験

に関わる留意事項, 8) ウイルスクリアランスに関する工程評価, 9) 統計, 10) ウイルスクリアランスの再評価が必要な場合, 11) ウイルスクリアランス工程評価に係る測定法, 12) 記録と保存

Keywords: Viral safety, Biological products, Pharmacopoeia

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・安全性等の確保

低温生物工学会誌 (Cryobiology and Cryotechnology), **45**, 18-33 (1999)

Recent progress in recombinant DNA technology and cell culture technology has enabled us to produce new medically useful agents for gene therapy and cellular therapy. To enable these products to be of use in human therapy, it is essential that suitable measures be taken by manufacturers and control authorities to assure their quality, efficacy, and safety. This article describes points, based on the latest sound scientific principles, to be considered for producing, testing, evaluating and controlling pharmaceutical products for gene therapy and cellular therapy, especially with respect to their quality and safety.

Keywords: gene therapy products, Cellular therapy products

川西徹: 高速共焦点顕微鏡

細胞, **31**, 14-18 (1999)

高速型共焦点レーザー走査顕微鏡について概説するとともに, その実験例を紹介した。

Keywords: confocal microscopy, calcium ion, calcium spark

河合 洋, 太田 茂*: Parkinson病の発症メカニズム: 神経毒と神経細胞死

診断と治療, **87**, 601-606 (1999)

パーキンソン病の発症に関わる内在性神経毒として種々のテトラヒドロイソキノリン (TIQ) 類が知られている。TIQ類の活性, 作用機構について述べ, ドーパミントランスポーター, COMTが毒性発現に際して重要である可能性を示した。

Keywords: Parkinson's disease, dopamine transporter, COMT

* 広島大学医学部

太田 茂*, 河合 洋: パーキンソン病と神経毒

放射線科学, **42**, 87-89 (1999)

内在性化合物テトラヒドロイソキノリン (TIQ) 類について, パーキンソン病との関係を概説した。

Keywords: endogenous amine, Parkinson's disease, neurotoxin

* 広島大学医学部

水口裕之, 早川堯夫: アデノウイルスベクターの最近の進歩

一免疫反応の抑制を目指した改良型ベクターの開発を中心に

蛋白質核酸酵素, **44**, 1405-1414 (1999)

アデノウイルスベクターは, 現存する遺伝子治療用ベクターの中では, 最も効率の優れたベクターであり, 非分裂細胞や *in vivo* の組織細胞への直接の遺伝子導入も可能なことから画期的なベクターとして注目された。しかしながら, わずかに産生されるウイルス蛋白質に対する免疫反応の問題が提起され, 改良型ベクターの開発が重要な研究課題となっている。本総説では, アデノウイルスベクターの改良に関しての最近の発展を解説した。

Keywords: adenovirus vector, gene therapy

水口裕之, 早川堯夫: *In vitro* ライゲーションに基づいた簡便なアデノウイルスベクター作製法

細胞工学, **18**, 1824-1827 (1999)

アデノウイルスベクターは, 現存している遺伝子治療用ベクターの中では, 最も効率の優れたベクターであることから, 遺伝子治療のみならず基礎研究の分野においても広く用いられている。しかしながら, ベクターの作製はそれほど容易なものではない。本総説では, 著者らが開発した *in vitro* ライゲーションでのプラスミド構築に基づいた簡便な組換えアデノウイルス作製法について解説した。

Keywords: adenovirus vector, gene therapy

新見伸吾, 押澤 正, 溝田雅洋^{*1}, 小山定利^{*1}, 横沢彰^{*2}, 村田智代^{*2}, 早川堯夫: 吸光度測定によるヒトトロポモジュリン力価新測定法とその品質評価法としての妥当性に関する検討

医薬品研究, **30**, 595-601 (1999)

本研究は吸光度測定による新測定法を設定し, ヒトトロポモジュリン (h-TM) 品質管理のための測定法としての妥当性を調べるために行った。新測定法における基質切断時間は直線的な時間依存的基質の切断がみられる 10分と設定した。また, 尿由来 h-TM の測定において直線的な濃度依存曲線が得られた。これらの結果から, 新測定法が h-TM の力価を定めるうえで適切な測定法であることが示された。h-TM の原液及び製剤を各種過酷条件下に曝し, これら h-TM の力価を新測定法並びに従来用いていた力価測定法で測定した。その結果, 個々のサンプルの力価残存率ほどの測定法でもほぼ同じであった。これらの結果から, 新測定法が h-TM の品質を評価するうえで有用であり, 従来の測定法と同等に h-TM の品質を評価することが可能であることが示された。

Keywords: recombinant human thrombomodulin, urinary human thrombomodulin, thrombomodulin potency

^{*1} 持田製薬 (株) 製材研究室

^{*2} 旭化成工業 (株) ライフサイエンス総合研究所

靄島由二: 感染性廃棄物中間処理新技術とガイドライン臨床病理, **112**, 64-75 (2000)

近年, 焼却炉に関する規制強化に伴い, 医療施設で使用されていた焼却炉の数が急速に減少している。このような背景の中, 現在, 医療廃棄物新処理技術産業が注目を浴びている状況にあり, 新処理技術による医療廃棄物の適正処理に資するため, 新処理技術の種類, 世界における規制の現状, 新技術の評価方法に関するガイドラインなどについて詳述した。

Keywords: incinerator, alternative technology, regulation, guideline

靄島由二: 新課題医療廃棄物処理への取り組み・プリオン蛋白質汚染物

臨床病理, **112**, 104-114 (2000)

TSE患者の取扱いやTSE病原体の不活化などに関する幾つかのガイダンスが行政機関, 国際機関および研究機関から公布されているが, これらのガイダンスはいずれも強制力を持たず, 世界的に統一されたガイダンスも存在しない。それ故, 実際の医療現場では適当なガイダンスを利用して独自に対応しており, 各医療施設ごとに対応レベルや対処法が異なっているのが現状である。そこで, TSE廃棄物の適正処理に資するため, TSE病原体の不活化, 器具の取扱い, TSE疾患の伝播およびTSE病原体の体内分布などに関

する現在の知見を取りまとめた。

Keywords: TSE, TSE agent, prion, guidance, inactivation

Yagami, T.: **Plant defense-related proteins and latex allergy**
Environ. Dermatol., 5 (Suppl. 2), 31-39 (1998)

植物が誘導する生体防御蛋白質群とラテックスアレルギーとの関連性について、著者らのこれまでの研究成果をまとめて示すと共に、今後の展望を述べた。

Keywords: latex allergy, defense-related protein, allergen

矢上 健: ラテックスアレルギーと生体防御蛋白質: 食物抗原との交叉反応性

LiSA, 6, 746-750 (1999)

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反応が、ラテックスアレルギーである。しかし、果物や野菜を口にした際にも、アレルギー症状を経験する患者が少なくない。本稿では、ラテックスアレルギーとそれに伴う果物・野菜アレルギーについて、植物が作り出す生体防御蛋白質群との関連性を中心に解説した。

Keywords: latex allergy, defense-related protein, allergen

矢上 健: ラテックスアレルギーの基礎

アレルギーの臨床, 19, 749-753 (1999)

ラテックスアレルギーの原因となる蛋白質抗原の特徴を、植物の生体防御反応への関わりを指摘しながら解説した。また、通常食物アレルギーとアレルギーの交叉反応性に基づく食物アレルギーとの相違点を、原因となる蛋白質抗原の作用機序という観点から論じた。

Keywords: latex allergy, defense-related protein, allergen

矢上 健: 植物に由来する交差反応性抗原

日本ラテックスアレルギー研究会会誌, 3, 49-51 (1999)

幅広い交差反応の原因となるパンアレルギーの特徴を述べると共に、ラテックスフルーツ症候群と口腔アレルギー症候群 (OAS) との類似性について述べた。

Keywords: latex allergy, allergen, cross-reactivity

矢上 健, 中村晃忠: 知られざるラテックスアレルギー—交叉反応性アレルギーとは何か?—

ファルマシア, 36, 217-221 (2000)

即時型アレルギー反応の原因となる蛋白質性アレルギーに関する最近の知見を、著者らが扱ったラテックスアレルギーを題材に、交差反応性という側面を中心に紹介した。

Keywords: latex allergy, allergen, cross-reactivity

二木史朗^{*1}, 北川幸己^{*2}, 矢上 健, 山口 実^{*3}: **Fmoc** 固相合成法による硫酸化チロシン含有ペプチドの直接合成法の開発

島津評論, 56, 67-70 (1999)

近年、チロシンの硫酸化は、リン酸化と並び、蛋白質の一般的な翻訳後修飾の一つであることが明らかになってきた。この修飾の生理的意義を解明する過程において、硫酸化チロシン [Tyr(SO₃H)] 含有ペプチドは重要な役割を果たす。著者らは、その簡便さのために近年広く用いられるようになってきた Fmoc 型固相合成法を活用する、硫酸化チロシン含有ペプチドの効率的な合成法を開発した。本合成法は、Fmoc-Tyr(SO₃Na)-OH を原料として Tyr(SO₃H) 残基をペプチド鎖に直接導入した後、低温 (0℃) 下での tri-fluoroacetic acid (TFA) 処理により全保護基を除去し、目的の硫酸化ペプチドを得るというストラテジーから成る。この合成法を適用することにより、代表的な硫酸化チロシ

ン含有ペプチドである CCK やガストリン-II、及びこれらに関連する各種硫酸化ペプチドを、効率的かつ容易に得ることができた。

Keywords: solid-phase peptide synthesis, tyrosine O-sulfate, cholecystokinin

^{*1} 京都大学化学研究所

^{*2} 新潟薬科大学

^{*3} 島津製作所

鹿庭正昭: 家庭用品に使用される化学物質による健康被害の原因究明について その1: 健康被害に対する安全対策の現状

製品と安全, 73, 10-16 (1999)

家庭内で使用される化学物質によって、どのような健康被害が発生する可能性があるか、またそうした健康被害を防止するために、どのような安全対策がとれるかについて、現状及び今後の課題を中心に解析した。

Keywords: household product, health hazard, protective measure

鹿庭正昭: 家庭用品に使用される化学物質による健康被害の原因究明について その2: 健康被害 (1) 皮膚障害

製品と安全, 74, 9-17 (1999)

皮膚に接触する形で使用される家庭用品中の化学物質によって発生する皮膚障害として、刺激性皮膚炎、アレルギー性接触皮膚炎 (ホルムアルデヒド、染料・着色剤、抗菌剤、ゴム添加剤、金属)、ラテックスアレルギー、アトピー性皮膚炎について取り上げた。

Keywords: household product, health hazard, skin disorder

鹿庭正昭: 家庭用品に使用される化学物質による健康被害の原因究明について その3: 健康被害 (2) 呼吸器障害

製品と安全, 75, 13-23 (1999)

家庭用品によって発生する急性中毒事故として、実際に発生したことがある家庭用洗剤 (塩素系と酸性タイプの混用等による)、防水スプレーによる呼吸困難等を伴う中毒事故について取り上げた。また、室内空気汚染物質による健康被害について、化学物質過敏症を例に、健康被害の発生状況、原因究明の取り組みの現状等について取り上げた。

Keywords: household product, health hazard, respiratory tract disorder

鹿庭正昭: 単純化学物質とアレルギー ゴムアレルギー・免疫, 6, 48-53 (1999)

ゴム製品によるアレルギー性接触皮膚炎事例の原因究明を行うための手順を確立するとともに、原因究明の検討結果として、ゴム添加剤が主要な原因化学物質となっていることを明らかにした。

Keywords: household rubber product, allergic contact dermatitis, rubber additive

鹿庭正昭: 臨床医のための周辺知識 ゴム手袋: アレルギー対策品

皮膚病診療, 21 (増), 110-113 (1999)

ゴム手袋によるアレルギー対策はゴム手袋の材質によって異なってくることを概説した。すなわち、天然ゴム製品では天然ゴムラテックス (水溶性蛋白質) による I 型アレルギー、ゴム添加剤による IV 型アレルギー (アレルギー

性接触皮膚炎)ともに考慮する必要があるので、合成ゴム製品では、天然ゴムラテックス(水溶性蛋白質)が含まれないため、ゴム添加剤によるIV型アレルギーを中心に考慮すればよい。

Keywords: rubber glove, type I allergy, type IV allergy

鹿庭正昭: 化学物質と皮膚感作性 家庭用品と皮膚感作性

中毒研究, 12, 269-274 (1999)

家庭用品によるアレルギー性接触皮膚炎事例について、患者でのパッチテスト、原因製品の化学分析、感作動物でのアレルギーの検索等による原因究明を行うための手順を確立するとともに、原因究明の検討結果として、ゴム添加剤、ホルムアルデヒド、染料、プラスチック配合剤、抗菌剤、金属が主要な原因化学物質となっている現状、家庭用品の安全性確保のための取り組みの現状を概説した。

Keywords: household product, allergic contact dermatitis, causative chemical identification

鹿庭正昭: 化学物質による皮膚障害(7) 総論 7. 接触アレルギー性皮膚炎の診断

医薬ジャーナル, 36 (1999)

皮膚障害について、原因製品と原因化学物質(接触アレルギー)の関連性を確認するために、ゴム製品によるアレルギー性接触皮膚炎事例を例として、原因究明を行うために確立した手順を用いた取り組みの実際について概説した。

Keywords: irritant dermatitis, allergic contact dermatitis, contact urticaria

新谷英晴: 滅菌保証の観点から抗菌剤を考える

防菌防黴, 26, 700 (1998)

滅菌前のバイオバーデンの同定、測定、無菌性保証の10-6を満足する時間滅菌後のバイオバーデンの致死から滅菌保証を判定する方法について解説した。

Keywords: sterility assurance, bioburden, antibacterial agents

新谷英晴: 医療用品製造における滅菌の現状と将来 — 従来法を中心として — 1. 特集にあたって

防菌防黴, 28, 37-40 (1998)

従来から使用されている滅菌法、昨今多用されている滅菌法、将来有望と考えられる滅菌法について解説した。

Keywords: sterility assurance, sterilization method, sterility assurance level

新谷英晴, 数馬昂始*: 日本に於ける滅菌保証達成に於ける問題点と解決法3

防菌防黴, 27, 377-385 (1999)

使用者が滅菌保証を行う実際に行う際の問題点について質疑一応答の形式で解説した。

Keywords: validation study, routine control, sterility assurance

* K2 インターナショナル

新谷英晴: ISO/TC198 が要求する再現性のある滅菌保証とは

医科器械, 69, 469-470 (1999)

SCD 培地のロット間ならびに/あるいはメーカー間の差により滅菌保証を達成するためのD値が異なることが報告されている。違いの現象については既に報告があるが、培

地組成のどの成分が生物指標(BI)のD値の差に起因しているのか明らかにされていない。それが明らかにされなければ再現性のある滅菌保証は成功して達成されないことになる。著者はSCD液体培地(SCDB)ならびにSCD寒天固形培地(SCDA)の組成を個々に検討した。その結果D値の差を生じさせるのはSCD培地組成中のカルシウム(Ca)イオン量であることを同定した。SCDAでのD値はSCDBより顕著に高く、それはSCD培地中のCa量の差による。BIメーカー間の性能の差についても議論した。

Keywords: sterility assurance, biological Indicator, culture medium

新谷英晴: 滅菌バリデーション実施と諸問題の解決法について(3)

ファーマテックジャパン, 15, 541-545 (1999)

使用者が滅菌バリデーションを実施するに際し問題となる点を取り上げ、それらに関して解決法を示した。

Keywords: validation study, routine control, sterility assurance

佐藤道夫: 医用材料における高分子材料の信頼性

高分子, 48, 846-849 (1999)

医用高分子材料を用いた医療用具の審査・承認、製造・品質管理工程での医療用具GMPの遵守、市販後の再審査・再評価制度、安全性情報報告制度、インプラント・データシステムの解説を通じて、医療用具の信頼性を確保する努力がどの様に行われているかを紹介し、事前審査と共に、市販後評価が重要であることを示した。

Keywords: implant data system, biomaterial, reliability

松村年郎, 濱田実香: 環境化学物質測定法

アレルギー・免疫, 6, 44-54 (1999)

1973年の第一次石油ショックを契機としてSick Building Syndrome(SBS)が目撃され、また、最近では化学物質過敏症(MCS)が大いに注目を集めている。本論文ではこれらSBSやMCSの発症に関与が指摘されてVOCs, アルデヒド類, SVOC(有機リン化合物)等の測定法について解説を行うと共に調査結果についても紹介した。

Keywords: measuring technology, volatile organic compounds, formaldehyde

豊田正武: 環境化学物質のモニタリングシステムの現状と将来

獣医学雑誌, 1, 13-15(1999)

国立医薬品食品衛生研究所で実施されている汚染物モニタリングシステムの内容とその結果の概要を紹介した。また本システムは現在改良中であり、その変更点と今後の予定について言及した。

Keywords: contaminants, monitoring system, environmental chemicals

豊田正武: ダイオキシン汚染の実態とその規制の現状

ジャパンフードサイエンス, 9, 53-57 (1999)

ダイオキシンについては環境由来の食品汚染が知られていることから、まず平成8年度及び9年度におけるトータルダイエット方式による1日摂取量調査の結果を紹介した。また平成8年度の13種動物性食品及び平成7~9年度の17種植物性食品についての汚染実態をまとめた。最後に諸外国における食品中ダイオキシン規制の現状を概説した。

Keywords: dioxin, PCDDs, PCDFs, Co-PCBs, total diet

豊田正武：遺伝子組換え食品の健康影響 最近の動向から

保健婦雑誌, 56, 150-155 (2000)

遺伝子組換え食品の安全性に対する消費者の不安感が増大していることから、遺伝子組換え、我が国で食品として安全性が確認された遺伝子組換え作物、遺伝子組換え食品の安全性評価システムについて概説した。また特に世界中で関心の高い事項として抗生物質耐性マーカー遺伝子、害虫抵抗性蛋白質及びレクチン遺伝子導入ジャガイモの安全性についての見解を記した。

Keywords: generically modified foods, safety assessment

豊田正武：食品におけるダイオキシン汚染の実態と健康影響

農林水産技術 研究ジャーナル, 23, 16-20 (2000)

厚生省が実施している最近2～3年間の個別食品中ダイオキシン汚染の実態調査結果、及びトータルダイエツト試料の分析による22年前からの1日摂取量の経年変化の結果を紹介し、健康影響との関連性について言及した。

Keywords: dioxin, total diet

残留動物用医薬品試験法検討委員会（豊田正武、村山三徳）：畜水産食品に残留する動物用医薬品の試験法（その5）-イソメタミジウム、イベルメクチンおよびモキシデクチン、トリクラベンダゾールの試験法-

食品衛生研究, 50, 43-55 (2000.2)

平成11年度食品衛生法の改正に伴い、新たに規格基準の設定された食品中の寄生虫用剤、トリクラベンダゾール、モキシデクチン等の試験法について、試験法設定の経緯、試験実施にあたっての注意点などについて解説した。

Keywords: isometamidium, moxidectin, triclabendazole

残留動物用医薬品試験法検討委員会（豊田正武、村山三徳）：畜水産食品に残留する動物用医薬品の試験法（その6）-スピラマイシン、ベンジルペニシリンの試験法-

食品衛生研究, 50, 75-83 (2000)

平成11年度食品衛生法の改正に伴い、新たに規格基準の設定された食品中の抗生物質、スピラマイシン、ベンジルペニシリンの試験法について、試験法設定の経緯、試験実施にあたっての注意点などについて解説した。

Keywords: benzylpenicillin, spiramycin

松田りえ子：検査方法の評価について

食品衛生研究, 49, 49-56 (2000.2)

平成10年度信頼性確保部門責任者研修会の内容に基づいて、分析法バリデーションについて、真度・精度の求め方、検出限界と定量限界、頑健性評価法等について解説した。

Keywords: Method validation, Quality Assurance

山田 隆：食品添加物公定書の改訂について

食品衛生研究, 49-5, 59-67 (1999)

第7版食品添加物公定書の改正点について、第6版と比較して解説した。主な点は、単位の記載法が変更されたこと、通則の変更、主として天然添加物の規格が収載されたことによる、一般試験法の追加と変更、試験法からの有害な試薬の排除が行われたこと、試薬の呼称の変更等である。

Keywords: food additives, amendment, JSFA VII

Ishiwata, H.: Daily intake of food additives and comparison with acceptable daily intake

Bull. Dept. Med. Sci., 41, 79-89 (1999)

食品添加物の摂取量が安全量か否かを評価するための調査方法と推定摂取量について論じた。調査方法に関しては、生産・流通・使用量調査方式、トータルダイエツト方式、喫食食品記録方式、既存データ利用方式等で、それぞれの方法の長所・短所について比較し、また、それらの方法によって推定された食品添加物の推定摂取量についてADIとの比較と共に、過大・過小見積り目の要因について論じた。

Keywords: food additives, daily intake, ADI

石綿 肇：新指定添加物、スクラロースについて

食衛誌, 40, J455-J457 (1999)

世界的に使用されている甘味料であるスクラロースが新規に指定されたことから、外国における指定状況、わが国の規格、基準等について解説した。

Keywords: food additive, sweetener, sucralose

河村葉子：プラスチック製器具・容器包装中の残存化学物質に関する研究

食衛誌, 40, J-333-335 (1999)

プラスチック製器具・容器包装中の残存化学物質に関する研究のうち、ポリエチレン中の酸化防止剤、紫外線吸収剤などの添加剤のHPLC及びGC/MSによる一斉分析法と残存実態、ポリスチレン中のスチレンダイマー及びトリマーの同定、材質中残存量及び即席食品への移行量、ポリカーボネート製食器中のビスフェノールAの溶出傾向などについて述べた。

Keywords: food contact plastics, residue chemicals, migration

Yoko Kawamura: EDCs in food containers and packages

Asian Medical Journal, 42, 493-498 (1999)

食品用容器包装、特にプラスチック製品中に残存する内分泌攪乱化学物質について、用途、毒性、内分泌攪乱作用、製品中の残存量及びその溶出などを紹介した。ビスフェノールAはポリカーボネート樹脂、エポキシ樹脂の原料であり、ポリカーボネート製食器に5～80 ppm残存しており、大部分の製品で溶出は認められなかった。しかし、エポキシ樹脂コーティング缶の内容物からはND～22.9 µg検出された。フタル酸エステル類はポリ塩化ビニルの可塑剤として使用されるが、最近のラップフィルムからは検出されていない。スチレンはポリスチレン樹脂の原料であり、市販品中の残存量は21～819 ppm、即席食品への移行量はND～87 ppbと報告されている。一方、スチレンダイマー及びトリマーはポリスチレン製造時の副生成物で、トリマーは製品中に720～20,770 µg/g、即席食品への移行量はND～62.4 ng/gであった。その他ノニルフェノール、p-t-ブチルフェノールなどがある。

Keywords: endocrine disrupting chemicals, bisphenol A, styrene

河村葉子：食品と関連する内分泌かく乱作用化学物質⑧ スチレン関連化合物

月刊フードケミカル, 1999-11, 97-101 (1999)

内分泌かく乱作用が疑われている「スチレン」と「スチレンダイマー及びトリマー」について、性状、毒性、内分泌かく乱作用、器具・容器包装及び食品の分析事例などを紹介した。

Keywords: styrene, styrene dimers, styrene trimers

山越葉子, 宮田直樹: 炭素第三の同素体フラーレンの化学

—光増感生物作用—

季刊化学総説 43, 214-223, (1999)

際だった光増感特性を有するフラーレン類の光増感生物作用として, DNA, 酵素, 脂質, ミクロゾーム, および細胞膜に対する作用, 変異原性, 細胞毒性, 抗ガン作用, 抗ウイルス作用, 発ガンのイニシエーション作用などを紹介するとともに, 生物活性発現に関与する活性種についても解説した。

宮田直樹: 炭素第三の同素体フラーレンの化学—その他の生物作用—

季刊化学総説 43, 241-244, (1999)

フラーレン類は, 特徴的な構造に起因し種々の興味ある物理化学的性質を示す。本総説では, 軟骨分化誘導促進作用, 抗変異原性, 生物毒性などについて, 最近の知見を概説した。

山越葉子: 炭素第三の同素体フラーレンの化学—フラーレンの水溶化(生物試験への応用)—

季刊化学総説, 43, 119-120, (1999)

フラーレン類は, 水あるいは水と混和する有機溶媒に極めて難溶である。このようなフラーレン類の水溶化法について紹介した。

Teshima, R., Nakamura, R.*, Furuno, T.* and Nakanishi, M.*; **Degranulation in Mast cells and Basophils—Confocal and Atomic Force Microscopy—**
Bioimages, 7, 97-103 (1999)

The release of histamine and other inflammatory mediators from mast cells and basophils is the primary event in a variety of acute allergic and inflammatory conditions. The mechanism of the release of granules from these cells and the degranulation process of the cells is still not clear. Fluorescence microscopy has played an essential role in cell biology by allowing visualization of specific molecular components of cells. Recently, confocal laser scanning microscopy and atomic force microscopy have been introduced into the field for studying the dynamic molecular organization. We review current views including our recent imaging work in mast cell activation and degranulation by using these new microscopic methods.

Keywords: mast cells, degranulation, imaging

* Nagoya City University

Nakanishi, M.* and Teshima, R.; **Cell Signaling and Imaging in Mast Cell Activation**

Current Trends in Immunology, 2, 173-186 (1999)

Fluorescence microscopy has played an essential role in cell biology and immunology by allowing visualization of specific molecular components of cells. Recently, confocal laser scanning microscopy and atomic force microscopy have been introduced into the field and have extraordinarily changed the strategy for studying the dynamic molecular organization and cell signaling. They will bring about a new age in cell biology and immunology. Thus, we will review our recent work for cell signaling and imaging in mast cell activation, intending for many researchers to

obtain valuable information to study the cell function in allergy and clinical immunology.

Keywords: fluorescence microscopy, mast cells, allergy

* Nagoya City University

手島玲子; 感作性試験

Altern. Animal Test. Experiment, 5, 278-283 (1998)

感作性試験に関する動物実験代替法の現状と OECD ガイドラインについて紹介した。感作性試験は, 生体の細胞性あるいは体液性免疫機構の活性化に伴う過敏症反応を調べることが目的となるが, まず第一に, 現在感作性試験の国際的ガイドラインとして, OECD 毒性試験ガイドライン 406 “皮膚感作性試験” について概要の説明を行った。次いで, OECD ガイドラインには入っていないが, 現在国内, 海外で試みられている抗原性試験の概要の説明を行った。

Keywords: OECD guideline, sensitization, animal model

澤田純一, 手島玲子; 医薬品等の非臨床アレルギー性試験とその問題点

アレルギーの臨床 20, 104-110 (2000)

現在, 種々の化学物質が工業的に生産・利用されており, アレルギー起因物質となりうる化学物質が生活環境中に数多く存在することが報告されている。本稿では, 動物を用いた化学物質のアレルギー性試験法(遅延型のアレルギー性試験即時型のアレルギー性試験)に関連する最近の話題および問題点を紹介した。

Keywords: allergenicity test, chemical drug, animal model

楠井 薫, 安達玲子, 鈴木和博: 食細胞の活性化と細胞骨格制御系—活性酸素産生, 異物貪食におけるコフィリンの役割

放射線科学, Vol.42, No.9, 266-271 (1999)

活性化食細胞におけるコフィリンの脱リン酸化と活性酸素産生における関わりや細胞内局在変化及び細胞骨格系の再構築への影響について概説した。

Keywords: cofilin, dephosphorylation, cytoskeleton

小沼博隆: 調理施設と食品製造における衛生管理に関する研究 (I)

食品衛生研究, 49, No. 11: 41-67 (1999)

給食施設の衛生管理の徹底を図る目的で HACCP システムによる衛生管理を実際の調理加工施設(13施設)及び食品製造業(3施設)に導入し, 本システムがこれらの施設の衛生管理方法として優れた効果を発揮することができるかどうか試行したところ, 作業性, 経済性及び教育等に若干の問題点が出てきたが, 全施設において HACCP システムによる衛生管理の運営が可能であったことの詳細を解説した。

Keywords: hazard analysis, critical control point, monitoring

小沼博隆: 調理施設と食品製造における衛生管理に関する研究 (II)

食品衛生研究, 49, No. 12: 51-88 (1999)

給食施設の衛生管理の徹底を図る目的で HACCP システムによる衛生管理を実際の調理加工施設(13施設)及び食品製造業(3施設)に導入し, 本システムがこれらの施設の衛生管理方法として優れた効果を発揮することができるかどうか試行したところ, 作業性, 経済性及び教育等に若干の問題点が出てきたが, 全施設において HACCP システムによる衛生管理の運営が可能であったことの詳細を解説

した。

Keywords: hazard analysis, critical control point, monitoring

高鳥浩介: カビによる建物汚染

空気清浄, 37, 376-379 (2000)

我々の生活している環境には無数の微生物が存在している。微生物は、この自然界のさまざまな場所に分布し、あらゆる基質と何らかの関係を保ちながら分布している。微生物、なかでも真菌としてのカビは人間の生活している環境や、人間自身に直接あるいは間接的に影響をおよぼしながら、有害であったり、有益であったりして生息している。とくに建物でのカビ汚染をテーマとして生物学的観点からまとめた。

Keywords: fungal contamination, building deterioration, harmful fungi

高鳥浩介: かびの生態

遺伝, 53, 19-22(1999)

かびの自然界での生態を、とくにヒトとのかかわりの観点からまとめた。ヒトとのかかわりの深い生態として住環境に焦点をあて、かびの発育形態およびその生活環を紹介し、住環境でのかびの生息・分布を具体的な環境をとりあげまとめた。

また、かびによる汚染は湿度、水分活性、温度、酵素などといった諸条件が深く関与するが、その因子について詳述した。

Keywords: fungi, ecology, human environments

関澤 純: 環境リスクの評価

環境と測定技術, 27 (5), 61-69

環境リスク評価シリーズの導入として、環境と健康のリスク評価の基礎的な枠組みと背景、および今後の課題についてまとめた。リスク評価の目的と手法、発展の現段階と成果を筆者が関わっているIPCSのCICAD (国際簡潔評価文書)ほかでの動きをまじえて紹介した。次いで今後の課題として、評価における確立論的な扱いと不確実性の解析、環境と健康のリスクの統合的な評価の必要性、透明なプロセスと批判的な検討の保証、リスク比較による優先順位づけと社会の判断に分けて論じた。

Keywords: environmental risk, risk assessment, uncertainty, integrated risk analysis

Takai-Igarashi T: A Guide for the Cell Signaling Networks Database.

TIGG, 11, 201-210 (1999)

細胞内シグナル伝達ネットワークデータベース(CSNDB)は、ヒトの情報伝達経路について検索できる世界でも数少ないデータベースである。情報伝達経路はヒトの疾病や生体毒性と密接な関連があり、そのデータベースであるCSNDBは疾病解析や創薬研究に有望なシステムである。本総説ではCSNDBの利用法を紹介し、その有用性について解説した。

Keywords: cell signaling network, pathway database, inference system

関田清司, 井上 達: 薬物乱用と「合法ドラッグ」

J. of Toxicological Sciences, 24, app., 147-158 (1999)

今日、薬物関連取締法の対象となっている覚せい剤やコカインの乱用される機構を整理し、それらが法規制の対象

になるに至った経緯などを通覧することにより、問題となっている「合法ドラッグ」の性質やその危険性について解説した。

Keywords: drug abuse, designer drugs, reinforcing effect

佐井君江: 緑茶の肝発がん抑制過程における生物学的諸変化

放射線科学, 42, 113-119 (1999)

1987年にYoshizawaらにより、緑茶成分のエピガロカテキンガレートにマウス皮膚発がんの抗プロモーター作用のあることが報告された。それ以後の種々の発がんモデル実験の結果から、緑茶およびその成分は、いわゆる発がんのイニシエーション、プロモーション、プログレッション段階において抑制効果のあるものとされ、今日までその作用機序に関する知見も蓄積してきた。それらを通覧すると、発がん抑制における緑茶の作用様式として、発がん過程で化学物質によって起こる一連の生体反応 (①化学物質と生体成分との直接反応, ②化学物質の活性化・解毒化反応, ③これに引き続く増殖性反応) のそれぞれのステップにおいて、様々な様式で抑制的に寄与していることがわかる。このような多様な生物作用の化学的機作には、その抗酸化性または様々な化学物質・蛋白質等との結合性が関わるものと考えられる。ここでは、pentachlorophenol(PCP)の肝発がんプロモーター作用及びそれに関連した生物学的諸変化(酸化DNA損傷, 細胞増殖, ギャップ結合細胞間連絡阻害, アポトーシス阻害)に対する緑茶成分の効果を例として、緑茶の発がん抑制における生物学的作用特性について考察する。

Keywords: green tea, pentachlorophenol, tumor promoter,

高橋 雄, 相賀裕美子: Notch シグナリングの新展開分節化におけるNotch シグナリング ノックアウトマウスの解析から

細胞工学, 18, 1334-1339 (1999)

体節形成は、脊椎動物の体の分節性をもたらす最初の発生現象である。近年、遺伝子欠損マウスを用いた解析により、体節形成の分子機構に関わる遺伝子群が同定され、それらの相互関係が明らかになりつつある。その結果、ショウジョウバエの分節化とは異なって、Notch-delta シグナル系がその分節性の確立に深く関与していることがわかってきた。

Keywords: somitogenesis, Notch, knockout mouse

相賀裕美子: Notch シグナリングの新展開

Notch シグナル系の多様性 Notch は側方抑制だけではない

細胞工学, 18, 1284-1289 (1999)

Notch レセプターを介した細胞間相互作用、いわゆるNotch シグナル系はショウジョウバエの突然変異体の解析から端を発して、均一な細胞集団から、ある突出した細胞の分化を促すため、その隣の細胞の分化を抑えるいわゆる側方抑制という概念を発生、特に神経細胞の分化過程で浸透させた。このシグナル系は進化的にみても古い細胞間相互作用の機構であり、後生生物の発生過程に基本的に重要な役割をはたしている。神経分化以外にも細胞の増殖、分化、移動、死など多くの現象に関与しており、器官形成、形態形成を司る発生方式を決定する重要なシグナル系ともいえる。この特集では、従来の概念にとらわれず、個々の現象を説明するのに最も納得のいく解釈を大胆に試みることにより、このシグナル系の多様性、重要性、その魅力を紹介したい。

Keywords: Notch signaling, lateral inhibition

菅野 純: 内分泌攪乱のメカニズムを考慮した生物試験医学のあゆみ, **190**, 751-752 (1999)

内分泌かく乱化学物質の問題点はホルモン受容体を介した障害である, という点から *in vivo* および *in vitro* assay について解説し, 現在提起されている問題点についても言及した。

Keywords: endocrine disrupting chemicals, receptor mediated toxicity, hormone receptors

菅野 純: ホルモン様化学物質と内分泌攪乱治療学, **34**, 468-472 (2000)

内分泌攪乱化学物質問題を受容体原性毒性であるとしてとらえたときに予想される, 様々な問題点について解説した。

Keywords: endocrine disrupting chemicals, receptor mediated toxicity, hormone receptors

大野泰雄: 代替法を組み込んだ眼刺激性評価ガイドランスについて

フレグランスジャーナル, **7**, 21-26, (1999)

ドレイズ法による眼刺激性試験についてはその残酷性のために大きな批判があった。そこで, その代替法として報告されていた多くの方法について化粧品業界の協力を得て多施設バリデーションを行い, 代替法が化粧品の眼刺激性評価のためにどこまで使用できるかについて明らかにした。この結果を基に代替法とドレイズ法を組み合わせた新しい評価ガイドラインを作成したので, その内容とその科学的根拠を解説した。

Keywords: alternative test, Draize test, eye irritation test, guideline

大野泰雄: 毒性学の現状と種差について, 化学物質の安全性をいかにして見極めるか

可塑剤インフォメーション, **12**, 9-13 (1999)

毒性発現に関係する種差及び性差について解説し, 動物実験結果をヒトへ外挿するには毒性発現機序の解明が重要であり, それにより適切な外挿が可能となる事を述べた。これを踏まえ現在のリスクアセスメントにおける不確実係数の考え方について説明した。また, 現在は投与用量と毒性との関係性を求め毒性評価を行っているが, 薬物動態における種差が大きい事から, 将来においては, 化学物質においても血中濃度と毒性との関係を十分に把握した上での評価が必要であることを述べた。また, 組織・臓器レベルでの反応性の種差を克服したレベルの高い評価を行うためにはヒト組織を用いた検討が必要であることを述べた。

Keywords: species difference, sex difference, risk assessment

大野泰雄: 安全な臨床試験の実施および効率的な医薬品開発のための非臨床試験実施タイミング

J. Toxicol. Sci., **24**, app.109-117 (1999)

臨床試験実施との関係における非臨床試験実施タイミングについてのICHでの合意結果を解説した。また, その背景となった第一相試験での有害事象発現事例及び非臨床試験結果からのヒトにおける有害作用の予測性について述べた。

Keywords: ICH, guideline, timing of non-clinical test, extrapolation to human

Ohno, Y.: Harmonization of the timing of non-clinical tests in relation to the conduct of clinical trials

J. Controlled Release, **62**, 57-63 (1999)

臨床試験実施との関係における非臨床試験実施タイミングについてICHで議論する事となった背景, ガイドラインの内容及び合意されずに残った問題点について解説した。また, 第一相試験での有害事象発現事例及びマウスとヒトとの間の静脈内投与による毒性発現の種差について述べた。一方, インターフェロンの作用発現における種差は必ずしも絶対的ではなく, ウサギや牛ではヒト型インターフェロンに対して強く反応することを示した。

Keywords: ICH, guideline, timing of non-clinical test, extrapolation to human, species difference, interferone, first phase clinical test

小泉修一: カルシウム遊離の基本単位- "spark & puff" 神経化学, **38**, 71-78 (1999)

近年の共焦点レーザー顕微鏡・多光子励起顕微鏡など光学系技術及び画像処理などのコンピュータ関係技術の格段の進歩により, 複雑な細胞内Ca²⁺濃度変化の詳細が明らかになりつつある。なかでも非常に微細で, 局所的, しかも速い応答であり "Ca²⁺遊離の基本単位" と呼ばれている "spark" 及び "puff", さらに "quark" 及び "blip" が実際に "見える" ようになり, その性質も明らかにされつつある。これらは当初, 非神経細胞で見つかった現象であるが, ごく最近, 神経細胞でもその存在が認められるようになった。Sparkおよびpuffの一般的な性質を説明するとともに, 神経細胞におけるspark及びpuffの特徴, その生理的な意義, さらにグローバルなCa²⁺応答への移行メカニズムについて解説した。

Keywords: elementary Ca²⁺ release events, neuron, ryanodine

Inoue, K., Koizumi, S., Ueno, S., Kita, Y., Tsuda, Y.: The function of ATP receptors in the synaptic transmission in the hippocampus

Progress in Brain Research, **120**, 193-206 (1999)

This review presents information that ATP inhibits presynaptically the release of glutamate, an excitatory neurotransmitter from the hippocampus. Meanwhile, ATP stimulates the release of glycine, an inhibitory neurotransmitter from interneurons of dorsal horn and GABA from some interneurons in hippocampus. The inhibition of glutamate release and the stimulation of GABA and glycine release have the same effect as a negative feedback loop, i.e. turning-down the activity of neurons stimulated by glutamate. There are many reports on the trophic action of ATP itself in CNS. Thus, ATP may have a role in the protection of the function of neurons in hippocampus from over-stimulation by glutamate.

Keywords: ATP, hippocampus, glutamate

小澤正吾: P450による代謝的活性化(毒性)

中毒研究, **12**, 383-388 (1999)

有機リン系農薬, 工業原料, 薬物, 環境変異原・癌原物質のうち, チトクロムP450により代謝的活性化を受けて毒性を発現すると考えられる例について, 代謝的活性化反応に関与するチトクロムP450分子種を示して概説した。

Keywords: 化学物質毒性, チトクロムP450, 代謝的活性化

Uneyama, C., Uneyama, H.*1, Torii, K.*1, Akaike, N.*2: Potassium-current oscillation of rat megakaryocytes: As a model system for drug evaluation (Review)

Intl. J. Mol. Med., **4**, 163-169 (1999)

Megakaryocytes respond to externally applied agonists showing a periodic K^+ current that reflects oscillation in cytoplasmic calcium concentration. We have revealed several signal transducing factors that are involved in the K^+ current oscillation of megakaryocytes. In this megakaryocyte system, it is relatively easy to determine what point of the signal transduction pathway a drug affects. In addition, as a progenitor cell, megakaryocytes resemble platelets which have important roles in many diseases. Therefore, this experimental system can be used for evaluation of new drugs.

Keywords: megakaryocyte, patch-clamp, signal transduction.

*¹ Basic Research Laboratories, Central Research Laboratories, Ajinomoto Co.Inc.

*² Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kyushu University

三森国敏：内分泌攪乱作用物質の毒性

日本農薬学会誌, **24**, 93-94 (1999)

果物、野菜には農薬が微量ながら含まれているが、このような農薬については残留基準値が設定されており、その基準値を超える農薬が含まれている場合は市販できない。合成エストロゲンは強いエストロゲン作用を持っており、今までの毒性試験では大量投与で明らかに内分泌器官に毒性が発現するということが既に報告されている。一方、農薬の中には、弱いエストロゲン作用を持つものがあるが、今までに実施された毒性試験では内分泌生殖器系に明らかな毒性を誘発させるものは非常に少ない。近年エストロゲン作用を検出するための *in vitro* 試験が開発されているが、ガイドラインとしては規定されていない。この *in vitro* 試験を用いると、微量投与でもエストロゲン作用が検出できるが、このような作用が *in vivo* においても有害作用を引き起こすか否かについては不明である。今までの毒性試験に用いられていた毒性試験指標に加えて、新しい感受性の高い毒性試験指標を採用して、これらの EDC の微量投与による生体あるいは胎児に対する影響の有無を明確にするための研究の実施が強く望まれる。

Keywords: pesticide, estrogenic action, endocrine disrupter

小林 浩*, 林 真：コメット法における泳動像の分類と評価

環境変異原研究, **21**, 231-236 (1999)

現在、有核細胞の DNA 損傷を調べる方法の一つとしてコメット法が関心を集めている。コメット法は、個々の細胞レベルにおける DNA 損傷が検出できる高感度な試験法として開発され、*in vivo*, *in vitro* を問わず、いろいろな分野に応用されてきた。この試験法には、さまざまなバリエーションが報告されており、それが研究者を悩ませる一つの要因となっている。しかし、スライドの作製・染色法、電気泳動の条件については対象となる細胞や各研究室の状況がそれぞれ異なっており、自ら最適な条件を見つける必要がある。この論文では、泳動像の分類と評価法について述べるが、どのような方法を採用すべきかについては、研究者が自らの研究室の状況や実験の目的を考慮した上で判断することであり、本報告がその指針となる。

Keywords: comet assay, DNA damage, image analysis

* 資生堂ライフサイエンス研究センター

林 真, 松井道子, 石井健二*, 川崎通昭*: 厚生省等による食品添加物の変異原性評価データシート (昭和 54 年度~平成 10 年度分)

環境変異原研究, **22**, 27-44 (2000)

本資料は厚生省が食品添加物の安全性再評価の一環として昭和 54 年度より毎年、既存の食品添加物を対象に、変異原性試験を行った結果の結論部分を表にまとめたものである。試験は指定添加物およびその他の添加物について実施され、一部は既に報告書として公表されている。しかし何分にもデータの数が多く、個々の物質の試験結果の検索や未実施の品目の検索など調査するには困難を伴う。試験結果の結論や未検討の品目の検索にはこれら報告書のデータをデータベース化することが有用である。日本食品添加物協会は昭和 60 年に日本菓子 B B 協会の協力を得て昭和 54 年度から昭和 58 年度迄の試験について整理し、その後日本食品添加物協会によってその後のデータをまとめ平成 2 年に要約集を作成したが、その後の整理は行われていなかった。今回のまとめは前報では収載されていなかった平成 3 年度以降の試験結果も含めてデータを集大成したもので、簡潔な表により結果が一覧出来る。

Keywords: food additives, database, genotoxicity

* 日本食品添加物協会

本間正充：内分泌攪乱化学物質がもたらす遺伝的不安定性

環境変異原研究, **21**, 281-285 (1999)

環境中に存在したり、我々の日常生活のなかで容易に接触する可能性のある汚染物質として、内分泌攪乱化学物質 (EDCs) への関心が高まっている。EDCs のいくつかは発がん性等が指摘されているが、そのメカニズムは明らかではない。本稿では EDCs によってもたらされる染色体組換え機構への攪乱による遺伝的不安定誘発機構について、最近の我々の知見をもとに紹介する。

Keywords: endocrine disruptor chemicals (EDCs), recombination, genomic instability

本間正充：多段階発がん過程における組み換え修復異常と染色体不安定性

放射線科学, **42**, 423-425 (1999)

染色体上に生じた DNA の 2 本鎖切断 (DSB) は、一般に End-rejoining または相同組換えによって修復されると考えられている。End-rejoining によって修復された場合は染色体の部分欠失をもたらす一方、相同染色体間で組換え修復が起こった場合は構造的変化を伴わない。一般的に、ほ乳類細胞では DSB の大部分は前者の End-rejoining によって修復されると考えられているが、遺伝的安定性を考えると、組換え修復の方が生体にとっては有利であるように思われる。我々はここで組み換え修復機構がほ乳類細胞においても遺伝的安定化に重要な役割を持っていると同時に、発癌過程における LOH (loss of heterozygosity) 型突然変異の発生にも寄与していることを示す。また、放射線等の外的因子や、遺伝的安定化に寄与していると考えられる p53 の及ぼす影響を考察し、ゲノム不安定化および染色体異常誘発の新しいモデルを提唱する。

Keywords: p53, genomic instability, double strand break (DSB) repair

水沢博, 田辺秀之, 増井徹, 高田容子, 樽松美治, 峰岸大輔, 吉田東歩*, 佐藤元信*, 竹内昌男*, 阿部武丸*, 原沢亮*: 技術情報, 培養細胞系に混入するウシウイルス性下痢症ウイルス (BVDV) の RT-PCR 法による検出 *Tissue Culture Research Communication*, **18**, 131-138 (1999) 我が国の細胞バンクでは培養細胞に混入する可能性のあるウイルスの検出体制の構築が遅れており早急に実施体制

を確立する必要に迫られている。日本組織培養学会細胞バンク委員会においては、この体制を早急に確立することを目的とし、各バンクで分担してウイルス検出法の検討を実施してきた。当該発表においては、厚生省細胞バンクにおいて実施したウシ血清に由来するとみられるウシ下痢症ウイルス (BVDV) の混入を確認する手法の確立とその結果多くの培養細胞にBVDVが混入している結果を明らかにして注意を促した。また、BVDV混入の原因がウシ血清に依存することも明らかにしBVDVフリー血清の供給体制の確立にも言及した。

Keywords: cell bank, virus infection, BVDV

^{*1}財団法人発酵研究所

^{*2}三菱化学中標津血清製造所

^{*3}東京大学医学部動物実験施設

Sofuni, T., Hayashi, M., Nohmi, T., Matsuoka, A., Yamada, M. and Kamata, E.: **Semi-quantitative evaluation of genotoxic activity of chemical substances and evidence for a biological threshold of genotoxic activity**

Mutat. Res., **464**, 97-104 (2000)

In Japan, the Chemical Substances Control Law requires evaluation of the genotoxic potential of chemical substances semi-quantitatively by application of a ranking system. During the past 10 years under the law, 1049 new chemical substances were evaluated by a reverse mutation assay in bacteria (RMA) and a chromosome aberration test in cultured mammalian cells (CAT). Of them, 130 (12.4%) were positive in the RMA and 402 (38.3%) were positive in the CAT. Eighty (7.6%) were positive in both tests. Fifty (4.8%) were positive only in the RMA, 322 (30.7%) were positive only in the CAT, and 452 (43.1%) were positive in either the RMA or the CAT. Thus, the tests complement each other in detecting genotoxic substances *in vitro*.

Keywords: genotoxic activity, semi-quantitative evaluation, biological threshold

Muller, L.^{*1}, Kikuchi, Y.^{*2}, Probst, G.^{*3}, Schechtman, L.^{*4}, Shimada, H.^{*5}, Sofuni, T. and Tweats, D.^{*6}: **ICH-Harmonised guidances on genotoxicity testing of pharmaceuticals: evolution, reasoning and impact**

Mutat. Res., **436**, 195-225 (1999)

ICH has convened an expert working group which consisted of the authors of this paper and their respective committees, consulting groups and task forces. Two ICH guidances regarding genotoxicity testing have been issued: S2A, "Guidance on Specific Aspects of Regulatory Genotoxicity Tests" and S2B, "Genotoxicity: A Standard Battery for Genotoxicity Testing of Pharmaceuticals." The authors are fully aware of the fact that some of the recommendations given in the guidances are transient in nature and that the dynamic qualities and ongoing evolution of genotoxicology makes necessary a continuous maintenance process.

Keywords: genotoxicity, test guidance, harmonization

^{*1}Federal Institute for Drugs and Medical Devices

^{*2}Rabito Institute

^{*3}Eli Lilly

^{*4}Food and Drug Administration

^{*5}Daiichi Pharmaceutical

^{*6}Glaxo Wellcome

Moore, M.^{*1}, Honma, M., Clements, J.^{*2}, Awogi, T.^{*3},

Bolcsfold, G.^{*4}, Cole, J.^{*5}, Gollapudi, B.^{*6}, Harrington-Brock, K.^{*1}, Mitchell, A.^{*7}, Muater, W.^{*8}, Myher, B.^{*2}, O'Donovan, M.^{*4}, Oudelhkim, M-C.^{*9}, San, R.^{*10}, Shimada, H.^{*11} and Stankowski Jr., L.^{*12}: **Mouse lymphoma thymidine kinase locus gene mutation assay: International workshop on genotoxicity test procedures workgroup report**

Environ. Mol. Mutagen. **35**, 185-190 (2000)

The mouse lymphoma assay (MLA) workgroup addressed and reached consensus on a number of issues. Discussion focused on five areas: (1) acceptable assay versions, (2) cytotoxicity measure, (3) 24-hr treatment, (4) microwell colony counting and sizing and (5) data acceptability/statistical analysis.

Keywords: MLA, Cytotoxicity, Long-term treatment

^{*1}Environmental Protection Agency

^{*2}Covance Laboratories Ltd.

^{*3}Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.

^{*4}AstraZeneca

^{*5}Medical Research Council

^{*6}The Dow Chemical Company

^{*7}Genesys Research, Inc.

^{*8}Hoffmann-La Roche Ltd.

^{*9}Rhone-Poulenc Rorer

^{*10}BioReliance Corporation

^{*11}Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd.

^{*12}Chrylasis Preclinical Services Corporation

Heddle, J.A.^{*1}, Dean, S.^{*2}, Nohmi, T., Boerrigter, M.^{*3}, Casciano, D.^{*4}, Douglas, G.R.^{*5}, Glickman, B.W.^{*6}, Gorelick, N.J.^{*7}, Mirsalis, J.C.^{*8}, Martus, H.J.^{*9}, Skopek, T.R.^{*10}, Thybaud, V.^{*11}, Tindall, K.R.^{*12} and Yajima, N.^{*13}: **In vivo transgenic mutation assays.**

Environ. Mol. Mutagen., **35**(3), 253-9 (2000)

The research overview of the International Workshop on Genotoxicity Test Procedures (IWGPT) held as a satellite meeting of the 30th Annual Environmental Mutagen Society Meeting.

Keywords: transgenic mutation assay, *lacI*, *lacZ*

^{*1}York University, Canada

^{*2}Research Toxicology Centre, Italy

^{*3}Leven, Inc., USA

^{*4}National Center for Toxicological Research, USA

^{*5}Environmental Health Centre, Canada

^{*6}University of Victoria, USA

^{*7}Procter & Gamble, Ivorydale Technical Center, USA

^{*8}SRI International, USA

^{*9}Novartis Pharma AG, Switzerland

^{*10}Merck Research Laboratories, USA

^{*11}Nonclinical Safety Assessment, France

^{*12}NIEHS, USA

^{*13}Snow Brand Milk Products Co., Ltd.

小泉睦子, 長谷川隆一: 環境化学物質の内分泌攪乱作用
日本油化学雑誌, **48**, app.33-39 (1999)

内分泌系, 内分泌かく乱化学物質およびその検出法について簡単に解説した後に, 哺乳動物に対して内分泌かく乱作用を有すると危惧されている環境化学物質のうち, 特に最近注目されているビスフェノールA, アルキルフェノール類, スチレンダイマーおよびトリマー, フタル酸誘導体およびダイオキシン類について, 最新の報告内容を中心に紹介した。最後に最近のトピックとして, 酵母を用いた検出系でのエストロゲン作用の劇的な相乗効果が報告され,

その後この報告が撤回されたことを紹介した。

Key words: endocrine disruptors, bisphenol A, alkylphenols

長谷川隆一, 小泉睦子, 鎌田栄一, 広瀬明彦, 菅野誠一郎^{*1}, 高月峰夫^{*2}, 黒川雄二: OECD 化学物質対策の動向 (第3報)

J. Toxicol. Sci., 25, app 83-96 (2000)

第8回および第9回のOECD高生産量化学物質初期評価会議において, 日本から提出した4および6化学物質の初期評価文書案のうち, 討議の結果その評価案に合意の得られた7物質 (benzyl chloride, pentaerythritol, 2,6-dichlorotoluene, isocyanuric acid, 2,2'-azobis(2-methylpropionitrile), dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate, 4-hydroxybenzoic acid) の評価文書について, 健康影響リスク評価部分の要点をまとめて紹介した。さらに, benzyl chlorideは日本から提出された物質としては初めて“今後の対策が必要”との結論となったものであり, isocyanuric acidは明確な消費者暴露に基づき暴露シナリオを用いたリスクが評価されており, これら2物質の評価に関する内容についても紹介した。

Keywords: OECD, high production volume chemicals, initial risk assessment, benzyl chloride, isocyanuric acid

^{*1} 労働省産業医学総合研究所

^{*2} 財団法人化学品検査協会 安全性評価技術研究所

岡田敏史: 東西合同技術 (研究) 常任委員会

大阪医薬品協会会報, 第602号, 95-104(2000)

大阪医薬品協会及び東京医薬品工業協会の合同技術 (研究) 常任委員会での講演内容をまとめたものである。日本薬局方調査会の理化学試験法委員会においての日局一般試験法 (理化学的試験法) に関わる審議状況について概説した。第二追補において, 熱分析法及び残留溶媒試験法が新たに規定されたこと, 浸透圧測定法が大幅に改正され, 新名称「浸透圧測定法 (オスモル濃度測定法)」の試験法となること, その他に原子吸光光度法, 水分測定法, ヒ素試験法が一部改正されたことを紹介した。

また, 吸光度測定法, 赤外吸収スペクトル測定法, 粘度測定法, 電気滴定法などが第14改正に向けて改正審議中であること及び改正の要点を紹介した。

Keywords: Japanese Pharmacopoeia, revision, physico-chemical tests in “General Tests, Processes and Apparatus”

四方田千佳子: 機器分析用試薬と標準物質—クロマトグラフィ—, 電気泳動—

ぶんせき, 8, 661-662(1999)

ガスクロマトグラフィ—, 高速液体クロマトグラフィ—, 電気泳動などの機器分析に用いられる試薬と標準物質の種類や入手方法について解説した。

Keywords: chromatography, electrophoresis, reagents

Saito, H. and Handa, T.*: Structure and dynamics of surface monolayers in lipid emulsions and their role in apolipoprotein binding

Curr. Topics Colloid Interface Sci. 3, 19-33 (1999)

血漿リポ蛋白質が分泌されてから異化されるまでの過程で起こる主要な脂質組成変化は, 表面コレステロールとコア中のコレステリルエステルの増加である。リポ蛋白質モデル粒子として脂質エマルジョンを用い, コレステロール及びそのエステルによる粒子構造の変化を詳細に検討した結果, コレステロールは表面膜アシル鎖の運動性を, コレステリルエステルはコアの流動性をそれぞれ低下させるこ

とで粒子構造に変化を与え, 結果としてアポリポ蛋白質の結合性を制御していることが明らかとなった。

Keywords: emulsions, lipoproteins, apolipoprotein

* 京都大学大学院薬学研究科

斎藤博幸, 半田哲郎*: 血漿アポリポタンパク質による脂質粒子認識のメカニズム

生物物理, 225, 285-289 (1999)

脂質粒子の表面膜へのアポリポ蛋白質の結合は, 膜に強い正の曲げのエネルギーを与える。エマルジョン単分子膜とリポソーム二分子膜に対するアポリポ蛋白質の結合 (認識) 性の著しい差異は, この曲げのエネルギーを緩和するメカニズムの違いによって説明され, エマルジョンでのアポリポ蛋白質の高い結合性は, コア脂質による曲げエネルギー低減効果によると考えられる。

Keywords: emulsions, bilayers, apolipoproteins

* 京都大学大学院薬学研究科

外海泰秀: HACCP に対する我が国の取り組みと将来のあり方

防菌防黴, 27(9), 593 - 598(1999)

HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point)による衛生管理手法を危害分析(Hazard analysis); 重点管理点(Critical Control Point), 管理基準(Critical Limit), 監視(Monitoring), 改善措置, 検証, 記録の7原則並びに12手順について解説した。また, HACCPに対するこれまでの我が国の取り組みの紹介と, HACCPの将来のあり方についての考察を行った。

Keywords: HACCP, HA, CCP

江馬 真: トリフェニルスズのラットにおける生殖毒性 関西実験動物研究会報, 20, 28-34 (1999)

船底や漁網の汚染防止剤, また農薬として使われてきたトリフェニルスズは, 巻貝にインボセックスを引き起こすことが知られており, 内分泌攪乱化学物質の一つと考えられている。triphenyltin chloride (TPTCI) の生殖毒性をラットを用いて検討した我々の実験結果について概説した。ラットの妊娠初期にTPTCIを投与したときに著しい着床阻害が惹起されることを明らかにした。TPTCIはプロゲステロンレベルの低下を引き起こし, 子宮における脱落膜反応の抑制, すなわち, 子宮機能の低下を引き起こし, これらが着床阻害作用の発現に関与していることが示唆された。また, TPTCIの代謝物のdiphenyltin dichloride (DPTCI) もTPTCIと同様に着床阻害作用を示すことを明らかにした。TPTCI及びDPTCIのこれからの作用の詳細な異同については今後の研究が必要である。

Keywords: triphenyltin, diphenyltin, pregnancy failure

柴田敏郎, 吉田清人^{*1}, 鈴木力^{*2}, 本間尚治郎^{*3}: 「第1回薬用植物に関するワークショップ—アイヌ民族の有用植物とその利用法について—」記録集

北国研究集録, 4, 1-28 (2000)

アイヌ民族の有用植物とその利用法について講演会と野外植物観察会を開催し, その時の講演内容, 活動記録及び観察した植物のリストについて記載した。

Keywords: Ainu people, useful plants

^{*1} 名寄市北国博物館

^{*2} 名寄郷土史研究会

^{*3} なよろ野の花の会

Fujiwara H., Haga H., Ishibashi, M., Kono N., Tanimoto T. (eds): "Rapid Examination Methods against Counterfeit and Substandard Drugs, 2nd Edition", Jiho, Tokyo(2000)

坂本知昭 訳: "アブライドセラピューティクス—症例解析にもとづく薬物治療— 第1巻", L. Y. Young, M. A. Koda-Kinble 編, 緒方宏泰日本語版総編, じほう, 東京(2000): 精神変調薬とフェンシクリジンの乱用, 第21章 pp.1-13

吉岡澄江: 総合製剤学, 「拡散, 溶解および放出現象」, 杉山雄一, 山本恵司編, 南山堂, 東京, 2000, 325-335

中原雄二: 薬物乱用の科学—乱用防止の知識, 研成社(2000) pp. 1-194

Hayakawa, T.: "Overview of the international endeavor toward harmonization of technical requirements for the control of new medicines from biotechnology", Animal Cell Technology: Challenges for the 21st Century: Proceedings of the Joint International Meeting of the JAACT and the ESACT 1998, ed. Ikura, K., Nagao, M., Masuda, S. and Sasaki, R., Kluwer Academic Publishers, Netherlands (1999), pp.215-219

川西徹: "生体の構造と機能を探る バイオイメーキングの最先端", 石川春律監修, 先端医療技術研究所, 東京(1999), pp.193-200

川西徹 翻訳: "グッドマンギルマン薬理書 薬物治療の基礎と臨床 第9版", 高折修二, 福田英臣, 藤原元始, 大森義仁, 高木敬次郎, 上條一也監訳, 廣川書店, 東京(1999), pp85-101, pp.2169-2230

Ishii-Watabe, A., Mizuguchi, H., Uchida, E., Yamaguchi, T., Kawanishi, T., Eguchi, A., Nakanishi, M., Mayumi, T. and Hayakawa, T.: "Progress in Drug Delivery System vol.VIII" Target Cell Specificity of Fusogenic Liposomes - Membrane Fusion-mediated Macromolecule Delivery into Human Blood Mononuclear Cells-, ed. Kimura, R., Hoshino, M., Oku, N., Nozawa, Y. and Sonobe, T., Biomedical Research Press, Tokyo (1999), pp.31-40

Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Kay, M. A.*: "Progress in Drug Delivery System vol.VIII" Efficient preparation method for a recombinant adenovirus vector based on simple plasmid construction, ed. Kimura, R., Hoshino, M., Oku, N., Nozawa, Y. and Sonobe, T., Biomedical Research Press, Tokyo (1999) pp.53-63

水口裕之: "米留学事情 - Mark A. Kay lab.-, 日本遺伝子治療学会 BULLETIN V", 日本遺伝子治療学会, 東京(1999), pp.3-4

水口裕之: "薬学と仕事", 日本薬学会ファルマシア委員会 編集, 日本薬学会, 東京(2000), pp.14

佐竹元吉, 関田節子他: 第十三改正日本薬局方第一追補解説書 (1998)

佐竹元吉, 関田節子他: 第十三改正日本薬局方第一追補解説書 (2000)

佐竹元吉: 薬用植物(生薬)需給の現状と将来展望 (1999)

佐竹元吉, 関田節子他: 21世紀の生薬・漢方製剤 (1999) pp.49-61, pp.111-117, pp.158-164, pp.385-387, pp.413-716

佐竹元吉: 薬剤師生涯教育テキスト (1999) pp.84-97

鹿庭正昭: "誰でもわかる抗菌の基礎知識", 第3章 抗菌剤・抗菌製品の安全性評価, 西村民男監修, テクノシステム, 東京(1999) pp.111-118

山中昭夫, 土屋利江, 西畑利明: "眼科の最先端", 眼科先端技術の規格と安全性, 増田寛次郎監修, 先端医療技術研究所, 東京(1999) pp.204-208

土屋利江: "金属系バイオマテリアルの基礎と応用", 発癌性・変異原性・催奇形性, 角田方衛, 筏 義人, 立石哲也編, アイピーシー, 東京(2000) pp.408-422

Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: "Surgical Implants and Other Foreign Bodies", Effects of different implant materials on inhibition of gap-junctional intercellular communications as an index of tumour promotion, IARC monographs of evaluation of carcinogenic risks of humans, vol.74, Lyon (1999) pp.290-293

Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: "Surgical Implants and Other Foreign Bodies", What initiates the formation of preneoplastic parent cells?, IARC monographs of evaluation of carcinogenic risks of humans, vol.74, Lyon (1999) pp.293-294

佐藤道夫: "眼科の最先端", 眼科先端技術の規格と安全性, 先端技術のチェックシステム—インプラント・データシステムを例にして—, 増田寛次郎監修, 先端医療技術研究所, 東京(1999) pp.209-214

吉川 翠, 阿部恵子, 小峰裕己, 松村年郎: "室内汚染とアレルギー—化学物質による室内汚染", 井上書院, 東京(1999), pp42~pp74

西村哲治他: "日本の水環境行政" (社)日本水環境学会編, ぎょうせい, 東京(1999) pp26~pp32

松田りえ子: "実用分析所認定ガイドブック", 日本分析化学会編, 丸善株式会社, 東京(2000) pp.39-54

村山三徳: "食品に残留する動物用医薬品の新知識", 中澤裕之, 堀江正一編, 食品化学新聞社, 東京(1998) pp.23-32

石綿 肇, 川崎洋子, 久保田浩樹, 坂元(佐々木)史歩, 佐藤恭子, 杉本直樹, 武田由比子, 辻 澄子, 津村ゆかり, 外海泰秀, 米谷民雄, 山田 隆, 他: "第7版食品添加物公定書解説書", 鈴木郁生, 野島庄七, 谷村顕雄監修, 廣川書店, 東京(1999)

石綿 肇: "くらしの豆知識 2000", 食品添加物の基礎知識, 国民生活センター, 東京(1999) pp.184-185

石綿 肇：“調理師教科全書 5 食品衛生学”，厚生省保健医療局生活習慣病対策室監修，全国調理師養成施設協会，東京（2000）pp.50-67, pp.83-87, pp.99-140, pp.188-192

河村葉子：“環境ホルモンのモニタリング技術 分析・測定法の実際”，森田昌敏監修，シーエムシー，東京（1999）pp.146-156

河村葉子：“衛生試験法・注解 2000”，日本薬学会編，金原出版，東京（2000）pp.593-606, pp.616-617

熊谷 進，小沼博隆，藤原真一郎，松岡隆介，矢野 豊，伊藤蓮太郎，朝倉征雄，古賀 毅，石内幸典，加藤 登，花岡 豊，九鬼 望，宮田俊彦，村上 清，伊勢宗弘：“HACCP：衛生管理計画の作成と実践”魚肉練り製品実践編，中央法規出版，東京（1999.9）pp.20-30

神沼二真，山本 都：“国際化学物質安全性カード（ICSC）第4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（1999）

平林容子，井上 達：“今日の老年医学 臨床と基礎”，日本老年医学会雑誌編集委員会編集，中外医学社，東京（2000）pp.234-243

津田充宥：“医薬品 GLP ガイドブック”，トキシコキネティクス試験の GLP 適用のあり方について，医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構 調査指導部内 GLP 研究会編，薬事日報社（1998）pp.48-76

大野泰雄：“医薬品 GLP ガイドブック”，トキシコキネティクスと GLP 上の留意点，医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構 調査指導部内 GLP 研究会編，薬事日報社（1999）pp.41-64

三森国敏：一般毒性試験からみた環境ホルモン，“環境ホルモンの問題とその対策”，化学物質安全情報研究会編，オーム社（1999）pp. 131-143

Hirose, M. and Ito, N.*: “Carcinogenicity: Testing, Predicting, and Interpreting Chemical Effects”, ed, Kitchin, K., Marcel Dekker, Inc. New York (1999) pp.467-497

* Nagoya City Medical School

Shirai, T.*, Hirose, M. and Ito, N.*: “The Use of Short- and Medium-term Tests for Carcinogens and Data on Genetic Effects in Carcinogenic Hazard Evaluation”, ed, McGregor, D. B., Rice, J. M. and Venitt, S., IARC Scientific Publications No. 146, IARC, Lyon (1999) pp. 251-272

* Nagoya City Medical School

Furukawa, F., Nishikawa, A., Lee, I-S.*, Nakamura, H., Miyauchi, M., Hirose, M.: Chemopreventive activity of oltipraz against induction of glandular stomach carcinogenesis in rats by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, “3rd International Gastric Cancer Congress”, ed, Kim J.-P., Monduzzi Editore, Bologna (1999) pp.185-189

* Keimyung University

Lee, I-S.*1, Kim, H-J.*1, Kim, A.*1, Nishikawa, A., Furukawa, F., Nakamura, H., Miyauchi, M., Hirose, M., Kim, S-U.*2: Effects

of *Selagenella tamariscina* on the expression of p53, G1 arrest in cell lines and glandular stomach carcinogenesis in rats initiated with MNNG, “3rd International Gastric Cancer Congress”, ed, Kim J.-P., Monduzzi Editore, Bologna (1999) pp.191-194

*1 Keimyung University, Korea

*2 Seoul University, Korea

Nishikawa, A., Furukawa, F., Lee, I-S.*1, Miyauchi, M., Kinae, N.*2, Hirose, M.: Promoting effects of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone [MX] on rat glandular stomach carcinogenesis initiated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, “3rd International Gastric Cancer Congress”, ed, Kim J.-P., Monduzzi Editore, Bologna (1999) pp.197-200

*1 Keimyung University, Korea

*2 School of Food and Nutritional Science, University of Shizuoka

Mitsumori, K., Onodera, H., Yasuhara, K., Takagi, H., Koujitan, T. and Hirose, M.: Modifying effects of methoxychlor in uterine carcinogenesis model using heterozygous p53 deficient CBA mice treated with N-ethyl-N-nitrosourea, In “ORGANOHALOGEN COMPOUNDS, vol. 42”, ed, Mocarelli, P., EMMEZETA Congressi, Milano (1999) pp. 97-100

Shibutani, M., Toyoda, K., Imazawa, T., Nakamura, H., Miyauchi, M., Koujitan, T., Tamura, T., Hirose, M.: Validation study of proposed protocol for an “Enhanced OECD test guideline 407” using flutamide and 17alpha-methyltestosterone, In “ORGANOHALOGEN COMPOUNDS, vol. 40”, ed, Mocarelli, P., EMMEZETA Congressi, Milano (1999) pp. 251-253

Mitsumori, K.: Alternative model using rasH2 transgenic mice: Its usefulness, unsolved points and future studies required to be performed to improve the model, In “Assessment of Pharmaceuticals for Potential Human Carcinogenic Risk”, ed, Lumley, C. and McAuslane, N., Center for Medicines Research International, East Sussex (1999) pp. 29-40

鈴木孝昌，山崎 洋：“発がん物質”，岩波講座 現代医学の基礎 10「細胞増殖とがん」，黒木登志夫，渋谷正史編，岩波書店，東京（1999）pp.71-87

Tanimoto, T.: “Rapid Examination Methods against Counterfeit and Substandard Drugs” 2nd Edition, ed, Fujiwara, H., Haga, H., Ishibashi, M., Kono, N. and Tanimoto, T., JICWELS & MHW, Tokyo (2000)

外海泰秀，鈴木 隆他：“環境ホルモンのモニタリング技術（分析・測定法の実際）”森田昌敏監修，シーエムシー，東京（1999）pp.163-171.

Hosokawa, K.: “X *Hyacinthus orientalis* L.: In Vitro Culture and the Production of Anthocyanin and Other Secondary Metabolites” in Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 43 Medicinal and Aromatic Plants XI, ed, Bajaj, Y.P.S., Springer-Verlag, Berlin Heidelberg (1999) pp.177-198

Ishimaru, K. and Shimomura, K.: “Genetic transformation in

Lobelia species" in Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 45, Transgenic Medicinal Plants, ed, Bajaj, Y.P.S., Springer-Verlag, Berlin Heidelberg (1999) pp. 157-177

Yoshimatsu, K. and Shimomura, K.: "Genetic transformation of *Papaver somniferum* L. (Opium poppy) for production of isoquinoline alkaloids" in Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 45, Transgenic Medicinal Plants, ed, Bajaj, Y.P.S., Springer-Verlag, Berlin Heidelberg (1999) pp. 178-192

Ishimaru, K., Yoshimatsu, K., Yamakawa, T., Kamada, H. and

Shimomura, K.: "Genetic transformation of *Phyllanthus niruri* L. (*P. amarus*)" in Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 45, Transgenic Medicinal Plants, ed, Bajaj, Y.P.S., Springer-Verlag, Berlin Heidelberg (1999) pp. 237-248

亀田龍吉, 永武ひかる, 長尾智子, 榊田千佳子, 阿部誠, 山岸喬, 香月茂樹, 高見澤幸子, 小西達夫, 小池洋男, 野村和子, 宮崎泰: "ハーブ・スパイス館", 阿部誠, 山岸喬, 香月茂樹監修, 小学館, 東京 (2000)

日本薬局方一般試験法に関する研究：石橋無味雄
日本公定書協会 医薬品の規格及び試験方法に関する研究費（平成11年4月～平成12年3月）、平成12年3月医薬安全局審査管理課及び公定書協会へ報告。

向精神薬の分析法に関する研究：中原雄二，最所和宏
委託研究（平成11年4月～平成12年3月）、平成12年4月厚生省医薬安全局麻薬課に報告。

新課題医療廃棄物の処理システムの構築に関する研究：松島 肇^{*1}，齋島由二，保科定頼^{*2}
厚生科学研究（平成11年4月～平成12年3月）、平成12年4月厚生省生活安全局水道環境部計画課に報告。

^{*1}浜松医科大

^{*2}東京慈恵会医科大

医療材料などにおけるエンドクリン阻害物質に関する研究：佐藤温重^{*1}，齋島由二，徳永祐司，江馬 眞，本郷敏雄^{*2}

厚生科学研究（平成11年4月～平成12年3月）、平成12年4月厚生省医薬安全局審査管理課に報告。

^{*1}昭和大学歯学部

^{*2}東京医科歯科大

加硫促進剤のN-(1-メチルヘプチル)-N'-フェニル-p-フェニレンジアミンの分析法策定：五十嵐良明，鹿庭正昭
家庭用品等調査研究費（平成11年4月～平成12年3月）、平成12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。

抗菌剤の2,3,5,6-テトラクロロ-4-(メチルスルホニル)ピリジンの分析法策定：五十嵐良明，鹿庭正昭
家庭用品等調査研究費（平成11年4月～平成12年3月）、平成12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。

イソプロピルキサンチン酸亜鉛，N-n-ブチル-1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン，2-(チオシアノメチルチオ)ベンゾチアゾール，4,4'-テトラメチレン-ビス(4-カルボモイル-1-デシルピリジニウムブロマイド)の細胞毒性：五十嵐良明，鹿庭正昭
家庭用品等調査研究費（平成11年4月～平成12年3月）、平成12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。

トリガータイプの家庭用エアゾル製品に関する研究：鹿庭正昭，山下 衛^{*}
厚生科学研究（平成11年4月～平成12年3月）、平成12年4月厚生省生活衛生局企画課に報告。

^{*}筑波大学臨床医学系

医療用具・医療材料の有効性・安全性・品質評価に関する研究：土屋利江，井上博之^{*}，齋島由二
厚生科学研究（平成11年4月～平成12年3月）、平成12年4月厚生省医薬安全局審査管理課に報告。

^{*}(財)食品農薬品安全性評価センター

医療用具の適正使用に関する研究：佐藤道夫，澤 充^{*1}，酒井順哉^{*2}
厚生科学研究（平成10年4月～平成12年3月）、平成12年

4月厚生省医薬安全局安全対策課へ報告。

^{*1}日本大学医学部

^{*2}名城大学大学院都市情報学研究所

居住環境内における揮発性有機化合物の全国実態調査：安藤正典，松村年郎
室内空気環境汚染化学物質対策事業（平成9年4月～平成11年3月）、平成11年11月厚生省生活衛生局企画課生活科学安全対策室に報告。

室内空気中の化学物質に関する調査研究：安藤正典，石川哲^{*1}，松村年郎，池田耕一^{*2}，内山巖夫^{*3}，原 邦夫^{*4}
厚生科学研究生活安全総合研究事業（平成11年4月～平成12年3月）、平成12年4月厚生省生活衛生局企画課生活科学安全対策室に報告。

^{*1}北里研究所病院

^{*2}国立公衆衛生院

^{*3}(財)労働科学研究所

国設自動車排ガス測定所における大気汚染実態調査：松村年郎，関田 寛，濱田実香，安藤正典
環境庁環境保全費（平成11年4月～平成12年3月）、平成12年5月環境庁大気保全局自動車環境対策第二課に報告。

内分泌かく乱化学物質の水道水からの暴露等に関する調査研究：安藤正典（分担研究）
厚生科学研究生活安全総合研究事業（平成11年4月～平成12年3月）、平成12年4月厚生省生活衛生局水道整備課に報告。

水道における化学物質の毒性、挙動及び低減化に関する研究検討会：安藤正典，西村哲治，相沢貴子^{*1}，大沢 英^{*2}，川地利明^{*3}，塩出貞光^{*4}，汐崎淳^{*5}，島垣純^{*6}，庄司成敬^{*7}，田畑彰久^{*8}，原口公子^{*9}，真久治^{*10}（分担研究）
厚生科学研究生活安全総合研究事業（平成11年4月～平成12年3月）、平成12年4月厚生省生活衛生局水道整備課に報告。

^{*1}国立公衆衛生院

^{*2}川崎市水道局

^{*3}北千葉広域水道企業団

^{*4}大阪市水道局水質試験所

^{*5}阪神水道企業団

^{*6}東京都水道局水質センター

^{*7}神奈川県環境科学センター

^{*8}北海道大学

^{*9}北九州市水道局水質試験所

^{*10}埼玉県南水道企業団水質検査所

シプロジニル試験法：高附 巧，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11年4月～平成12年3月）、平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

アシベンゾラルSメチル試験法：高附 巧，佐々木久美子，豊田正武
食品等試験検査費（平成11年4月～平成12年3月）、平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

残留農薬告示分析法の見直しに関する研究：佐々木久美子，豊田正武

食品等試験検査費(平成11年4月～平成12年3月),平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告

畜水産食品中の残留動物薬の試験法—トリクラベンダゾール,モキシデクチン—:村山三徳,豊田正武
厚生科学研究(平成10年4月～平成11年3月),平成11年3月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

畜水産食品中の残留有害物質に係るモニタリング検査—トリクラベンダゾール,モキシデクチン—:村山三徳,近藤一成,鈴木隆,豊田正武
食品等試験検査費(平成10年10月～平成11年3月),平成11年3月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

畜水産食品中の残留動物薬の試験法—オキシテトラサイクリン,クロルテトラサイクリン,テトラサイクリン,ジクラズリル,ナイカルバジン—:村山三徳,豊田正武
厚生科学研究(平成11年4月～平成12年3月),平成12年3月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

畜水産食品中の残留有害物質に係るモニタリング検査—オキシテトラサイクリン,クロルテトラサイクリン,テトラサイクリン,ジクラズリル,ナイカルバジン—:村山三徳,近藤一成,鈴木隆,豊田正武
食品等試験検査費(平成11年10月～平成12年3月),平成12年3月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

トウガラシ中のアフラトキシンの分析:合田幸広,豊田正武
食品等の規格基準の設定等に係わる試験検査費(平成11年4月～平成12年3月),平成12年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

遺伝子組換え技術応用食品(バイオ食品)等の規格試験確認:合田幸広,豊田正武
食品等の規格基準の設定等に係わる試験検査費(平成11年4月～平成12年3月),平成12年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

食品中のダイオキシン類等汚染物質の実態調査の実施:豊田正武,加藤元博^{*1},内部博泰^{*2}
食品等試験検査費(平成10年4月～平成11年3月),平成11年8月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

^{*1}福岡県保健環境研究所

^{*2}(財)日本食品分析センター多摩研究所

既存化学物質等試験検査(第二種特定化学物質暴露量調査研究):豊田正武,酒井洋^{*1},佐伯政信^{*2},星野庸二^{*3},田崎正善^{*4},豊村敬郎^{*5},谷村顕雄^{*6}
食品等試験検査費(平成10年4月～平成11年3月),平成11年4月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

^{*1}新潟県保健環境科学研究所

^{*2}千葉県衛生研究所

^{*3}埼玉県衛生研究所

^{*4}滋賀県立衛生環境センター

^{*5}長崎県衛生公害研究所

^{*6}昭和女子大学

食品中の添加物分析法の設定:山田 隆,石綿 肇,米谷民雄,川崎洋子,佐藤恭子
食品添加物規格基準設定費(平成11年4月～平成12年3月),平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

月),平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

カナダ産アップルシロップ中の着色料について:川崎洋子,武田由比子,石綿 肇,山田 隆
特別行政試験(平成11年4月～平成12年3月),平成11年11月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

甘味料アセスルファムカリウムの規格試験法の検討:石綿肇,阿部有希子,川崎洋子,武田由比子,山田 隆
食品添加物安全性再評価費(平成11年4月～平成12年3月),平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

1996年度(平成8年度)の行政検査を基にした食品添加物の使用濃度と摂取量の推定:山田 隆,石綿 肇,阿部有希子,川崎洋子,武田由比子,西島基弘^{*1},深澤喜延^{*2}
厚生科学研究(平成11年4月～平成12年3月),平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

^{*1}東京都立衛生研究所

^{*2}山梨県衛生公害研究所

食品中の未許可添加物の分析法の開発:山田 隆,川崎洋子,石橋 亨^{*1},中里光男^{*2}
厚生科学研究(平成11年4月～平成12年3月),平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

^{*1}(財)東京顕微鏡院

^{*2}東京都立衛生研究所

ポリ塩化ビニル製おもちゃからのフタル酸エステルの溶出に関する調査研究:山田 隆,杉田たき子
厚生科学研究(平成11年4月～平成12年3月),平成12年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

既存添加物の規格設定のための検討:米谷民雄,佐藤恭子,小見邦雄^{*1},川村 洋^{*2}
厚生科学研究(平成11年4月～平成12年3月),平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

^{*1}日本食品添加物協会

^{*2}日本香料工業会

必須アミノ酸製品等による健康影響に関する調査研究:米谷民雄,齊藤博士^{*},佐藤恭子
厚生科学研究(平成11年4月～平成12年3月),平成12年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

^{*}国立相模原病院

天然甘味料ラカンカ抽出物及びテンリョウチャ抽出物の主成分及び微量成分に関する試験結果: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11年4月～平成12年3月),平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

たばこ含有物質による健康増進に及ぼす影響に関する研究
たばこの葉の添加物の分析:山田 隆,杉本直樹,米谷民雄
厚生科学研究(平成11年4月～平成12年3月),平成12年3月厚生省健康政策局に報告。

ゴム製器具・容器包装中の間接添加物に関する研究:河村葉子
厚生科学研究(平成11年4月～平成12年3月),平成12年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

缶コーティングからのビスフェノールA及び関連化合物の溶出に関する研究：河村葉子
厚生科学研究（平成11年4月～平成12年3月），平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

ポリエチレンシートからの酸化防止剤及び紫外線吸収剤の溶出：河村葉子，山田 隆
容器包装等試験検査費（平成11年4月～平成12年3月），平成12年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

平成11年度体外診断用医薬品標準化調査班報告：河合忠^{*1}，梅本雅夫^{*2}，大澤 進^{*3}，菅野 剛^{*4}，桑 克彦^{*5}，澤田純一，瀬戸四郎^{*6}，谷山忠義^{*7}，中原一郎^{*8}
厚生科学研究（平成11年4月～平成12年3月），平成12年4月厚生省医薬安全局審査管理課に報告。

- *1 国際臨床管理センター
- *2 福祉・医療技術振興会
- *3 千葉大学医学部
- *4 浜松医科大学
- *5 筑波大学医療技術短期大学部
- *6 日本臨床検査薬協会
- *7 国立感染症研究所
- *8 東京大学医学部

食品中化学物質の相互作用に関する調査研究－アレルギーモデルを用いた化学物質の複合投与に関する研究：小野宏*，小島幸一*，金沢由基子*，澤田純一，手島玲子
厚生科学研究（平成11年4月～平成12年3月），平成12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

医療機関の放射線管理の適正化に関する研究：古賀佑彦^{*1}，池淵秀治，菊池 透^{*2}
厚生科学研究（平成11年4月～平成12年3月），平成12年4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

環境リスク対策における予見的アプローチに関する調査研究：大沢基保^{*1}，澤田純一，吉田貴彦^{*2}，小島幸一^{*3}，大塚文徳^{*1}，高橋和子^{*1}，手島玲子，木ノ上高章^{*4}，金沢由基子^{*3}，新藤智子^{*3}
環境基本計画推進調査事業（平成11年4月～平成12年3月），平成12年4月厚生省食品化学課に報告。
*1 帝京大学薬学部
*2 旭川医科大学医学部
*3 食品薬品安全センター
*4 東海大学医学部

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11年4月～平成12年5月），平成12年5月厚生省保健医療局結核感染症予防課に報告
* 岩手大学

調理施設におけるドライシステムによる微生物制御の有用性評価に関する研究：小沼博隆，丹野憲二*
厚生科学研究（平成11年4月～平成12年5月），平成12年5月厚生省生活衛生局食品保健課に報告
* 日本食品分析センター

微生物の汚染実態に関する研究：小沼博隆，宮原美知子，金子誠一^{*1}，増田高志^{*2}，後藤公吉^{*3}，正木宏幸^{*4}
厚生科学研究（平成11年4月～平成12年5月），平成12年5月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

- *1 都立衛生研究所
- *2 静岡県環境衛生科学研究所
- *3 新潟県保健環境科学研究所
- *4 埼玉県衛生研究所

医薬品等の副作用又は医療器具の不具合情報の収集および活用に関する研究：神沼二真，山本 都，別府宏暁^{*1}，福井直人^{*2}，屋敷幹雄^{*3}
厚生科学研究（平成11年4月～平成12年3月），平成12年4月厚生省医薬安全局安全企画課に報告。

- *1 都立府中療育センター
- *2 高松赤十字病院
- *3 広島大学医学部

化学物質による緊急健康危害対応のための情報に関する研究：山本 都，高井貴子，後藤京子*
厚生科学研究（平成11年9月～平成12年3月），平成12年4月厚生省大臣官房厚生科学課に報告
*（財）日本中毒情報センター

インターネットによる医薬品等の情報収集－インターネットの通信販売、輸入代行等のサイトで取引されている医薬品、薬毒物等に関する調査および問題点の検討－：山本 都
厚生科学研究（平成11年4月～平成12年3月），平成12年4月厚生省医薬安全局安全対策課に報告

化学物質の毒性情報等提供システムの調査・検討：山本 都
家庭用品等試験検査費（平成11年4月～平成12年3月），平成12年4月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告

毒物劇物の分類及び表示の国際調和に関する調査検討：山本 都
医薬品審査等業務庁費（平成11年4月～平成12年3月），平成12年4月厚生省医薬安全局安全対策課に報告

内分泌攪乱物質等、生活環境中の化学物質による健康リスクの評価における不確実性の解析に関する研究：関沢純，西川秋佳，三森国敏，江馬真，今井清^{*1}，吉田喜久雄^{*2}
厚生科学研究（平成11年4月～平成12年3月），平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告
*1 食品薬品安全センター秦野研究所
*2 通産省工業技術院資源環境技術総合研究所

化学物質のリスクコミュニケーション手法検討調査：浦野紘平^{*1}，関沢 純，北野 大^{*2}，長島 実^{*3}
日本化学会平成11年度環境庁委託研究（平成11年4月-平成12年3月），平成12年3月環境庁環境保健部環境安全課に報告
*1 横浜国立大学
*2 淑徳大学
*3 協和発酵工業（株）

ゴムネマ・シルベスターの慢性毒性試験：井上 達，降矢強，金子豊蔵，関田清司，斎藤 実，梅村隆志，小野 敦，小川幸男

健康食品安全性評価費(平成6年4月~平成11年4月)平成11年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品容器包装等関連化学物質の安全性確保に関する調査研究(中間報告):小川幸男

厚生科学研究(平成10年4月~平成12年4月),平成12年4月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

in vitro 試験法を用いた化粧品の安全性評価法及びその国際的ハーモナイゼーションに関する研究:大野泰雄, 田中憲穂^{*1}, 高松 翼^{*2}, 安藤正典, 森本雅憲^{*3}
医薬安全総合研究事業(平成10年4月~平成12年3月),平成12年4月医薬安全局審査管理課に報告。

^{*1}(財)食品薬品安全センター秦野研究所

^{*2}(財)日本化粧品工業連合会

^{*3}城西大学薬学部

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10年4月~平成12年3月),平成12年3月安原班長に報告。

2週間の反復投与毒性試験による雄性生殖器への影響評価の可否に関する研究:大野泰雄, 川島邦夫, 堺 俊治^{*1}, 高橋道人^{*2}, 馬屋原 宏^{*3}, 三森国敏
厚生科学研究(平成10年4月~平成11年3月),平成12年3月上田班長に報告。

^{*1}山之内製薬(株)

^{*2}昭和大学薬学部

^{*3}武田薬品工業(株)

BDF1マウスにおけるBiphenylの代謝,代謝物の毒性及び代謝酵素に及ぼす影響のF344ラットとの比較研究:大野泰雄, 紅林秀雄, 小澤正吾, 津田充宥, 篠内桃子, 宮島敦子, 酒見和枝, 厚生科学研究移替予算(平成9年4月~平成10年3月),業務課及び厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

内分泌かく乱物質のヒトへの影響評価を指向した試験系の開発:大野泰雄, 中澤憲一, 佐藤薫

厚生化学研究費生活安全総合研究事業(平成11年4月~平成14年3月)

食品中化学物質の相互作用等に関する調査研究:大野泰雄, 紅林秀雄, 山添康^{*1}, 杉山雄一^{*2}

厚生省残留農薬安全対策総合調査研究事業(平成10年4月~平成12年3月),平成12年3月広瀬班長に報告。

^{*1}東北大学薬学部

^{*2}東京大学薬学部

ダイオキシン類の健康影響に関する総合的評価研究(ダイオキシン類の体内負荷量に関する評価に関する研究):大野泰雄

厚生化学研究費生活安全総合研究事業(平成10年4月~平成13年3月),平成12年4月長谷川班長に報告。

シアナット色素の90日間反復投与毒性試験(中間報告):古川文夫, 西川秋佳, 今沢孝喜, 広瀬雅雄

食品添加物安全性再評価費(平成11年4月~平成12年3月),平成12年5月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

トコトリエノールの90日間反復投与毒性試験(中間報告):古川文夫, 西川秋佳, 今沢孝喜, 広瀬雅雄

食品添加物安全性再評価費(平成10年4月~平成11年3月),平成12年5月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

ホコッシ抽出物の90日間毒性試験(最終報告書):小野寺博志, 三森国敏, 安原加壽雄, 広瀬雅雄

食品添加物安全性再評価費(平成10年4月~平成11年3月),平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

没食子酸の13週間反復投与毒性試験(最終報告):仁保直子, 渋谷淳, 豊田和弘, 畝山智香子, 広瀬雅雄

食品添加物安全性再評価費,食品添加物安全性試験(平成10年4月~平成11年3月),平成12年5月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

納豆菌ガムの90日間反復投与毒性試験(最終報告):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~9年3月),平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

キシロースのF344ラットにおける癌原性試験(中間報告):今沢孝喜, 古川文夫, 西川秋佳, 広瀬雅雄

食品添加物安全性再評価費(平成9年4月~12年3月),平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

パラオキシ安息香酸イソプロピル(パラベン)のラットにおける癌原性試験(最終報告):小野寺博志, 三森国敏, 安原加壽雄, 広瀬雅雄

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12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

ベクチン分解物のF344ラットにおける慢性毒性・発がん性試験(中間報告):安原加壽雄, 高木久宜, 小野寺博志, 三森国敏, 広瀬雅雄

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12年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

硫酸アンモニウムの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, 広瀬雅雄

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12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

アカネ色素の慢性毒性・発がん性併合試験(中間報告):渋谷 淳, 榎富直哉, 豊田和弘, 畝山智香子, 広瀬雅雄

食品添加物安全性再評価費,食品添加物安全性試験(平成10年4月~平成12年3月),平成12年5月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

塩化マグネシウムのF344ラットにおける慢性毒性・発がん性試験(中間報告):安原加壽雄, 小野寺博志, 三森国敏, 広瀬雅雄

食品添加物安全性再評価費(平成10年4月~平成13年3月),平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

ルチン酵素分解物のF344ラットにおける90日間反復投与毒性試験(中間報告):安原加壽雄, 田村啓, 小野寺博志, 三森国敏, 広瀬雅雄

食品添加物安全性再評価費(平成11年4月~平成12年3月),平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

乳酸鉄のF344ラットにおける長期毒性・発がん性試験（最終報告）：安原加壽雄，小野寺博志，三森国敏，広瀬雅雄

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12年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

麩酸の甲状腺発癌メカニズムの検討（中間報告書）：三森国敏，田村啓，小野寺博志，広瀬雅雄

食品添加物安全性再評価費（平成11年4月～平成12年3月），平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

フルメキンの肝発癌メカニズムに関する研究（最終報告書）：三森国敏，小野寺博志，安原加壽雄，広瀬雅雄
畜産食品中の残留有害物質に係わる資料の収集・解析および毒性試験（平成10年4月～平成11年3月），平成12年3月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

イソチオシアネート類の膀胱発癌作用に関する研究（中間報告）：豊田和弘，畝山智香子，渋谷 淳，広瀬雅雄
食品添加物安全性再評価費，発がんメカニズム（平成10年4月～平成12年3月），平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

食品添加物の変異原性に関する研究—天然添加物の哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験：松岡厚子，坂本浩子，林 真
（昭和63年10月～平成12年3月），平成12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
（平成元年4月～平成12年3月），平成12年3月労働省労働基準局化学物質調査課に報告。

ダイオキシン類の健康影響に関する総合的評価研究：長谷川隆一，黒川雄二，大野泰雄，江馬真，広瀬明彦
厚生科学研究（平成11年4月～平成14年3月），平成12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。

内分泌かく乱物質等，生活環境中化学物質による人の健康影響についての試験法に関する研究—ダイオキシン類の毒性学的研究における国際動向に関する研究：長谷川隆一，広瀬明彦
厚生科学研究（平成10年4月～平成13年3月），平成12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。

内分泌かく乱物質等，生活環境中化学物質による人の健康影響についての試験法に関する調査—内分泌かく乱物質等の文献情報に関する調査研究：長谷川隆一，広瀬明彦
厚生科学研究（平成10年4月～平成13年3月），平成12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。

水道における化学物質の毒性，挙動及び低減化に関する研究—毒性情報の評価：長谷川隆一，広瀬明彦，西川秋佳，江馬 真，紅林秀雄，山田雅巳
厚生科学研究（平成10年4月～平成13年3月），平成12年3月厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課に報告。

OECD／HPV点検化学物質安全性調査：長谷川隆一，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12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。

日局一般試験法（理化学的試験法）の改正に関する研究：岡田敏史

厚生科学研究（平成11年4月～平成12年3月），厚生省医薬安全局審査管理課に報告

ICH／GMPガイドライン：岡田敏史

厚生科学研究（平成11年4月～平成12年4月），厚生省医薬安全局監視指導課に報告

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—HPLCによるアゾ系食用タール色素中の未反応原料，反応中間体及び副成色素のスクリーニング法並びにそれらの実態調査について）：辻 澄子，天倉吉章，外海泰秀

食品等試験検査費（平成11年4月～12年3月），平成12年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品添加物規格基準設定費（食品中の添加物分析法の設定—エラグ酸の分析法：天倉吉章，辻 澄子，外海泰秀
食品等試験検査費（平成11年4月～12年3月），平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品添加物規格基準設定費（化学的合成品以外の食品添加物の規格基準の設定—エラグ酸の規格設定：天倉吉章，辻澄子，外海泰秀

食品等試験検査費（平成11年4月～12年3月），平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品残留農薬告示分析法検討費（農産物中に残留するクレトジムの告示試験法についての検討）：石光 進，吉井公彦，開原亜樹子，津村ゆかり，中村優美子，外海泰秀
農薬衛生対策推進費（平成11年4月～12年3月），平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

残留農薬分析再評価検討費（フルスルファミド，ペンタゾン，イナベンフィド試験法の検討並びにバミドチオン，メチオカルブ，ニテンピラム試験法の検討）：外海泰秀，石光 進，吉井公彦，開原亜樹子，津村ゆかり，中村優美子
食品化学課試験検査費（平成11年4月～12年3月），平成12年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

新開発食品等の安全性の確保に関する研究，茶ポリフェノール及びタンニン酸の脂質代謝，抗酸化能及びミネラル排泄に及ぼす影響：中村優美子，津村ゆかり，吉井公彦，開原亜樹子，石光進，外海泰秀
厚生科学研究（平成11年4月～12年3月），平成12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。

フタル酸エステル類及びフェノール類の食品汚染実態及び摂取量に関する調査研究：外海泰秀，今中雅章，酒井洋，小林ゆかり，斎藤勲，石光進，津村ゆかり，開原亜樹子，佐々木久美子，根本了，植田英一，村上恵美子
厚生科学研究（平成11年4月～12年3月），平成12年4月厚生省大臣官房厚生科学課に報告。

輸入農産物の試験方法に関する研究：吉井公彦，開原亜樹子，中村優美子，津村ゆかり，石光 進，外海泰秀

厚生科学研究(平成11年4月~12年3月),平成12年4月
厚生省大臣官房厚生科学課に報告。

内分泌かく乱化学物質等、生活環境中化学物質による人の
健康影響についての試験法に関する調査研究-フタル酸エ
ステルによる生殖障害に関する研究:江馬 真,原園 景,
宮脇 英美子

厚生科学研究(平成11年4月~平成12年3月),平成12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。

医療材料などにおけるエンドクリン阻害物質に関する研
究-フタル酸エステル等の発生毒性:江馬 真,宮脇 英
美子

厚生科学研究(平成11年4月-平成12年3月),平成12年3
月厚生省医薬安全局審査管理課に報告。

内分泌かく乱物質等、生活環境中の化学物質による健康リ
スク評価における不確実性に関する調査研究-有機すず

他の生殖毒性データの定量的評価と不確実性要因の解析:
江馬 真

厚生科学研究(平成11年4月-平成12年3月),平成12年3
月厚生省生活衛生局企画課に報告。

ダイオキシン類の健康影響に関する総合的評価研究-ダイ
オキシン類の生殖発生毒性に関する評価に関する研究:江
馬 真,原園 景

厚生科学研究(平成11年4月-平成12年3月),平成12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。

既存化学物質の生殖毒性発現に関する研究-ラットにおけ
る *monobutyl phthalate* の生殖発生毒性試験:江馬 真,原
園 景,宮脇 英美子

既存化学物質等試験研究費(平成11年4月-平成12年3月),
平成12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。

鹿庭なほ子：溶出試験とバイオアベイラビリティ
日本薬学会第24回製剤セミナー（1999.7）

青柳伸男：放出制御製剤の設計と評価
第15回DDS学会（1999.7）

Aoyagi, N.: **Japanese Guidance on Bioavailability and Bioequivalence**
Bio-international 99 conference（1999.9）

鹿庭なほ子：品質再評価
第36回全国薬事指導協議会総会（1999.12）

青柳伸男, 森原元彦, 石井文由, 緒方宏泰：**in vitro** 溶出速度と生物学的同等性との関連—インドメタシン製剤
日本薬学会第120年会（2000.3）

石井文由, 緒方宏泰, 青柳伸男, 森原元彦, 青木茂, 毛利元昭, 渡邊純男：**in vitro** 溶出速度と生物学的同等性との関連—アセトアミノフェン製剤
日本薬学会第120年会（2000.3）

香取典子, 鹿庭なほ子, 青柳伸男, 小嶋茂雄：日本薬局方重量偏差試験の問題点および改善—製剤外皮の影響と消費者危険
日本薬学会第120年会（2000.3）

森原元彦, 青柳伸男, 香取典子, 鹿庭なほ子, 小嶋茂雄：パドル法の攪拌強度に与える測定条件の影響
日本薬学会第120年会（2000.3）

鹿庭なほ子, 尾島善：分析法バリデーション—精度評価実験の実験計画に関する考察
日本薬学会第120年会（2000.3）

吉岡澄江：医薬品の低温保存と安定性
第45回低温生物工学会セミナー（1999.5）

村勢則郎*, 堀江勝廣*, 類家正稔*, 梶原一人*, 吉岡澄江：デキストラン水溶液の凍結融解挙動
第45回低温生物工学会年会（1999.5）
*東京電機大学理工学部

吉岡澄江：DSC等の熱分析による医薬品の安定性評価
第42回熱測定講習会（1999.9）

阿曾幸男, 吉岡澄江, 小嶋茂雄：NMR緩和時間によって測定される非晶質医薬品の運動性と結晶化速度の関係
第38回NMR討論会（1999.10）

Izutsu, K., Kojima, S.: **Phase separation of protein and polymer excipients in frozen solutions.**
American Association of Pharmaceutical Scientists, 13th Annual Meeting（1999.11）

伊豆津健一, 小嶋茂雄：タンパク質と高分子添加剤の凍結濃縮による複数アモルファス相への分離と共存物質の影響
日本薬学会第120年会（2000.3）

阿曾幸男, 吉岡澄江, 小嶋茂雄：ニフェジピン-PVP固体

分散体の物理的安定性—DSCによる検討
日本薬学会第120年会（2000.3）

吉岡澄江：医薬品の品質保証を巡る新しい考え方—ブラケティング&マトリキシング
日本薬学会第120年会シンポジウム（2000.3）

Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: **Molecular Mobility and Stability of Lyophilized Protein Formulations**
15th Annual Meeting of the Academy of Pharmaceutical Science and Technology, Japan, Joined by the Association de Pharmacie Galenique Industrielle（2000.4）

Aso, Y., Yoshioka S., Kojima S.: **Relationship between the crystallization rates of amorphous nifedipine, phenobarbital and flopropione, and molecular mobility as measured by enthalpy relaxation time and ¹H-NMR relaxation time.**
Millennial World Congress of Pharmaceutical Sciences（2000.4）

上堀雅由*, 熊木祐介*, 大江知行*, 宮原武恒*, 豊岡利正*, 中原雄二：ゾラム系向精神薬のHPLC-ESI/MSによる毛髪分析
第10回クロマトグラフィー科学会議記念大会（1999.10）
*静岡県立大薬学部

最所和宏, 中原雄二, 田中栄之介*¹, 仁平信*²：毛髪中のフェニトインとフェノバルビタールの抽出・分析法とラット毛髪への移行性について
日本薬学会第120年会（2000.3）
*¹筑波大・法医
*²日医大・法医

Scott, K.S., 中原雄二：毛髪中LSD代謝物2-Oxo-3hydroxy LSDの抽出法・分析法の検討
日本薬学会第120年会（2000.3）

上堀雅由*, 熊木祐介*, 大江知行*, 宮原武恒*, 豊岡利正*, 中原雄二：ゾラム系向精神薬のHPLC-ESI/MSによる毛髪分析
日本薬学会第120年会（2000.3）
*静岡県立大薬学部

Nakanishi, M.*¹, Mayumi, T.*², and Hayakawa, T.: **Development of Hybrid Vectors**
第5回遺伝子治療学会（1999.6）
*¹大阪大学微生物病研究所
*²大阪大学薬学部

Hayakawa, T.: **Japanese Perspective with Respect to Quality Control of Biotechnological/Biological Products**
Biologicals Beyond 2000（1999.9）

Hayakawa, T., Ohta, M., and Kawasaki, N.: **Current analytical procedures for glycosylation Biologicals Beyond 2000**（1999.9）

Hayakawa, T.: **Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin: ICH Viral Safety Guideline, ICH and the Canadian Drug Regulatory System**（1999.11）

今津 進*, 林 和行*, 津田育弘*, 堤 康央*, 中川晋作*, 真弓忠範*, 早川堯夫: 膜融合リボソームの癌遺伝子免疫療法への応用
日本薬学会第120年会 (2000.3)
* 大阪大学薬学部

Hayakawa, T.: **Evaluation and Control of Biotechnology Products**
Millennial World Congress of Pharmaceutical Sciences (2000.4)

Yamagata, T.*¹, Tanaka, K.*¹, Hyuga, S., Watanabe, Y.*², Hyuga, M., Hatanaka, Y.*², and Yamagata, S.*¹: **Ganglioside GD1a controlling cell adhesion capacity by regulating integrins**
The 15th International Symposium on Glycoconjugates (1999.8)

*¹ (財)日本皮革研究所

*² 東京工業大学生命理工学部

小田泰雄*¹, 中山勝善*¹, 木下充弘*¹, 周 長林*¹, 川崎ナナ, 早川堯夫, 掛樋一晃*¹, Abdul-Rahman, B.*², Lee, Y. C.*²: **サフラン球根レクチン (Crucis sativus lectin) はN結合型糖鎖のコア構造を認識する**
第72回日本生化学会大会 (1999.10)

*¹ 近畿大学薬学部

*² Department of Biology, Johns Hopkins University

橋本 統, 川崎ナナ, 杉野 弘*, 早川堯夫: フォリスチン分子種によるアクチビン情報伝達阻害機構
第72回日本生化学会大会 (1999.10)

* 徳島大学分子酵素学研究中心

田中啓友*¹, 日向須美子, 畑中保丸*², 畑中研一*², 日向昌司, 山形貞子*¹, 山形達也*¹: **IV型コラーゲンに対する細胞接着を制御するガングリオシド**
第72回日本生化学会大会 (1999.10)

*¹ (財)日本皮革研究所

*² 東京工業大学生命理工学部

Oda, Y.*¹, Nakayama, K.*¹, Kinoshita, M.*¹, Kawasaki, N., Hayakawa, T., Kakehi, K.*¹, Abdul-Rahman B.*², and Lee, Y. C.*²: **Crocus sativus lectin recognizes (Man)3-GlcNAc in the N-glycan core structure**
Annual Conference of the Society for Glycobiology (1999.10)

*¹ 近畿大学薬学部

*² Department of Biology, Johns Hopkins University

日向須美子, 川崎ナナ, 日向昌司, 太田美矢子, 山形貞子*, 山形達也*, 早川堯夫: **ガングリオシドGD1aによるVEGF発現の抑制**

日本薬学会第120年会 (2000.3)

* (財)日本皮革研究所

川崎ナナ, 太田美矢子, 日向昌司, 日向須美子, 早川堯夫: **LC/MS及びLC/MS/MSを用いたエリスロポエチンN結合糖鎖の不均一性の解析**

日本薬学会第120年会 (2000.3)

太田美矢子, 川崎ナナ, 日向昌司, 日向須美子, 早川堯夫: **糖タンパク質の糖ペプチドマッピングによる分析法としてのLC/MSの有用性**

日本薬学会第120年会 (2000.3)

豊田淑江, 山口照英, 内田恵理子, 早川堯夫: **HL-60細胞の好中球分化におけるトランスフェリン受容体の発現の差異と分化・増殖能との関連について (第2報)**
第20回日本炎症学会 (1999.7)

豊田淑江, 山口照英, 内田恵理子, 押澤 正, 早川堯夫: **トランスフェリン受容体 (Trf-R) の発現の差異によるHL-60細胞の好中球への分化能の解析 (第2報)**
第72回日本生化学会大会 (1999.10)

田中光*¹, 増宮晴子*¹, 重信弘毅*¹, 川西 徹, 早川堯夫, 宮田節也*², 佐藤洋一*², 中村 竜*³: **心筋収縮時の細胞内カルシウムイオン濃度上昇初期相の高速画像化: 心房筋, 心室筋での興奮収縮連関の差異**
第8回日本バイオイメーキング学会学術集会 (1999.10)

*¹ 東邦大学薬学部

*² 岩手医科大学医学部

*³ (株)ニコン

柴山理恵, 河合 洋, 川西 徹, 早川堯夫: **初代培養肝細胞のカルシウムウェーブの発生メカニズムについて—イノシトール三リン酸受容体の細胞内局在との関係—**
第8回日本バイオイメーキング学会学術集会 (1999.10)

川西 徹, 田中 光*¹, 増宮晴子*¹, 中村 竜*², 宮田節也*³, 佐藤洋一*³, 早川堯夫, 重信弘毅*¹: **心房筋細胞と心室筋細胞の細胞内カルシウムイオン濃度の差異**
第24回レーザー顕微鏡研究会 (1999.11)

*¹ 東邦大学薬学部

*² (株)ニコン

*³ 岩手医科大学医学部

川西 徹, 柴山理恵, 河合 洋, 早川堯夫: **ラット肝細胞におけるイノシトール三リン酸による細胞内貯蔵部位からのカルシウムイオンの遊離のトリブチル錫による抑制**
第73回日本薬理学会年会 (2000.3)

久光 隆*¹, 大幡久之*¹, 川西 徹, 天野 均*², 山田庄司*², 百瀬和享*¹: **イノシトール三リン酸によるカルシウムイオン遊離へのナトリウムイオン/カルシウムイオン交換系の関与**

第73回日本薬理学会年会 (2000.3)

*¹ 昭和大学薬学部

*² 昭和大学歯学部

増宮晴子*¹, 関根敏行*¹, 川西 徹, 早川堯夫, 宮田節也*², 佐藤洋一*², 中村 竜*³, 田中 光*¹, 重信弘毅*¹: **心筋収縮時の細胞内カルシウムイオン濃度上昇初期相の高速画像化: 心房筋, 心室筋間での興奮収縮連関の差異**
第73回日本薬理学会年会 (2000.3)

*¹ 東邦大学薬学部

*² 岩手医科大学薬学部

*³ (株)ニコン

川西 徹, 柴山理恵, 河合 洋, 早川堯夫, 大幡久之*¹, 百瀬和享*¹, 田中光*², 重信弘毅*², 宮田節也*³, 佐藤洋一*³, 中村 竜*⁴: **高速共焦点顕微鏡による細胞内膜系カルシウムチャンネルの開口のイメージング**

Focus on Microscopy 2000 ワークショップ (2000.4)

*¹ 昭和大学薬学部

*² 東邦大学薬学部

*3 岩手医科大学医学部

*4 (株)ニコン

Tanaka, H.*¹, Masumiya, H.*¹, Sekine, T.*¹, Kase, J.*¹, Kawanishi, T., Hayakawa, T., Miyata, S.*², Satoh, Y.*², Nakamura, R.*³, Shigenobu, K.*¹: **Rapid scanning confocal imaging of calcium transients, waves, and sparks in atrial and ventricular cardiomyocytes**

Focus on Microscopy 2000 -The 12th International Conference on Confocal Microscopy (2000.4)

*¹ 東邦大学薬学部

*² 岩手医科大学医学部

*³ (株)ニコン

Kawanishi, T., Yamamoto, M.*, Yamakawa, S.*, Takada, N.*, Shibayama, R., Ohata, H.*, Momose, K.*, Hayakawa, T.: **Calcium-independent irreversible perturbation of regulatory mechanisms of intracellular ion concentration induced by glutamate in rat hippocampal neuronal cells**

Focus on Microscopy 2000 -The 12th International Conference on Confocal Microscopy (2000.4)

* 昭和大学薬学部

水口裕之, 早川堯夫, Mark A. Kay*: **簡便なプラスミド構築に基づいたアデノウイルスベクター作製法の開発**

第8回 DDSカンファレンス (1999.6)

* Stanford University

石井 (渡部) 明子, 水口裕之, 内田恵理子, 山口照英, 川西徹, 江口暁子*¹, 中西真人*¹, 真弓忠範*², 早川堯夫: **ヒト血球系細胞における膜融合リソソームの標的細胞特異性**

第8回 DDSカンファレンス (1999.6)

*¹ 大阪大学微生物病研究所

*² 大阪大学薬学部

Mizuguchi, H., and Mark A. Kay*: **A Simple Method for Generating New Recombinant Adenovirus Vectors Based on In Vitro Ligation**

American Society of Gene Therapy, 2nd Annal Meeting (1999.6)

* Stanford University

Mizuguchi, H., Hayakawa, T., and Mark A. Kay*: **Efficient Construction of a Recombinant Adenovirus Vector by an Improved In Vitro Ligation Method.**

第5回遺伝子治療学会 (1999.6)

* Stanford University

水口裕之, 早川堯夫: **簡便なアデノウイルスベクター作製法の開発と次世代ベクターへの応用**

第15回日本DDS学会 (1999.7)

水口裕之, 早川堯夫: **IRES配列を有した bicistronic ベクターにおける first 遺伝子と second 遺伝子の発現効率の比較**

第58回日本癌学会総会 (1999.9)

石井 (渡部) 明子, 内田恵理子, 早川堯夫: **プラスミンによる血小板凝集における ADP の priming 機構について**

第72回日本生化学会大会 (1999.10)

水口裕之, 細野哲司, 村井 淳, 石井 (渡部) 明子, 内田

恵理子, 早川堯夫: **Epstein-Barr ウイルス由来プラスミドを用いた遺伝子発現の長期化及び増強—齧歯類細胞における検討—**

日本薬学会 120 年会 (2000.3)

小林 哲, 新見伸吾, 橋本 統, 早川 堯夫: **四塩化炭素投与ラット肝再生モデルにおけるインヒビリン β A, β B 鎖並びにフォリスタチン mRNA の発現調節**

第6回肝細胞研究会 (1999.6)

新見伸吾, 滝沢 満*, 関泰一郎*, 有賀豊彦*, 小林 哲, 早川 堯夫: **初代培養ラット肝細胞におけるハービマイシン A 依存的なグルココルチコイド受容体の減少に関するプロテアーゼの同定**

第6回肝細胞研究会 (1999.6)

* 日本大学生物資源科学部

新見伸吾, 滝沢 満*, 関泰一郎*, 有賀豊彦*, 小林 哲, 早川 堯夫: **初代培養ラット肝細胞におけるハービマイシン A 依存的なグルココルチコイド受容体の減少に関するプロテアーゼの同定**

第72回日本生化学会大会 (1999.10)

* 日本大学生物資源科学部

後藤洋子*, 新見伸吾, 早川堯夫: **絹蛋白質及び糖鎖修飾絹蛋白質への肝細胞接着挙動**

日本化学会第78春季年会 (2000.3)

* 蚕糸・昆虫農業技術研究所

川原信夫: **日本と中国の規格値の共通点と相違点**

第2回薬局方生薬に関する日中国際共同シンポジウム (1999.7)

袴塚高志*, 水流真依子*, 倉田敦代*, 笠井加都*, 川原信夫, 関田節子, 佐竹元吉: **骨代謝関連遺伝子の発現を変調させる天然物活性化合物の探索**

第12回天然薬物の開発と応用シンポジウム (1999.7)

* 東京理科大学薬学部

川原信夫, 関田節子, 佐竹元吉, 倉田敦代*, 水流真依子*, 笠井加都*, 袴塚高志*: **ブラジル生薬 Bucha の化学的研究 (2)**

日本生薬学会第46年会 (1999.9)

* 東京理科大学薬学部

黒柳正典*¹, 杉山和優*², 金沢雅紘*³, 川原信夫: **トドマツの転移ラノスタン型トリテンベン**

第43回精油・テルペン精油化学に関する討論会 (1999.10)

*¹ 広島県立大学生物資源学部

*² 静岡県立大学薬学部

*³ 拓豊産業

黒柳正典*¹, 関 貴弘*², 林 達男*³, 永島慶士*³, 川原信夫, 関田節子, 佐竹元吉: **Carucaa のトリテルペンとその抗男性ホルモン作用**

第41回天然有機化合物討論会 (1999.10)

*¹ 広島県立大学生物資源学部

*² 静岡県立大学薬学部

*³ (株)ライオン

川原信夫, 富野浩充*, 袴塚高志*, 関田節子, 佐竹元

吉：ペルー産薬用植物 *Gentiana nitida* の成分研究 (3)

日本薬学会第120年会 (2000.3)

*東京理科大学薬学部

倉田敦代*, 水流真依子*, 笠井加都*, 袴塚高志*, 川原信夫, 関田節子, 佐竹元吉: 骨代謝関連遺伝子の発現に影響を及ぼす *cucurbitacin* 類の作用機序解明

日本薬学会第120年会 (2000.3)

*東京理科大学薬学部

小松 一*, 渡辺雅彦*, 金澤 卓*, 小山恒太郎*, 川原信夫, 杉山 隆*, 若林敬二*: リュウキュウアサギマダラ体液中のがん細胞傷害性物質

日本薬学会第120年会 (2000.3)

*国立癌センター研究所

関田節子, 横山和正*, 箕浦修介, 川原信夫, 鎌倉浩之, 江崎勝司, 中根孝久, 佐竹元吉: 未規制薬物の乱用防止に関する研究 (1) マジックマッシュルームと麻黄

日本薬学会第120年会 (2000.3)

*滋賀大学教育学部

川原信夫: 日本で栽培されている薬用植物

身近な薬用植物シンポジウム (2000.4)

尹 永淑, 杉本直樹, 米谷民雄, 山田 隆, 関田節子, 佐竹元吉: たばこの成分研究 (1)

日本薬学会第120年会 (2000.3)

杉本直樹, 尹 永淑, 関田節子, 佐竹元吉, 米谷民雄, 山田 隆: たばこの成分研究 (2)

日本薬学会第120年会 (2000.3)

松村年郎, 尹 永淑, 関田節子, 佐竹元吉, 関田 寛, 安藤正典: たばこの成分研究 (3)

日本薬学会第120年会 (2000.3)

中根孝久, 吉松嘉代, 下倉講一郎, 関田節子, 佐竹元吉: けしがら濃縮物 (CPS) のモルヒネ含有量について

日本薬学会第120年会 (2000.3)

関田節子: 麻黄の成分

第9回薬用植物栽培技術フォーラム (1999.7.13)

関田節子: 生薬をめぐる最近の話題 (理化学試験用生薬標準品及び海外における生薬の動向)

第11回生薬漢方製剤の微生物汚染対策ならびに品質管理に関するシンポジウム (1999.11)

佐竹元吉, 関田節子, 佐々木次雄^{*1}, 有本恵子^{*2}, 国定孝夫^{*3}, 南 茂^{*4}, 熊倉秀樹^{*5}, 清水袈裟光^{*6}, 佐々木博^{*6}, 新 邦夫^{*6}, 谷 健次^{*6}, 細江久一^{*6}, 松田武夫^{*6}: 生薬の微生物限度試験法 (1) 生菌数試験における試料調製

第11回生薬漢方製剤の微生物汚染対策ならびに品質管理に関するシンポジウム (1999.11)

^{*1}国立感染症研究所

^{*2}日本生薬連合会

^{*3}東京医薬品工業協会

^{*4}大阪医薬品協会

^{*5}東京生薬協会

^{*6}日本漢方生薬製剤協会

佐竹元吉, 関田節子, 佐々木次雄^{*1}, 有本恵子^{*2}, 国定孝夫^{*3}, 南 茂^{*4}, 熊倉秀樹^{*5}, 清水袈裟光^{*6}, 佐々木博^{*6}, 新 邦夫^{*6}, 久保利之^{*6}, 藤江正宏^{*6}, 阪本光男^{*6}, 庄司雄三^{*6}: 生薬の微生物限度試験法 (2) 生菌数試験における培養・計測について

第11回生薬漢方製剤の微生物汚染対策ならびに品質管理に関するシンポジウム (1999.11)

^{*1}国立感染症研究所

^{*2}日本生薬連合会

^{*3}東京医薬品工業協会

^{*4}大阪医薬品協会

^{*5}東京生薬協会

^{*6}日本漢方生薬製剤協会

佐竹元吉, 関田節子, 佐々木次雄^{*1}, 有本恵子^{*2}, 国定孝夫^{*3}, 南 茂^{*4}, 熊倉秀樹^{*5}, 清水袈裟光^{*6}, 佐々木博^{*6}, 新 邦夫^{*6}, 白鳥 誠^{*6}, 片桐仁史^{*6}, 伊藤 親^{*6}, 川村良裕^{*6}, 吉田将士^{*6}, 井上昌輝^{*6}: 生薬の微生物限度試験法 (2) 特定微生物の検出

第11回生薬漢方製剤の微生物汚染対策ならびに品質管理に関するシンポジウム (1999.11)

^{*1}国立感染症研究所

^{*2}日本生薬連合会

^{*3}東京医薬品工業協会

^{*4}大阪医薬品協会

^{*5}東京生薬協会

^{*6}日本漢方生薬製剤協会

鎌倉浩之, 関田節子, 高鳥浩介, 鈴木明子, 成田紀子, 伊藤 均^{*1}, 木村勝一^{*2}, 平野 剛^{*2}, 佐竹元吉: 生薬の滅菌法に関する研究 (VI)

日本薬学会120年会 (2000.3)

^{*1}原研, 高崎研究所

^{*2}三菱電機 (株) ・通信機製作所

李 宜融, 高上馬希重, 飯田 修, 関田節子, 佐竹元吉, 牧野有紀子^{*1}, 内山 寛^{*2}, 小山鐵夫^{*2}: 種子導入した世界各地の *Cannabis sativa* の特性

日本生薬学会第46会 (1999.9)

^{*1}関東麻薬取締事務所

^{*2}日大生物資源科学部

^{*3}栃木県保健環境センター

洲野裕之, 高橋真理衣, 小出達夫, 関田節子, 佐竹元吉: 南米産薬用植物の成分研究 ペルー産 *Lingua de vaca* の成分について

日本生薬学会第46回年会 (1999.9)

洲野裕之, 高橋真理衣, 小出達夫, 関田節子, 佐竹元吉: 南米産薬用植物の成分研究 (その2) セスキテルペン誘導体の抗リーシュマニア活性について

日本薬学会第120年会 (2000.3)

高橋真理衣, 洲野裕之, 小出達夫, 関田節子, 佐竹元吉: 南米産薬用植物の成分研究 (その3) ブラジル産 *Lingua de vaca* の抗リーシュマニア活性成分

日本薬学会第120年会 (2000.3)

靑島由二, 村井敏美, 中川ゆかり, 平田陸正*, 矢上 健,

中村晃忠：天然医用材料の安全性評価に関する研究
第21回バイオマテリアル学会大会（1999.11）

* 岩手医科大

靛島由二, 村井敏美, 中川ゆかり, 平田陸正*, 矢上 健,
中村晃忠：医療用ラテックス製品に含まれる発熱性物質の
同定

日本薬学会第120年会（2000.3）

* 岩手医科大

Takahashi, Y.*¹, Kumada, H.*¹, Haishima, Y., Ozono, S.*¹, Isaka,
M.*², Yasuda, Y.*², Nakamura, A., Tochikubo, K.*² and Umemoto,
T.*¹: **Immunoaugment activity of rCTB in vaccination with fim-**
briae of *P. gingivalis*.

The 78th General Session of the International Association for
Dental Research（2000.5）

*¹ Kanagawa Dental College

*² Nagoya City University

高橋祐介*¹, 熊田秀文*¹, 梅本俊夫*¹, 靛島由二, 井坂雅
徳*², 谷口 暢*², 小塚 諭*², 安田陽子*², 枡久保邦
夫*²：経鼻粘膜免疫を応用した歯周病ワクチンの基礎的研
究

第73回日本細菌学会総会（2000.5）

*¹ 神奈川歯科大

*² 名古屋市立大

矢上 健：植物に由来する交差反応性抗原

第4回日本ラテックスアレルギー研究会（1999.7）

矢上 健：ラテックスアレルギーとしての生体防御蛋白質
—植物に由来する交差反応性抗原—

第13回兵庫県臨床アレルギー研究会（1999.10）

矢上 健, 靛島由二, 中村晃忠, 大砂博之*, 池澤善
郎*：植物に由来する交差反応性アレルギーの消化性

第49回日本アレルギー学会総会（1999.10）

* 横浜市立大学医学部

小宮山忠純*¹, 盛岡正博*¹, 矢上 健, 木村哲哉*², 古市
泰宏*³： *W. saturnus var. suaveolens* の産生するキラートキ
シンの精製と諸性質

第72回日本生化学会大会（1999.10）

*¹ 新潟薬科大学

*² 三重大学生物資源学部

*³ エイジーン研究所

北川幸己*¹, 安達 博*¹, 藤原英俊*¹, 二木史朗*², 矢上
健：チオエステルセグメント縮合法による大分子型 CCK
ペプチドの合成研究

第36回ペプチド討論会（1999.10）

*¹ 新潟薬科大学

*² 京都大学化学研究所

北川幸己*¹, 藤原英俊*¹, 矢上 健, 二木史朗*²：コレシ
ストキニン (CCK)-58 の合成とキャラクタリゼーション

日本薬学会第120年会（2000.3）

*¹ 新潟薬科大学

*² 京都大学化学研究所

Yagami, T., Haishima, Y., Nakamura, A., Osuna, H.*¹, Ikezawa,

Z.*¹, Komiyama, T.*² and Kitagawa, K.*²: **Significance of**
Carbohydrate Epitopes in a Latex Allergen with β -1,3-
Glucanase Activity

56th Annual Meeting of the American Academy of Allergy,
Asthma and Immunology（2000.3）

*¹ 横浜市立大学医学部

*² 新潟薬科大学

鹿庭正昭：抗菌のあるべき姿，評価（使用する側からの話
題提供）

第26回日本防菌防黴学会（1999.5）

福永典子*, 佐藤優子*, 上出良一*, 新村真人*, 鹿庭正
昭：眼鏡フレームの先セルによる接触皮膚炎2例

第29回日本皮膚アレルギー学会（1999.7）

* 東京慈恵医大

Kaniwa, M., Ikarashi, Y., Huh, W.K.*¹, Tada, J.*¹ and Masuji,
Y.*²: **A study on allergic contact dermatitis from antimicro-**
bial agents in household plastic products

12th International Contact Dermatitis Symposium（1999.10）

*¹ 岡山大医

*² 岡山協立病院

鹿庭正昭, 五十嵐良明：抗菌製品による健康被害：原因製
品—原因化学物質—リスク評価

第36回全国衛生化学技術協議会（1999.11）

鹿庭正昭, 五十嵐良明：プラスチック製めがね部品による
アレルギー性接触皮膚炎：着色剤中のアレルギー性染料成
分の確認

第24回日本接触皮膚炎学会（1999.12）

鷲見康子*, 鈴木加余子*, 竹内 誠*, 松永佳世子*, 上
田 宏*, 鹿庭正昭：膝固定用装具による接触皮膚炎の一
例

第24回日本接触皮膚炎学会（1999.12）

* 藤田保健衛生大学医学部

Kaniwa, M.: **Role of dyes in coloring agents as causes of eye-**
glass earpiece dermatitis in Japan

5th Congress of the European Society of Contact Dermatitis
（2000.5）

五十嵐良明, 鹿庭正昭, 中村晃忠：マウスにおけるホルム
アルデヒドの経皮暴露が化学物質に対するアレルギー反応
に及ぼす影響

第26回日本トキシコロジー学会学術年会（1999.7）

五十嵐良明, 鹿庭正昭, 中村晃忠：マウスにおけるホルム
アルデヒドの連続塗布が免疫応答に与える影響

第36回全国衛生化学技術協議会（1999.11）

五十嵐良明, 鹿庭正昭, 中村晃忠：マウスにおけるホルム
アルデヒドの経皮塗布が化学物質アレルギー反応性に及ぼ
す影響

日本薬学会第120年会（2000.3）

中島晴信*¹, 松永一朗*¹, 宮野直子*¹, 宮内留美*², 羅川
日出男*², 増田ゆり*², 伊佐間和郎, 五十嵐良明, 鹿庭正
昭：抗菌防臭製品の市場調査—大阪府下における調査結

果一

日本薬学会第120年会 (2000.3)

*1 大阪府立公衆衛生研究所

*2 大阪府保健衛生部

土屋利江, 板橋由佳, 中村晃忠: 高分子材料の発癌性評価に関する研究—組織工学材料等の形質転換活性について
第2回日本組織工学会 (1999.6)

Tsuchiya, T., Itahashi, Y. and Nakamura, A.: **Important roles of gap-junctional intercellular communication (GJIC) in the tissue engineering products: Inhibitory actions of the polylactic acid and its related co-polymers on the GJIC as a tumor promoting action**

1999 International Gap Junctional Conference (1999.8)

Tsuchiya, T., Nakamura, A., Yang, C.Z.* and Cooper, S.L.*: **Loss of inhibitory action on the gap-junctional intercellular communication by polyurethane-surface modification with positive or negative charged substitution**

Epigenetic Toxicant-Induced Signal Transduction and Altered Cell-Cell Communication (1999.10)

* University of Wisconsin

土屋利江: 超微粒子の細胞機能阻害および代謝協同阻害試験「微粒子が生体および細胞に及ぼす影響」
日本バイオマテリアル学会講座 (1999.11)

土屋利江, 板橋由佳, 市川 明, 中村晃忠: ポリ乳酸の発癌性評価に関する研究: ギャップ結合細胞間連絡阻害機構について
第21回日本バイオマテリアル学会大会 (1999.11)

土屋利江, 市川朋子, 中村晃忠: 酸化チタンの生体適合性評価に関する研究 細胞間連絡阻害活性等について
第21回日本バイオマテリアル学会大会 (1999.11)

Tsuchiya, T., Ichikawa, A. and Nakamura A.: **Important roles of connexins in safety of biomaterials and a possibility of genetically induced cells with an expression construct encoding connexins results in reducing the tumorigenic potentials of biomaterials**

6th World Biomaterials Congress (2000.5)

市川 明, 土屋利江, 中村晃忠: ポリウレタンの発癌性の分子機構: コネキシン遺伝子発現の解析
第21回日本バイオマテリアル学会大会 (1999.11)

市川 明, 土屋利江, 中村晃忠: コネキシン遺伝子導入機能改変細胞による組織構築
第21回日本バイオマテリアル学会大会 (1999.11)

市川 明, 土屋利江: 遺伝子組込型人工臓器の安全性・有効性評価に関する基礎的研究: コネキシン遺伝子導入による低発癌性細胞株の開発
第22回日本分子生物学会年会 (1999.12)

市川 明, 土屋利江: ポリウレタンの発癌性の分子機構: ポリウレタンで癌化した細胞株におけるギャップ結合細胞間連絡機能の解析
日本農芸化学会2000年度大会 (2000.4)

朴 正雄, 土屋利江, 中村晃忠: バイオ人工臓器の安全性評価に関する研究: ヒトヒフ繊維芽細胞機能に及ぼす多糖類の影響

第21回日本バイオマテリアル学会大会 (1999.11)

伊佐間和郎, 土屋利江, 中村晃忠: γ 線照射 PLLA の物理化学的特性および骨分化影響評価

第28回医用高分子シンポジウム (1999.7)

伊佐間和郎, 土屋利江, 中村晃忠: PLLA のマウス及びヒト骨芽細胞の骨分化機能に対する影響

第21回日本バイオマテリアル学会大会 (1999.11)

中岡竜介, 土屋利江, 中村晃忠: 高分子材料上での細胞機能に関する研究

第2回日本組織工学会 (1999.6)

中岡竜介, 土屋利江, 中村晃忠: 粒子状物質の細胞機能への影響に関する研究

第28回医用高分子シンポジウム (1999.7)

中岡竜介, 土屋利江, 中村晃忠: ポリエチレン上での細胞間連絡阻害と cAMP の関与について

第21回日本バイオマテリアル学会大会 (1999.11)

Nakaoka, R., Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: **Studies on tumor promoting activity of polyethylene immobilized with various proteins**

The 4th Asian Symposium on Biomedical Materials (1999.11)

Nakaoka, R., Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: **In vitro evaluation for biocompatibility of various kinds of particles derived from biomaterials**

International workshop for bio-integrated materials and tissue engineering (2000.1)

新谷英晴: 滅菌バリデーションで抵抗性にばらつきのない培地組成の確立

PDA 年次大会 (1999.11)

新谷英晴, 数馬昂始*1, 櫻井美栄*2: 無菌性保証に使用される生物指標の性能のばらつきの原因について

第27回防菌防黴学会 (2000.5)

*1 K2 インターナショナル

*2 石川島播磨重工業

新谷英晴, 佐々木公一*1, 伊藤潤平*2: 無菌性保証に使用される生育培地性能のばらつきの原因について

第27回防菌防黴学会 (2000.5)

*1 エーザイ 美里工場

*2 日本ベクトンデッケンソン 福島工場

櫻井美栄*1, 高橋亮二*1, 荒井智子*1, 藤川由美子*1, 高橋 裕*1, 釜瀬幸広*1, 水野智夫*1, 福永 栄*1, 数馬昂始*2, 新谷英晴: オゾンガス滅菌のバリデーション

第27回防菌防黴学会 (2000.5)

*1 石川島播磨重工業

*2 K2 インターナショナル

高瀬 護*, 出口統也*, 今井匡弘*, 小久保 護*, 新谷

英晴：過酸化水素蒸気滅菌における生物指標のD値のバラツキについて

第27回防菌防黴学会 (2000.5)

*1 澁谷工業

Sato, M.: **Current Accessible Databases Around the World**
NIH Technology Assessment Conference, "Improving Medical Implant Performance Through Retrieval Information: Challenges and Opportunities" (2000.1)

林 譲：機器分析におけるバリデーション精度について
第13回生体成分の分析化学シンポジウム (1999.8)

林 譲, 松田りえ子, 四方田千佳子, 勝峰万里*, 岩木和夫* : HPLC分析における適切なデータ取り込み間隔について (2)

日本分析化学会第48年会 (1999.9)

* 荏原総合研究所

Katsumine, M.*, Iwaki, K.*, Yomota, C., Hayashi, Y., and Matsuda, R.: **Influence of sampling intervals of A/D converter on precision in HPLC analysis**

113th AOAC INTERNATIONAL Annual Meeting (1999.9)

* Ebara Research Co., Ltd.

林 譲, 松田りえ子：定量の不確かさ 1. 希釈操作の不確かさについて

日本薬学会第120年会 (2000.3)

林 譲, 松田りえ子, 四方田千佳子, 勝峰万里*, 岩木和夫*, 田頭洋子, 四方田千佳子：定量の不確かさ 2. 検量線の不確かさについて

日本薬学会第120年会 (2000.3)

* 荏原総合研究所

林 譲, 松田りえ子, 伊藤克敏*1, 前田昌子*1, 今井一洋*2 : FUMI理論による生物発光分析の精度予測

第61回分析化学討論会 (2000.5)

*1 昭和大学薬学部

*2 東京大学大学院薬学系研究科

安藤正典：広域的な水質管理体制整備の方策—水質管理はどうあるべきか—

全国水道研究発表会シンポジウム (1999.5)

中野淑雄*1, 西村哲治, 高木博夫*2, 中川順一*3, 加藤信弥*4, 宇田川富男*5, 蜂屋 滋*6, 沖 恒二*7, 寺島勝彦*8, 伊藤 保*9, 安藤正典：HPLCを用いたマイクロキスティン測定方法の検討

第50回全国水道研究発表会 (1999.5)

*1 福岡地区水道企業団

*2 国立環境研究所

*3 東京都衛生研究所

*4 仙台市水道局

*5 東京都水道局

*6 千葉県水道局

*7 横浜市水道局

*8 大阪市水道局

*9 大阪府水道局

徳永裕司, 鄭 然孫, 内野 正, 安藤正典：ビスフェノー

ルAの*In vitro*経皮吸収に関する研究

第44回日本化粧品技術者会研究討論会 (1999.6)

内野 正, 鄭 然孫, 徳永裕司, 安藤正典, 内海英雄* : 酸化チタンの光毒性-(2) コーティングによるOHラジカル生成及び細胞毒性への影響

日本化粧品科学会第24回学術大会 (1999.6)

* 九州大学

安藤正典：内分泌かく乱化学物質の水道水からの暴露等に関する調査研究 「水質分析法・溶出試験方法の検討及び、空気からの暴露に関する調査研究」

第7回内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会

平成10年度厚生科学研究成果発表 (1999.8)

Kenji Otsuka*, Toshiro Matsumura, Mika Hamada, Masanori Ando: **Development of the TVOC automatic analyzer and test to evaluate its performance**

Indoor Air 99 (1999.8)

* Koukan Keisoku Corporation

Eiji Osada*, Toshiro Matsumura, Mika Hamada, Masanori Ando: **Application to formaldehyde diffusion sampler of DNPH cartridge and evaluation testing of that sampling**

Indoor Air 99 (1999.8)

* DKK Corporation

Asako Hasegawa*, Hiromi Komine*, Toshiro Matsumura: **Validation of field measuring strategies for indoor air pollution by formaldehyde in Japanese residences**

Indoor Air 99 (1999.8)

* Chiba Institute of Technology

Satoru Muramatsu*, Toshiro Matsumura: **TVOC automatic analyzer of performance evaluation test and measurement results of indoor VOC**

Indoor Air 99 (1999.8)

* Musashino Women's College

安藤正典：最近の水質検査方法について

全国給水衛生検査協会 飲料水検査技術講習会 (1999.9)

濱田実香, 松村年郎, 関田 寛, 安藤正典：化学物質による室内汚染 (32)

第40回大気環境学会年会 (1999.9)

松村年郎, 濱田実香, 関田寛, 安藤正典, 長田英二* : 化学物質による室内汚染 (33) 室内空気中のアルデヒド類の測定法の検討とアプリケーションについて

第40回大気環境学会年会 (1999.9)

* 電気化学計器 (株)

松村年郎, 濱田実香, 関田 寛, 安藤正典, 須山徹史* : 化学物質による室内汚染 (34) 加熱脱着GC/MS法による室内空気中のVOCsの測定結果について

第40回大気環境学会年会 (1999.9)

* 日大理工

松村年郎, 濱田実香, 関田 寛, 安藤正典, 大塚健次* : 化学物質による室内汚染 (35) 居住環境内におけるVOCとHCHO濃度の経時変化について (2)

第40回大気環境学会年会 (1999.9)

*1 銅管計測 (株)

内野 正, 川原信夫, 関田節子, 佐竹元吉, 小野寺博志:
SQOOHによる細胞毒性及びサイトカイン放出に対する防
 御効果を指標としたブラジル産生薬の活性成分の検索
 第7回生体パーオキサイド研究会 (1999.9)

西村哲治, 埴岡伸光, 神野透人, 香川 (田中) 聡子, 安藤
 正典: ペルオキシゾーム増殖性汚染物質評価系
 第5回日本環境毒性学会・バイオアッセイ研究会合同研究
 発表会 (1999.9)

埴岡伸光, 神野透人, 香川 (田中) 聡子, 西村哲治, 安藤
 正典: オクチルフェノールポリエトキシレート生分解物と
 ラット肝シトクロムP450の相互作用
 第5回日本環境毒性学会・バイオアッセイ研究会合同研究
 発表会 (1999.9)

神野透人, 埴岡伸光, 香川 (田中) 聡子, 伊藤雅喜*, 西
 村哲治, 北澤弘美*, 国公章一*, 安藤正典: ラット肝細
 胞によるオゾン処理Microcystin-LRの生物評価
 第5回日本環境毒性学会・バイオアッセイ研究会合同研究
 発表会 (1999.9)

* 国立公衆衛生院

埴岡伸光, 神野透人, 香川 (田中) 聡子, 西村哲治, 安藤
 正典: クロロトリアジン系農薬のラット肝ミクロソームに
 おける代謝
 第14回日本薬物動態学会年会 (1999.10)

鄭 然孫, 城間貴世, 香川 (田中) 聡子, 神野透人, 徳永
 裕司, 安藤正典: 肥満細胞のSignal Transductionに対する
Octylphenol polyethoxylate生分解物の影響
 第25回環境トキシコロジーシンポジウム・第3回衛生薬学
 フォーラム合同大会 (1999.10)

西村哲治, 埴岡伸光, 神野透人, 香川 (田中) 聡子, 安藤
 正典: ペルオキシゾーム増殖性汚染物質評価系
 第25回環境トキシコロジーシンポジウム・第3回衛生薬学
 フォーラム合同大会 (1999.10)

埴岡伸光, 神野透人, 香川 (田中) 聡子, 西村哲治, 安藤
 正典: ラット肝シトクロムP450に及ぼすオクチルフェノ
 ールポリエトキシレート生分解物の影響
 第25回環境トキシコロジーシンポジウム・第3回衛生薬学
 フォーラム合同大会 (1999.10)

香川 (田中) 聡子, 鄭 然孫, 埴岡伸光, 西村哲治, 神野
 透人, 安藤正典: ヒト表皮角化細胞EGFレセプターの無
 機ヒ素化合物によるリン酸化亢進
 第25回環境トキシコロジーシンポジウム・第3回衛生薬学
 フォーラム合同大会 (1999.10)

神野透人, 埴岡伸光, 鄭 然孫, 西村哲治, 香川 (田中)
 聡子, 安藤正典: 無機ヒ素化合物によるラット肝細胞の増
 殖因子受容体リン酸化の亢進
 第25回環境トキシコロジーシンポジウム・第3回衛生薬学
 フォーラム合同大会 (1999.10)

Toshiro Matsumura: The Present Situation of the Indoor

Pollution with Chemical Substances in Domestic and Non-Domestic Building In Japan

International Symposium on Clean Technology and Management for Indoor Air (1999.11)

安藤正典: 屋内環境分野における化学物質
 環境衛生大会 (1999.11)

徳永裕司, 鄭 然孫, 内野 正, 安藤正典: ビスフェノ
 ルAのIn vitro 経皮吸収に関する研究
 第36回全国衛生化学技術協議会年会 (1999.11)

西村哲治, 埴岡伸光, 神野透人, 香川 (田中) 聡子, 安藤
 正典: 遺伝子組換え細胞を用いた環境有害物質の評価 (II)
 第36回全国衛生化学技術協議会年会 (1999.11)

内野 正, 徳永裕司, 安藤正典: 化粧水および乳液, クリ
 ーム中の塩酸プロカイン及び塩酸ジブカインの高速液体ク
 ロマトグラフィーによる定量法
 第45回SCCJ研究討論会 (1999.11)

徳永裕司, N. Chandraskaran, 安藤正典, G. Samanta, D.
 Chakraborti: HPLC/ICP-MSによるヒ素化合物の形態分析
 に関する研究
 第9回ヒ素シンポジウム (1999.11)

N. Chandraskaran, 徳永裕司, 安藤正典, G. Samanta, D.
 Chakraborti: Application of microwave induced spectrometer
 as element specific detector for arsenic speciation analysis
 第9回ヒ素シンポジウム (1999.11)

香川 (田中) 聡子, 鄭 然孫, 埴岡伸光, 西村哲治, 神野
 透人, 安藤正典: ヒ素化合物によるヒト表皮角化細胞EGF
 レセプターのリン酸化とMAP kinase活性化
 第9回ヒ素シンポジウム (1999.11)

神野透人, 埴岡伸光, 鄭 然孫, 西村哲治, 香川 (田中)
 聡子, 安藤正典: 無機ヒ素化合物によるラット肝細胞
 MAPキナーゼの活性化
 第9回ヒ素シンポジウム (1999.11)

松村年郎: ホルムアルデヒド簡易計測器の最近の動向
 第2回室内環境学会 (1999.12)

今中努志*, 星野邦広*, 松村年郎: 室内建材発生ガスの
 オンライン分析装置の検討
 第2回室内環境学会 (1999.12)

* ジーエルサイエンス (株)

松村年郎, 濱田実香, 生田研一*: 室内空気中の有機リン
 化合物の測定法とそのアプリケーションについて
 第2回室内環境学会 (1999.12)

* 進和テック (株)

松村年郎, 濱田実香, 中村 豊*: 加熱脱着GC/MS法に
 よる室内空気中におけるVOCs測定法の検討とそのアプリ
 ケーションについて
 第2回室内環境学会 (1999.12)

* 日本鑄鉄管 (株)

松村年郎, 濱田実香, 関田 寛, 安藤正典, 角野正弥*1,

長田英二^{*2}: 化学物質及び燃焼生成物による室内汚染
第2回室内環境学会 (1999.12)

^{*1}東京顕微鏡院
^{*2}電気化学計器 (株)

岡本繁雄^{*1}, 村松 学^{*2}, 松村年郎: 居住環境内における
化学物質汚染について (その2)

第2回室内環境学会 (1999.12)

^{*1}南多摩保健所
^{*2}武蔵野女子大学

熊谷一清^{*1}, 池田耕一^{*2}, 堀 雅宏^{*3}, 松村年郎: 居住状
態における住宅室内の揮発性有機化合物に関する実態調査
第2回室内環境学会 (1999.12)

^{*1}早稲田大学
^{*2}国立公衆衛生院
^{*3}横浜国立大学

安藤正典: 厚生省による VOC 全国実態調査
(社) 日本建築学会 連続講座 ヘルシーな室内環境 (2000.3)

西村哲治, 埴岡伸光, 神野透人, 香川 (田中) 聡子, 安藤
正典, 平川江美^{*1}, 鈴木和人^{*1}, 西川淳一^{*2}, 西原
力^{*2}: 酵母 Two-Hybrid System による水質汚染物質のエス
トロゲン様活性の評価

第34回日本水環境学会年会 (2000.3)

^{*1}東京医薬専門学校
^{*2}大阪大学大学院薬学研究科

徳永裕司, 城間貴世, 鄭 然孫, 内野 正, 安藤正典, 大
沢基保^{*1}, 内海英雄^{*2}: *In vitro* 抗体産生系を用いた化学
物質の免疫毒性の簡易評価法

日本薬学会第120回年会 (2000.3)

^{*1}帝京大学薬学部
^{*2}九州大学薬学部

内野 正, 川原信夫, 関田節子, 佐竹元吉, 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 (第3報) - ブラジル産生薬中の
活性物質の検索 -

日本薬学会第120回年会 (2000.3)

埴岡伸光, 神野透人, 香川 (田中) 聡子, 西村哲治, 安藤
正典: クロロトリアジン系農薬のラット肝ミクロソームに
おける代謝およびエストロゲン作用

日本薬学会第120回年会 (2000.3)

神野透人, 埴岡伸光, 香川 仁^{*}, 香川 (田中) 聡子, 西村
哲治, 針谷義弘^{*}, 安藤正典: ラット肝細胞の性ステロイ
ド代謝に対する塩素化 4-tert-octylphenol 類の影響

日本薬学会第120回年会 (2000.3)

^{*}北里大薬

野崎厚夫^{*1}, 池田耕一^{*2}, 松村年郎: 脱臭機, 空気清浄機,
コピー機等による室内オゾン汚染に関する研究

第18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 (2000.4)

^{*1}東北文化学園大学
^{*2}国立公衆衛生院

今中努志^{*}, 星邦広^{*}, 松村年郎: チャンバー法による室

内内装材から発生する有機化合物の測定と評価

第18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 (2000.4)

^{*}ジーエルサイエンス (株)

Lehotay, S. J.^{*1}, Schaner, A.^{*2}, Nemoto, S., Fetcho, J. H.^{*3},
Barney, J.^{*4}, Heighton, L.^{*3}, McIntyre, R.^{*5}, Rosenblum, L.^{*6},
Lightfield, A.^{*1}, Barden, T.^{*7}, Hopper, M.^{*8}, Valverde, A.^{*9},
Pihlstrom, T.^{*10}, Anastassiades, M.^{*11}, Scherbaum, E.^{*11}, Santer,
J.^{*12}, Deets, R.^{*13}, Morrison, S.^{*13}, Harvey, R.^{*14}: Collaborative
Study for the Determination of Pesticide Residues in
Nonfatty Foods by SFE and GC/MS

113th AOAC International Annual Meeting and Exposition
(1999.9)

^{*1}USDA Agricultural Research Service, Wyndmoor (USA)

^{*2}Montana Department of Agriculture (USA)

^{*3}USDA Agricultural Research Service, Beltsville (USA)

^{*4}USDA, GIPSA (USA)

^{*5}North Carolina Department of Agriculture (USA)

^{*6}Environmental Protection Agency, NERL (USA)

^{*7}Australian Govt. Analytical Lab. (Australia)

^{*8}Food and Drug Administration, TDRC (USA)

^{*9}University of Almeria (Spain)

^{*10}National Food Administration (Sweden)

^{*11}Chemistry and Veterinary Sciences Lab. (Germany)

^{*12}Agricultural and Forestry Research Center (Italy)

^{*13}Campbell's Soup Co. (USA)

^{*14}Beech-Nut Nutrition Corp. (USA)

高附 巧, 根本 了, 佐々木久美子, 豊田正武, 今中雅章^{*1},
衛藤修一^{*2}, 村上恵美子^{*2}: 食品中の 2,4-dichlorophenol 及
び alkyl phenol 類の実態調査

第36回全国衛生化学技術協議会年会(1999.11)

^{*1}岡山県環境保健センター

^{*2}北九州市環境科学研究所

松田りえ子, 林譲, 四方田千佳子: HPLC におけるデータ
処理と精度について

第134回液体クロマトグラフィー研究懇談会 (1999.7)

松田りえ子, 豊田正武: 分析精度管理指標調査結果につい
て

第36回全国衛生化学技術協議会年会 (1999.11)

Matsuda, R., Araki, E., Kurata, H. and Matsuoka, H.: AOAC
INTERNATIONAL validation programs and the role of the
AOAC INTERNATIONAL Japan Section

CITAC '99 分析信頼性国際会議 (1999.11)

^{*}AOAC INTERNATIONAL 日本セクション

近藤一成, 内田理一郎^{*}, 徳武昌一^{*}, 鈴木 隆, 豊田正
武: ブドウ種子由来プロアントシアニジンの RBL-2H3 細
胞内カルシウム, 活性酸素及び脱顆粒に与える影響

日本薬学会 第120回年会 (2000.3)

^{*}キッコーマン

森本隆司^{*}, 山田真記子^{*}, 加藤喜昭^{*}, 中村幹雄^{*}, 合田
幸広: 食用黄色4号の副成色素の化学構造

日本食品化学学会第5回総会・学術大会 (1999.6)

^{*}三栄源 FFI

穂山 浩, 星野香織, 徳住真帆, 佐久嶋順一郎, 手島玲子, 合田幸広, 澤田純一, 豊田正武, 菅沼大行*, 稲熊隆博*: ニンジン (*Daucus carota* L.) 果汁の抗I型アレルギー活性について

第12回天然薬物の開発と応用シンポジウム (1999.7)

*カゴメ(株)総合研究所

Akiyama, H.: Clean analysis of mycotoxin by HPLC
International Symposium of Mycotoxicology 99, Chiba (1999.9)

合田幸広, 大槻 崇, 太田久恵, 岡原祐子, 佐久嶋順一郎, 加藤喜昭*, 豊田正武: アカダイコン中のアントシアニンの構造決定とヒスタミン遊離抑制活性について

日本薬学会第120年会 (2000.3)

*三栄源FFI

島田素子*, 木下武司*, 合田幸広: マメ科ナンテンカズラ *Caesalpinia crista* の成分について

日本薬学会第120年会 (2000.3)

*帝京大学薬学部

庄司俊彦*, 合田幸広, 神田智正*, 柳田顕郎*, 中川圭一*, 佐久嶋順一郎, 豊田正武: 果実酒由来新規アントシアニン色素の構造解析

日本農芸化学会2000年大会 (2000.4)

*ニッカウキスキー生技研

古庄義明^{*1}, 佐久嶋順一郎, 穂山 浩, 合田幸広, 庄司俊彦^{*2}, 豊田正武: 96ウェル固相抽出プレートを利用した血液中のエピカテキンおよびプロシアニジンの分析法の開発

日本薬学会 第120年会 (2000.3)

^{*1}ジーエルサイエンス

^{*2}ニッカウキスキー(株)生産技術研究所

能勢充彦*, 日比 聡*, 佐久嶋順一郎, 荻原幸夫*: 漢方の科学的評価(第24報) 経口免疫寛容に及ぼす温清飲の影響

日本薬学会 第120年会 (2000.3)

*名古屋市立大学薬学部

佐久嶋順一郎, 河内貴衣, 合田幸広, 穂山 浩, 庄司俊彦*, 神田智正*, 豊田正武: リンゴ未熟果由来 Procyanidin の重合度と、その抗アレルギー活性

日本薬学会第120年会 (2000.3)

*ニッカウキスキー(株)生産技術研究所

日野明寛*, 松岡 猛*, 川島よしみ*, 三浦裕仁*, 日下部祐子*, 一色賢司*, 穂山 浩*, 合田幸広, 豊田正武: 農産物・加工食品からの組換え遺伝子の検知法

日本農芸化学会2000年大会 (2000.4)

*農水省食品総合研究所

酒井信夫*, 松藤 寛*, 千野 誠*, 合田幸広, 豊田正武, 武田明治*: モロヘイヤ (*Corchorus olerarius* L.) 種子中の新規強心配糖体の構造と Na⁺ - K⁺ 輸送性 ATPase 阻害活性について

日本農芸化学会2000年大会 (2000.4)

*日本大学生物資源科学部

合田幸広, 穂山 浩, 佐々木真紀子, 豊田正武, 松岡 猛*, 日野明寛*: コーンスナック菓子からの CP4EPSPS 遺伝子

の検知について

日本食品衛生学会第79回学術講演会 (2000.5)

*農水省食品総合研究所

日野明寛*, 松岡 猛*, 合田幸広, 穂山 浩, 佐々木真紀子, 豊田正武: コーンスナック菓子からの barnase 遺伝子の検知について

日本食品衛生学会第79回学術講演会 (2000.5)

*農水省食品総合研究所

合田幸広: 食用タール色素の中の副成色素の構造と無機不純物に関する研究

日本食品化学学会第6回総会・学術大会 (2000.5)

Miyahara, M., Toyoda, M., Saito, Y., Ito, H.^{*1}, Saito, A.^{*2}, Nagasawa, N.^{*2}: Identification of Gamma-Irradiated Foods by New hydrocarbon Procedure3

The 113th Annual AOAC International Meeting and Exposition (1999.9)

^{*1} Atomic Energy Research Institute Takasaki Radiation Establishment

^{*2} Kitazato University;

後藤典子*, 田邊寛子*, 宮原 誠: 照射鶏肉の炭化水素法及び ESR 法による検知について

日本食品照射研究協議会 第35回大会 (1999.12)

*東京都産業技術研究所

宮原 誠, 伊藤 均^{*1}, 長沢妙子^{*2}, 豊田 正武: オルトチロシン法による照射食肉の検知

日本薬学会第120年会 (2000.3)

^{*1} 日本原子力研究所高崎研究所

^{*2} 北里大学医療衛生学部

Miyahara, M., Toyoda, M., Saito, A.*, Nagasawa, T.*: Detection of Gamma-Irradiation of Food by New hydrocarbon Procedure4

International Conference on Ensuring the Safety and Quality of Food through Radiation (1999.10)

* Kitazato University

松野伸広*, 加藤文秋*, 石橋 亨*, 伊藤 武*, 坂井千三*, 川崎洋子, 石綿 肇, 山田 隆: 食品中のパラオキシ安息香酸エステル類 (メチルエステルを含む) の一斉分析法

日本食品衛生学会第78回学術講演会 (1999.10)

* (財) 東京顕微鏡院

杉田たき子, 山田 隆, 平山クニ^{*1}, 長谷川康行^{*2}, 石橋 亨^{*3}: ポリ塩化ビニル製おもちゃ中のフタル酸エステル含有量及び溶出試験法の検討

日本食品衛生学会第78回学術講演会 (1999.10)

^{*1} 神奈川県衛生研究所

^{*2} 千葉県衛生研究所

^{*3} (財) 東京顕微鏡院

新野竜大*, 加藤文秋*, 石橋 亨*, 伊藤 武*, 坂井千三*, 杉田たき子, 山田 隆: ポリ塩化ビニル製おもちゃ中のフタル酸ジイソノニル (DINP) のヒト唾液への溶出-移行

日本食品衛生学会第78回学術講演会 (1999.10)

* (財) 東京顕微鏡院

平林尚之*, 福原克治*, 鷹野祐子*, 遠藤和香子*, 安生孝子*, 松木容彦*, 杉田たき子, 山田 隆: おもちゃからのフタル酸ジイソノニル (DINP) の *in vitro* 溶出の検討
日本食品衛生学会第78回学術講演会 (1999.10)

* (財)食品薬品安全センター秦野研究所

阿部有希子, 石綿 肇, 山田 隆: ポストカラム HPLC によるチーズ中のヘキサメチレンテトラミンとホルムアルデヒドの分別定量

日本薬学会第120年会 (2000.3)

新野竜大*¹, 石橋 亨*¹, 小野寺祐夫*², 伊藤 武*¹, 坂井千三*², 杉田たき子, 山田 隆: ポリ塩化ビニル製玩具中のフタル酸エステルのヒト唾液への溶出

日本薬学会第120年会 (2000.3)

*¹ (財)東京顕微鏡院

*² 東京理科大学薬学部

武田由比子, 阿部有希子, 石綿 肇, 山田 隆: 液体クロマトグラフィーによる粉末スープ中ポリソルベート分析

日本食品衛生学会第79回学術講演会 (2000.5)

阿部有希子, 武田由比子, 石綿 肇, 山田 隆: 新甘味料アセスルファムカリウムの規格試験法の検討

日本食品衛生学会第79回学術講演会 (2000.5)

松野伸広*, 朝倉敬行*, 新野竜大*, 加藤文秋*, 石橋亨*, 伊藤 武*, 坂井千三*, 石綿 肇: 食品中のパラオキシ安息香酸エステル類の加水分解によるパラオキシ安息香酸の HPLC 分析

日本食品衛生学会第79回学術講演会 (2000.5)

* (財)東京顕微鏡院

石綿 肇, 山田 隆, 西島基弘*¹, 深澤喜延*²: 全国の行政検査結果 (1996年度) に基づいた16種の食品添加物の濃度実態と推定摂取量

日本食品衛生学会第79回学術講演会 (2000.5)

*¹ 東京都立衛生研究所

*² 山梨県衛生公害研究所

佐藤恭子: 天然着色料の含有成分に関する研究

日本食品化学学会第5回総会・学術大会 (1999.6)

杉本直樹, 福田純子, 高鳥浩介, 米谷民雄: 天然保存料酵素分解ハトムギ抽出物の成分分析

日本食品化学学会第5回総会・学術大会 (1999.6)

劉 宏民, 秋山卓美, 杉本直樹, 米谷民雄: 天然甘味料酵素処理カンゾウの成分分析

日本食品化学学会第5回総会・学術大会 (1999.6)

Shah, K., Sato, K., Kubota, H. Tsutsumi, K. and Maitani, T.: Heavy Metal Caused Changes in Pigment Levels and Synthesis of Phytochelatin Analogs in *Rubia tinctorum* root cultures

日本食品化学学会第5回総会・学術大会 (1999.6)

宇野喜貴*, 大本俊郎*, 後藤康慶*, 浅井以和夫*, 中村幹雄*, 米谷民雄: GPC/ICP による天然増粘安定剤カラギナンの分子量分布

日本食品化学学会第5回総会・学術大会 (1999.6)

* 三栄源エフ・エフ・アイ (株)

Shah, K., Kubota, H., Yamada, T. and Maitani, T.: Induction of iso-PC(Gln) catalyzed by a unique γ -glutamylcysteinylglutamine transpeptidase and its utilization for PC synthesis in cadmium treated root cultures of *Armoracia rusticana* (horseradish)

Plant Biology Canada '99 (1999.6)

小柳美喜子*¹, 香田隆俊*², 米谷民雄, Eric Davies*³, 山田晃世*¹, 小関良宏*¹: MITEs による遺伝子組み換え植物における遺伝子不活性化の抑制

日本植物細胞分子生物学会 (1999.7)

*¹ 東京農工大学工学部

*² 三栄源エフ・エフ・アイ (株)

*³ Botany Department, North Carolina State University

Liu, H.-M., Xu, W., Liu, Z. and Maitani, T.: A novel synthetic method for allosamine derivatives

XVth International Symposium on Glycoconjugates (1999.8)

佐藤恭子, 坂元 (佐々木) 史歩, 合田幸広, 山田 隆, 布村 伊*¹, 石川恵子*², 米谷民雄: オンライン超臨界流体抽出/超臨界流体クロマトグラフィーによる *Capsicum* 胎座中の capsaicinoids の分析

日本食品衛生学会第78回学術講演会 (1999.10)

*¹ 日本園芸生産研究所

*² 千葉大学園芸学部

杉本直樹, 福田純子, 高鳥浩介, 米谷民雄, 山田 隆: 天然保存料カラワヨモギ抽出物の成分分析
第36回全国衛生化学技術協議会年会 (1999.11)

米谷民雄: 植物メタロチオネイン: フィトケラチンメタロチオネイン '99 (1999.11)

米谷民雄, Shah, K., 久保田浩樹, 山田 隆: 植物培養細胞に誘導されるフィトケラチン類の研究
メタロチオネイン '99 (1999.11)

Sugimoto, N., Yamada, T. and Maitani, T.: Constituents of natural food additives used as preservatives and sweeteners

8th International Symposium on Natural Product Chemistry (2000.1)

Akiyama, T., Yamada, T. and Maitani, T.: Analyses of enzymatically glucosylated flavonoids by capillary electrophoresis
HPCE2000 (2000.2)

劉 宏民, 秋山卓美, 杉本直樹, 山田 隆, 米谷民雄: 天然甘味料酵素分解カンゾウの成分研究
日本薬学会第120年会 (2000.3)

久保田浩樹, 山田 隆, 米谷民雄: セイヨウワサビ培養根で見出された新規フィトケラチン類の生成経路
日本薬学会第120年会 (2000.3)

Liu, H.-M., Zhang, F., Liu, Z. and Maitani T.: Stereoselective synthesis of methyl 4,6-O-benzylidene-2-C-methoxycarbonyl-methyl- α -D-ribo-hexopyranoside-3-ulose

日本薬学会第120年会 (2000.3)

尹永淑, 杉本直樹, 米谷民雄, 山田 隆, 関田節子, 佐竹

- 元吉：たばこの成分研究 (1)
日本薬学会第120年会 (2000.3)
- 杉本直樹, 尹永淑, 関田節子, 佐竹元吉, 米谷民雄, 山田隆：たばこの成分研究 (2)
日本薬学会第120年会 (2000.3)
- 長岡めぐみ, 山田 隆, 米谷民雄：HPLC/HR-ICP-MS法による金属とトランスフェリンの結合状態の解析
日本薬学会第120年会 (2000.3)
- 秋山卓美, 山田光男, 山田 隆, 米谷民雄：食品添加物酵素処理ナリンジンの構成成分の構造
日本農芸化学会2000年度大会 (2000.4)
- Nagaoka, M. Yamada, T. and Maitani, T.: High resolution ICP-MS connected directly with HPLC for the study of metal-transferrin binding in aluminum and iron
6th International Symposium on Metal Ions in Biology and Medicine (2000.5)
- 杉本直樹, 杉村優美, 米谷民雄：天然甘味料ラカンカ抽出物およびテリョウチャ抽出物の成分分析
日本食品化学学会第6回学術大会 (2000.5)
- 秋山卓美, 米谷民雄：酵素処理天然添加物のキャピラリー電気泳動による分析
日本食品化学学会第6回学術大会 (2000.5)
- 宇野喜貴*, 大本俊郎*, 後藤康慶*, 浅井以和夫*, 中村幹雄*, 米谷民雄：ラットを用いた単回混餌投与による糞中カラギナンのGPC/ICPによる分析
日本食品化学学会第6回学術大会 (2000.5)
* 三栄源エフ・エフ・アイ(株)
- 長岡めぐみ, 米谷民雄：HPLC/高分解能ICP-MS法によるヒト血清トランスフェリンへの金属の結合状態の解析
第10回金属の関与する生体関連反応シンポジウム (2000.5)
- 河村葉子, 互井千恵子, 前原玉枝, 山田 隆：ポリ塩化ビニル及びポリ塩化ビニリデン製品中の残存添加物
日本包装学会第8回年次大会 (1999.6)
- 河村葉子, 前原玉枝, 山田 隆：食品用器具・容器包装中の有機スズ化合物
日本食品衛生学会第78回学術講演会 (1999.10)
- 河村葉子：包装容器中の内分泌かく乱化学物質
日本PDA第7回年会 (1999.10)
- 河村葉子, 前原玉枝, 飯嶋広代, 山田 隆：プラスチック製器具・容器包装中のノニルフェノール
日本内分泌攪乱化学物質学会第2回研究発表会 (1999.12)
- 井之上浩一*, 中澤裕之*, 河村葉子, 山田 隆：LC/MSによる缶入水性食品中のビスフェノールA, ビスフェノールA ジグリシジルエーテル及びその関連化合物の分析
日本薬学会第120年会 (2000.3)
* 星薬科大学
- 河村葉子, 前原玉枝, 飯嶋広代, 山田 隆：ポリ塩化ビニル製ラップフィルム及び手袋中の残存物質の溶出試験
日本食品衛生学会第79回学術講演会 (2000.5)
- 栗原正明, 宮田直樹, 田中正一*, 今若直人*, 末宗洋*： α, α -ジ置換アミノ酸より構成されるホモペプチドのコンフォメーション解析：計算化学によるアプローチ
1999計算化学討論会 (1999.5)
* 九州大学薬学部
- Miyata, N., Yamakoshi, Y., Komazawa, Y., Fukuhara, K., Sueyoshi, S.: Mechanistic studies of superoxide generation by fullerene/hv/reductant/O₂ system
The 17th Fullerene General Symposium (1999.8)
- Yamakoshi, Y., Umezawa, N.*¹, Nagano, T.*¹, Ryu, A.*², Arakane, K.*², Masumizu, T.*³, Kohno, M.*³, Sueyoshi, S., N. Miyata, N.: Oxy radicals responsible for DNA cleavage by photoexcited fullerene
Fullerene '99 (1999.8)
*¹ 東京大学大学院薬学系研究科
*² コーセー基礎研
*³ 日本電子ESR研
- Miyata, N., Yamakoshi, Y., Kojima, M.*¹, Inoue, H.*¹, Takahashi, K.*¹, Gan, L.*²: Inhibitory action of fullerene derivatives against glutathione S-transferase
Fullerene '99 (1999.8)
*¹ 東京薬科大学生命科学科
*² 北京大学
- 丹野雅幸, 末吉祥子, 宮田直樹：芳香族N-ニトロソ尿素類のジアゾエステル転位における置換基効果と溶媒効果
日本薬学会第43回関東支部大会 (1999.10)
- 末吉祥子, 丹野雅幸, 福原 潔, 宮田直樹：N-ニトロソ化合物のNO遊離能とDNA切断活性
日本薬学会第43回関東支部大会 (1999.10)
- 栗原正明, 宮田直樹, 田中正一*, 今若直人*, 末宗洋*： α, α -ジ置換アミノ酸より合成したペプチドの分子力化学法によるコンフォメーション解析
第36回ペプチド討論会 (1999.10)
* 九州大学薬学部
- 田中正一*, 今若直人*, 栗原正明, 末宗 洋*： α -エチル化 α, α -ジ置換アミノ酸より合成したペプチドのコンフォメーション
第36回ペプチド討論会 (1999.10)
* 九州大学薬学部
- 駒沢友香, Liangbing Gan*¹, 小島正樹*², 井上英史*², 山越葉子, 宮田直樹, 高橋健治*²：フラレン誘導体のGST酵素活性阻害作用
第72回日本生化学会大会 (1999.10)
*¹ 北京大学
*² 東京薬科大学生命科学科
- 栗原正明, 小田原毅, 加藤幸弘, 福原 潔, 宮田直樹：トリガーを有するエンジン分子の設計と合成
第25回反応と合成の進歩シンポジウム (1999.11)

Miyata, N., Yamakoshi, Y.: **Fullerene: A photosensitizer effectively generates oxyl radicals to cause DNA cleavage**
Oxygen '99 (1999.11)

大庭 誠*, 今若直人*, 田中正一*, 栗原正明, 末宗洋*: α, α -ジ置換アミノ酸(S)-ブチルエチルグリシンを含有するペプチドのコンフォメーション

第16回日本薬学会九州支部大会 (1999.12)

*九州大学薬学部

福原 潔, 宮田直樹: 光照射によるニトロアレーンからのNOの生成

日本環境変異原学会第28回大会 (1999.12)

福原 潔, 栗原正明, 宮田直樹: ニトロアレーンからのNOの生成—光活性型NOドナーとしての有効性と問題点—

第14回生体フリーラジカル研究会 (1999.12)

Miyata, N., Yamakoshi, Y.: **Photoexcited fullerene effectively generates oxyl radicals in the physiological conditions to cause DNA-damages**

The 2nd Seminar on Science and Technology: Fullerenes (2000.1)

Inoue, H.*1, Komazawa, Y., Kojima*1, M., Takahashi*1, K., Gan*2, L., Yamakoshi, Y., Miyata, N.: **How does fullerene C60 inhibit glutathione S-transferase?**

The 2nd Seminar on Science and Technology: Fullerenes (2000.1)

*1東京薬科大学生命科学科

*2北京大学

栗原正明, 田中正一*, 今若直人*, 末宗洋*, 宮田直樹: α, α -ジ置換アミノ酸より合成したペプチドのコンフォメーション解析: 分子力学法によるアプローチ

日本薬学会第120年会 (2000.3)

*九州大学薬学部

丹野雅幸, 末吉祥子, 宮田直樹: 芳香族N-ニトロソアミド類を用いたHeck反応

日本薬学会第120年会 (2000.3)

末吉祥子, 丹野雅幸, 福原 潔, 宮田直樹: 徐放性NO遊離化合物: N-ニトロソピリジリアミン誘導体のNO発生能とDNA切断活性

日本薬学会第120年会 (2000.3)

福原 潔, 永川真希, 宮田直樹: レスベラトロールによるDNA切断反応の構造化学的解析

日本薬学会第120年会 (2000.3)

駒沢友香, Liangbing Gan*1, 小島正樹*2, 井上英史*2, 高橋健治*2, 山越葉子, 末吉祥子, 宮田直樹: フラーレンC60誘導体によるglutathione S-transferaseの阻害

日本薬学会第120年会 (2000.3)

*1北京大学

*2東京薬科大学生命科学科

橋高敦史*1, 高山弘明*1, 栗原正明, 井上純一郎*2: 5-(ホルミルメチル)-2'-デオキシウリジンのkB配列への導入

日本薬学会第120年会 (2000.3)

*1帝京大学薬学部

*2東大医科研

田中正一*, 大庭 誠*, 今若直人*, 栗原正明, 末宗洋*: α -エチル化ジ置換アミノ酸(S)-ブチルエチルグリシンを含有するペプチドのコンフォメーション特性

日本薬学会第120年会 (2000.3)

*九州大学薬学部

大庭 誠*, 玉井宏一*, 田中正一*, 栗原正明, 末宗洋*: 光学活性 α, α -ジ置換アミノ酸(S)-エチルロイシンの合成とペプチドへの利用

日本薬学会第120年会 (2000.3)

*九州大学薬学部

福原 潔, 宮田直樹: 銅イオン存在下におけるレスベラトロールのDNA切断反応の解析

第10回金属の関与する生体関連反応シンポジウム (2000.5)

中西郁夫, 福住俊一*: マンガン(III)および鉄(III)ポルフィリン錯体の電子移動速度に及ぼす非平面性の影響

第10回金属の関与する生体関連反応シンポジウム (2000.5)

*大阪大学大学院工学研究科

橋高敦史*, 須原義智*, 高柳 仁*, 藤島利江*, 高山浩明*, 栗原正明: 2 α -(ω -ヒドロキシアロコキシ)活性型ビタミンD誘導体の効率的合成法

日本ビタミン学会 第52回大会 (2000.5)

*帝京大学薬学部

Miyata, N., Yamakoshi, Y., Nakanishi, I., Fukuhara, K.: **Mechanistic evidences for the generation of superoxide and hydroxyl radical by an aqueous fullerene/hv/O₂/reductant system**

The 197th Meeting of The Electrochemical Society (2000.5)

Nakanishi, I., Yamakoshi, Y., Miyata, N.: **Predominant generation of reduced oxygen species in the photochemical Reaction of C60 with reductants in non-aqueous polar solvents**

The 197th Meeting of The Electrochemical Society (2000.5)

蜂須賀暁子, 中島 治, 高木加代子, 山崎 壮, 澤田純一: OBCAMの神経突起伸長作用の解析

第72回日本生化学会 (1999.10)

中島 治, 蜂須賀暁子, 山崎 壮, 澤田純一: OBCAM結合タンパクの探索

日本薬学会第120年会 (2000.3)

武木田薫*1, 菊池 裕, 山崎 壮, 藤沢正彦*2, 品川森一*3, 高鳥浩介, 谷村顕雄*1, 澤田純一: プリオンタンパクのイムノアッセイ法の開発 (1) 抗PrP抗体の作製及び比較

日本薬学会第120年会 (2000.3)

*1昭和女子大学

*2東京大学農学部

*3帯広畜産大学

山崎 壮, 武木田薫*1, 菊池 裕, 品川森一*3, 高鳥浩介, 谷村顕雄*1, 澤田純一: プリオンタンパクのイムノアッセ

イ法の開発 (2) 抗体を用いたプリオンタンパク濃縮法の検討

日本薬学会第120年会 (2000.3)

*1 昭和女子大学

*2 帯広畜産大学

Danilczyk, U. G.*, Ihara, Y.*, Saito, Y., Cohen-Doyle, M. F.*, Williams, D. B.*: **Calreticulin and calnexin are bona fide molecular chaperones and their functions in mouse class I biogenesis are largely interchangeable**

2nd International Workshop on Antigen Processing and Presentation (1999.10)

* University of Toronto

斎藤嘉朗, 高木加代子, 手島玲子, 池淵秀治, 山崎 壮, 澤田純一: 成長ホルモン結合蛋白放出促進における細胞外キナーゼの関与

日本薬学会第120年会 (2000.3)

高木加代子, 斎藤嘉朗, 蜂須賀暁子, 澤田純一: **Ba/F3-hGHR細胞におけるヒト成長ホルモン受容体の分解機構について**

第72回日本生化学会 (1999.10)

奥貫晴代, 都筑智子, 手島玲子, 穂山 浩, 合田幸広, 豊田正武, 澤田純一, 荒見真一郎*, 三浦裕仁*, 日野明寛*: **HPLCによるシキミ酸経路関連酵素の活性測定法の検討**

第72回日本生化学会 (1999.10)

* 農水省食品総合研究所

鈴木 亮*, 古野忠秀*, 手島玲子, McKay, D. M.*², Bienestock, J.*², 中西 守*: **神経節初代培養細胞と肥満細胞の相互作用の研究**

第72回日本生化学会 (1999.10)

*1 名古屋市立大学薬学部

*2 MacMaster University

手島玲子, 小野瀬淳一*, 池淵秀治, 木谷誠一*², 澤田純一: **エクトキナーゼ基質ペプチドによるRBL-2H3細胞からの脱顆粒の抑制**

第72回日本生化学会 (1999.10)

*1 明治薬大

*2 東京大学医学部

山口正雄*, 飯倉元保*, 宮増美里*, 関谷 剛*, 泉信有*, 山田浩和*, 山本一彦*, 長瀬洋之*, 中島敏浩*, 平井浩一*, 手島玲子, 羅智靖*²: **デキサメゾン (DEX)によるマスト細胞表面のIgE受容体 (Fc RI) 発現量の減少**

第49回日本アレルギー学会総会 (1999.10)

*1 東京大学医学部

*2 順天堂大学医学部

手島玲子, 小野瀬淳一*, 奥貫晴代, 澤田純一: **マスト細胞からのMCP-1産生機構について**

第49回日本アレルギー学会総会 (1999.10)

* 明治薬大

鈴木 亮*, 森 尚子*, 古野忠秀*, 手島玲子, Bienestock, J.*², 中西 守*: **神経節初代培養細胞とRBL-2H3細胞の相互作用: 逆反応の追求とCD63-GFPの利用**

第29回日本免疫学会総会 (1999.12)

*1 名古屋市立大学薬学部

*2 MacMaster University

手島玲子, 小野瀬淳一*, 奥貫晴代, 澤田純一: **培養マスト細胞からのカルシウム濃度上昇に伴う各種サイトカイン産生について**

第6回免疫毒性研究会 (1999.9)

* 明治薬大

手島玲子, 穂山 浩, 奥貫晴代, 佐久嶋順一郎, 合田幸広, 小野寺博志, 澤田純一, 豊田正武: **遺伝子組換え, 非組換え大豆のマウス, ラットへの混飼投与による免疫系への影響**

日本薬学会第120年会 (2000.3)

M. Yamaguchi*¹, M. Iikura*¹, M. Miyamasu*¹, H. Nagase*¹, K. Hirai*¹, Y. Fuyumoto*¹, C. Ra*², R. Teshima, S. J. Galli*³, K. Yamamoto*¹: **Glucocorticoids Decreases the Levels of Surface Fc RI Expression in Mouse Mast Cells**

56th Amer. Academy Allergy Asthma Immunol. (2000.3)

*1 University of Tokyo

*2 Juntendo University

*3 Stanford University

松井幸子*, 安達玲子, 永石恵子*, 山口照英, 早川堯夫, 笠原忠*, 鈴木和博: **白血球の活性化時におけるコフィリンの動態変化と蛋白質リン酸化酵素の関与**

第20回日本炎症学会 (1999.7)

* 共立薬科大学

Kiriakis, H.*¹, Schmidt, A.*¹, Sato, Y., Kranias, E.G.*¹ and Hoit, B.D.*²: **Effects of aging on mouse hearts with cardiac-specific overexpression of murine cardiac calsequestrin**

3rd Annual Scientific Meeting, Heart Failure Society of America (1999.9)

*1 University of Cincinnati, U.S.A.

*2 Case Western Reserve University, U.S.A.

Carr, A.N.*¹, Suzuki, Y.*², Sato, Y., Schmidt, A.*¹, Kadambi, V.J.*¹, Hoit, B.D.*³, Grupp, I.L.*¹, Jing, S-L.*², Field, L.J.*², DePaoli-Roach, A.*² and Kranias, E.G.*¹: **Cardiac-specific overexpression of the sarcoplasmic reticulum and glycogen targeting subunit of the type I phosphatase does not result in altered cardiac contractility**

3rd Annual Scientific Meeting, Heart Failure Society of America (1999.9)

*1 University of Cincinnati, U.S.A.

*2 Indiana University, U.S.A.

*3 Case Western Reserve University, U.S.A.

Carr, A.N.*¹, Sato, Y., Neirouz, Y.*¹, Schmidt, A.*¹, Hoit, B.D.*², Grupp, I.L.*¹, Allen, P.B.*³, Greengard, P.*³ and Kranias, E.G.*¹: **Protein phosphatase inhibitor-1 ablation results in depressed cardiac contractility in response to beta-adrenergic stimulation and decreased phosphorylation of phospholamban**

3rd Annual Scientific Meeting, Heart Failure Society of America (1999.9)

*1 University of Cincinnati, U.S.A.

*2 Case Western Reserve University, U.S.A.

*3 The Rockefeller University, U.S.A.

Vukmirica, J.*¹, Nishimaki-Mogami, T., McLeod, R. S.*², and Yao, Z.*¹: **Functional analysis of the role of N-linked glycosylation of apoB in lipoprotein assembly and secretion.**

72nd Scientific Sessions, American Heart Association (1999.11)

*¹ University of Ottawa Heart Institute, Canada

*² Dalhousie University, Canada

Carr, A.N.*¹, Sato, Y., Neirouz, Y.*¹, Schmidt, A.*¹, Hoit, B.D.*², Grupp, I.L.*¹, Allen, P.B.*³, Greengard, P.*³ and Kranias, E.G.*¹: **Gene ablation of protein phosphatase inhibitor-1 is associated with depressed cardiac contractility and decreased phospholamban phosphorylation**

72nd Scientific Sessions, American Heart Association (1999.11)

*¹ University of Cincinnati, U.S.A.

*² Case Western Reserve University, U.S.A.

*³ The Rockefeller University, U.S.A.

藤森親之助：安全性薬理試験に対する考え方と取り組み方
第4回医薬品開発基礎研究会学術集会 (1999.11)

松井幸子*, 安達玲子, 楠井薫, 山口照英, 早川堯夫, 笠原 忠*, 鈴木和博：マクロファージ様 U937細胞の活性化におけるコフィリンの動態とリン酸化酵素の関わりについて

日本免疫学会総会・学術集会 (1999.12)

* 共立薬科大学

藤森親之助：ICH安全性薬理試験ガイドラインとその動向
日本QA研究会GLP部会 (2000.2)

Sato, Y., Kiriazis, H.*¹, Mitarai, S.*¹, Yatani, A.*¹, Dorn, G.W. 2nd*¹ and Kranias, E.G.*¹: **Restoration of contractile parameters in caldesmon overexpressing myocardium by phospholamban ablation**

第73回日本薬理学会年会 (2000.3)

* University of Cincinnati, U.S.A.

最上(西巻)知子, 木下真澄, 佐藤陽治, 藤森親之助：アポB48含有VLDL形成・分泌過程でのMTP (microsomal triglyceride transfer protein) の役割

日本薬学会第120年会 (2000.3)

安住聡子, 室井正志, 棚元憲一：ヒトマクロファージのサルモネラ型リビドA不応答性

第5回日本エンドトキシン研究会 (1999.11)

室井正志, 大西貴弘, 安住聡子, 棚元憲一：サルモネラリビドAの細胞活性化における動物種特異性の分子機構

第73回日本細菌学会総会 (2000.5)

大西貴弘, 室井正志, 棚元憲一：内毒素によるNF- κ B活性化におけるCD14分子の機能的領域の探索

第73回日本細菌学会総会 (2000.5)

安住聡子, 大西貴弘, 室井正志, 棚元憲一：エンドトキシンアンタゴニストの活性発現におけるLBPの役割

第73回日本細菌学会総会 (2000.5)

Michiko Miyahara, Koukichi Gotoh*¹, Hiroyuki Masaki*², Akinobu Saitoh*², Seiji Kaneko*³, Takashi Masuda*⁴, Hiroataka Konuma: **Detection Methods for *Escherichia coli* O157 and**

Salmonella from fresh fruits and Vegetables

113th AOAC International Annual Meeting and Exposition (1999.9)

*¹新潟県食肉衛生検査センター

*²埼玉県衛生研究所

*³東京都衛生研究所

*⁴静岡県環境衛生科学研究所

宮原美知子, 後藤公吉*¹, 正木宏幸*², 斉藤章暢*², 金子誠二*³, 増田高志*⁴, 小沼博隆：農産物の病原微生物汚染の検討

第20回食品微生物学会学術総会 (1999.10)

*¹新潟県食肉衛生検査センター

*²埼玉県衛生研究所

*³東京都衛生研究所

*⁴静岡県環境衛生科学研究所

宮原美知子, 小沼博隆：腸管出血性大腸菌O157志賀毒素産生遺伝子とその下流域のDNA塩基配列の検討

第22回日本分子生物学会年会 (1999.12)

宮原美知子, 小沼博隆, 菊井美里*, 丸山 務*：野菜と果物からの *Listeria monocytogenes* 検出方法

日本薬学会第120年会 (1999.3)

* 麻布大学

宮原美知子, 小沼博隆, 長谷川敦子*¹, 西本憲司*², 中島誠人*³, 山田順一*³, 熊谷 進*⁴：調理用オーブンによるハンバーグ調理加熱での腸管出血性大腸菌O157の消長と関連要因

日本防菌防霉学会第27年次大会 (1999.5)

*¹東京サラヤ(株)

*²グンゼ産業(株)

*³日本食品加工協会

*⁴国立感染症研究所

宮原美知子, 小沼博隆：腸管出血性大腸菌志賀毒素2 (Stx2) 産生遺伝子及びその下流域のDNA配列による解析

第73回日本細菌学会総会 (1999.5)

小沼博隆：野菜における微生物汚染状況とその対策

日本食品微生物学会公開シンポジウム (1999.12)

工藤由起子*¹, 熊谷 進*¹, 大塚佳代子*², 正木宏幸*², 後藤公吉*³, 増田高志*⁴, 田中廣行*⁵, 丹野憲二*⁵, 宮原美知子, 小沼博隆：卵からのサルモネラ・エンテリティディスの検出法の検討

日本食品衛生学会第78回学術講演会 (1999.10)

*¹国立感染症研究所

*²埼玉県衛生研究所

*³新潟県食肉衛生検査センター

*⁴静岡県環境衛生科学研究所

*⁵日本食品分析センター

小沼博隆, 宮原美知子, 大塚佳代子*¹, 正木宏幸*¹, 後藤公吉*², 増田高志*³, 工藤由起子*⁴, 熊谷 進*⁴：卵からのサルモネラ・エンテリティディスの検出法の検討

日本食品衛生学会第78回学術講演会 (1999.10)

*¹埼玉県衛生研究所

*²新潟県食肉衛生検査センター

*³静岡県環境衛生科学研究所

*4 国立感染症研究所

小西良子*, 伊藤嘉典*, 岩城正昭*, 春日文字*, 工藤由起子*, 齊藤典子*, 野口洋子*, 小沼博隆: 実験的汚染かいわれ大根中の腸管出血性大腸菌 O157:7

第20回日本食品微生物学会学術総会 (1999.10)

* 国立感染症研究所

富川ゆり子*, 仁科徳啓*, 小澤一宏*, 浅川豊*, 小沼博隆: 酵素基質等による検出試薬 (リトザイム) のスクリーニング試験としての有用性

第20回日本食品微生物学会学術総会 (1999.10)

* (株)中部検査センター

齊藤章暢*, 大塚佳代子*, 正木宏幸*, 小野一晃*, 瀬川由加里*, 岸本 剛*, 小沼博隆: 農産物の各種汚染指標菌の検討損傷 腸管出血性大腸菌 O157 の検出法; 接種実験

第20回日本食品微生物学会学術総会 (1999.10)

* 埼玉県衛生研究所

工藤由起子^{*1}, 熊谷 進^{*2}, 田中廣行^{*3}, 丹野憲二^{*3}, 後藤公吉^{*4}, 増田高志^{*5}, 大塚佳代子^{*6}, 正木宏幸^{*6}, 宮原美知子, 小沼博隆: 卵からの *Salmonella Enteritidis* の検出方法の検討

第129回日本獣医学会学術集会 (2000.4)

*¹ 国立感染症研究所

*² 東京大学

*³ 日本食品分析センター

*⁴ 新潟県食肉衛生検査センター

*⁵ 静岡県環境衛生科学研究所

*⁶ 埼玉県衛生研究所

工藤由起子^{*1}, 中川 弘^{*2}, 後藤公吉^{*3}, 増田高志^{*4}, 小沼博隆, 熊谷 進^{*5}: 食品からの腸管出血性大腸菌 O26 の検出方法の検討

第129回日本獣医学会学術集会 (2000.4)

*¹ 国立感染症研究所

*² 財団法人東京顕微鏡院

*³ 新潟県食肉衛生検査センター

*⁴ 静岡県環境衛生科学研究所

*⁵ 東京大学

工藤由起子^{*1}, 小沼博隆, 小高秀正^{*2}, 池戸正城^{*3}, 小島楨^{*3}, 中川 弘^{*4}, 後藤公吉^{*5}, 熊谷 進^{*6}: 凍結損傷腸管出血性大腸菌 O157:H7 の検出方法の検討

第129回日本獣医学会学術集会 (2000.4)

*¹ 国立感染症研究所

*² 日水製薬株式会社

*³ 栄研化学株式会社

*⁴ 財団法人東京顕微鏡院

*⁵ 新潟県食肉衛生検査センター

*⁶ 東京大学

仁科徳啓^{*1}, 小沼博隆, 杉山寛治^{*2}, 熊谷 進^{*3}: 低温領域における *Vibrio parahaemolyticus* の増殖態度

第129回日本獣医学会学術集会 (2000.4)

*¹ 東海大学

*² 静岡県環境衛生科学研究所

*³ 東京大学大

小沼博隆: 調理施設と食品製造における衛生管理に関する研究

日本防菌防黴学会第3回食品微生物制御研究部会 (2000.2)

酒井綾子, 菊池 裕, 増井 徹, 水澤 博, 室井正志, 内田恵理子, 棚元憲一, 降旗千恵*: 発癌プロモーターの作用で発現が変化する遺伝子の検索

日本薬学会第120年会 (2000.3)

* 青山学院大理工

松谷佐知子: 反復配列の遺伝子発現機構

第22回日本分子生物学会年会 (1999.12)

菊池 裕, 山崎 壮, 今沢 孝喜, 武木田 薫*, 西川秋佳, 高鳥 浩介, 谷村 顕雄*, 澤田 純一: 正常プリオンタンパク質のヒト, グリオーマ細胞における細胞内分布の解析

第72回生化学会 (1999.10)

* 昭和女子大

武木田薫^{*1}, 菊池 裕, 山崎 壮, 藤沢正彦^{*2}, 品川森一^{*3}, 高鳥浩介, 谷村顕雄^{*1}, 澤田純一: プリオンタンパクのイムノアッセイ法の開発 (1) 抗PrP抗体の作製及び比較

第120年会日本薬学会 (2000.3)

*¹ 昭和女子大

*² 東大・農

*³ 帯広畜産大

Nakata, K., Nakano, T., and Kaminuma, T.: Application of the Receptor Database (RDB) to the Endocrine Disruptor Problem.

The 2nd International Workshop on Advanced Genomics (1999.4)

中野達也, 神沼二真, 上林正巳^{*1}, 佐藤智之^{*2}, 秋山泰^{*3}, 北浦和夫^{*4}: Ab initio ベア近似法による分子計算プログラムの開発

1999 計算化学討論会 (1999.5)

*¹ 通産省工業技術院 生命工学工業技術研究所

*² 株式会社富士総合研究所

*³ 電子技術総合研究所 知能情報部

*⁴ 大阪府立大学総合科学部

Kaminuma, T., Takai-Igarashi, T., Nakano, T., and Nakata, K.: Information and Computing Infrastructure for Endocrine Disruptors

The Third KFDA International Symposium (1999.6)

Kaminuma, T., Takai-Igarashi, T., Nakano, T., and Nakata, K.: Modeling of Signaling Pathways for Endocrine Disruptors IPCAT (1999.8)

Nakata, K., Nakano, T., and Kaminuma, T.: Hormone Receptors in the Receptor Database (RDB). XIII International Biophysics Congress (1999.9)

中野達也, 神沼二真, 上林正巳^{*1}, 佐藤智之^{*2}, 秋山泰^{*3}, 北浦和夫^{*4}: Ab initio ベア近似法による巨大分子計算プログラムの開発

分子構造総合討論会 (1999.9)

*¹ 通産省工業技術院 生命工学工業技術研究所

*² 株式会社富士総合研究所

*3 電子技術総合研究所知能情報部

*4 大阪府立大学総合科学部

Sekizawa, J, Imai, K.*, Ohya, Y.: Uncertainty analysis of dioxin toxicity -its implication to human risk assessment

Dioxin '99 19th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (1999.9)

* 食品薬品安全センター秦野研究所

神沼二真, 中野達也, 高井貴子, 大竹千代子, 瀧 明子, 山本美智子, 山本 都, 長谷川式子, 小峰 啓, 中田琴子: 内分泌かく乱物質のデータ知識ベース
第25回環境トキシコロジーシンポジウム (1999.10)

大竹千代子, 蕪山典子, 神沼二真: 東アジアの水系における環境汚染物質の表示システム
第25回環境トキシコロジーシンポジウム (1999.10)

Sekizawa, J.: Integrated approach for the risk assessment on chemicals - case studies on endocrine disruptors

2nd Pan Pacific Conference on Pesticide Science (1999.10.)

関沢純: 現状の汚染レベルをどう考えるか
ダイオキシン問題を考えるシンポジウム (1999.9)

関沢純: 内分泌攪乱化学物質のリスク評価における統合的なリスク評価へのアプローチ
日本リスク研究学会, 第12回研究発表会 (1999.11)

関沢純: リスクマネジメントについて
第4回西日本環境ホルモン研究会 (1999.12)

関沢 純: リスクコミュニケーションとは何か
これからのリスクコミュニケーションセミナー
日本リスク研究学会 (1999.12)

Sekizawa, J.: Benchmark dose estimation for reproductive and developmental effects of dioxins.

日本内分泌攪乱化学物質学会 (環境ホルモン学会)(1999.12)

Sekizawa, J., Suter, G.*1, Vermeire, T.*2 and Munns, W.*3: An example of integrated approach for health and environmental risk assessment: case of organotin compounds.

The 3rd IWA Specialized Conference on Hazard Assessment and Control of Environmental Contaminants -ECOHazard '99 (1999.12)

*1 National Center for Environmental Assessment, US Environmental Protection Agency, USA

*2 National Institute of Public Health and the Environment, The Netherlands

*3 National Health and Environmental Effects Research Laboratory, US Environmental Protection Agency, USA

関沢純: リスクコミュニケーションと情報公開
第6回情報ネットワーク講演会 (2000.1)

中野達也, 神沼二真, 上林正巳*1, 佐藤 智之*2, 秋山泰*3, 北浦和夫*4: **Ab initio**ベア近似法による巨大分子計算プログラムの開発2

第22回情報化学討論会 (1999.11)

*1 通産省工業技術院 生命工学工業技術研究所

*2 株式会社富士総合研究所

*3 電子技術総合研究所 知能情報部

*4 大阪府立大学総合科学部

神沼二真, 大竹千代子, 蕪山典子: 東アジア地域の化学物質による環境汚染データ表示
環境科学 (1999.11)

大竹千代子, 伊藤尚史*1, 高田秀重*2, 間藤ゆき枝*3, 兼広春之*4, 神沼二真: 漂着レジンペレットの分類と成分の分析 第3報
環境科学 (1999.11)

*1 旭化成工業(株) 品質保証総括部

*2 東京農工大学農学部水環境保全学科

*3 東京農工大学農学部水環境保全学科

*4 東京水産大学水産学部海洋生産学科

Kaminuma, T.: Information Network for Risk Assessment and Risk Management

The Fourth Princess Chulabhorn International Science Congress (1999.11)

高井貴子, 神沼二真: 生体分子のシグナル伝達ネットワークデータベースの開発
第22回日本分子生物学会年回 (1999.12)

高井貴子, 神沼二真: 化学物質の安全性情報に役立つ全文検索システムについて
地域保健のためのインターネット研究会 (1999.11)

Takai-Igarashi, T. and Kaminuma, T.: Cell signaling networks database

3rd Joint Meeting for Signal Transduction Society (1999.12)

Nakata, K., Takai-Igarashi, T. and Kaminuma, T.: Receptor Database (RDB)

Genome Informatics 1999 (1999.12)

神沼二真, 中田琴子, 中野達也, 高井貴子, 山本 都, 大竹千代子, 瀧 明子, 山本美智子, 長谷川式子, 小峰啓: 内分泌かく乱物質研究の情報計算基盤の構築
日本内分泌攪乱化学物質学会 (環境ホルモン学会)(1999.12)

中田琴子, 中野達也, 高井貴子, 神沼二真: 内分泌攪乱化学物質と受容体データベース
日本内分泌攪乱化学物質学会 (環境ホルモン学会)(1999.12)

神沼二真, 高井貴子: 細胞内シグナル伝達系のデータベースについて
第18回サイトプロテクション研究会 (2000.2)

神沼二真: ゲノム研究の医薬品適正使用へのインパクト
日本薬学会 1120年会シンポジウム (2000.3)

黒木由美子*1, 田村満代*1, 後藤京子*1, 大橋教良*2, 吉岡敏治*1, 山本 都: 1998年に日本中毒情報センターで受信した中毒事件とJPIC対応実態調査
第21回日本中毒学会, 東京 (2000.7)

*1 (財)日本中毒情報センター

*2 筑波メディカルセンター病院

山本 都：健康危機管理体制における国立衛研での役割と対応
第36回全国衛生化学技術協議会，福岡（1999.11）

山本 都：健康危機管理と情報における地方衛生研究所および国立衛研の連携
第13回公衆衛生情報研究協議会研究会，広島（2000.2）

黒川雄二：ダイオキシンの耐容一日摂取量について
日本薬学会九州支部主催コロキウム，福岡（1999.10）

黒川雄二：医薬品及び動物用医薬品毒性試験ガイドラインの現況
第129回日本獣医学会公衆衛生シンポジウム，つくば（2000.4）

平林容子，淀井淳司*，菅野 純，尹 秉一，内田雄幸，梅村隆志，黒川雄二，井上 達：Thioredoxin/Adult T-cell leukemia derived factor (Trx/ADF) 遺伝子改変マウス造血前駆細胞の紫外線抵抗性
第89回日本病理学会総会（2000.4）
* 京都大学ウイルス研究所

平林容子，高木篤也，尹 秉一，井上 達：Mn-SOD 遺伝子欠失マウス由来の造血前駆細胞の紫外線に対する影響
第62回日本血液学会総会（2000.3.）

吉田和子*，平林容子，井上 達：p53 遺伝子欠失マウスに発症する放射線誘発白血病と造血幹細胞の放射線感受性について
第62回日本血液学会総会（2000.3）
* 放射線医学総合研究所

Yoon, B.I., Hirabayashi, Y., Kawasaki, Y., Kodama, Y., Kaneko, T., Kanno, J., Saga, Y. and Inoue, T.: The mechanism of benzene-induced hemopoietic toxicity: Inhibition of cell cycle.
第22回日本分子生物学会年会（1999.12）

Kawasaki, Y., Yoon, B.I., Kaneko, T., Hirabayashi, Y., Kodama, Y. and Inoue, T.: Leukemogenesis by benzene inhalation in p53 deficient mice
American Society of Hematology Forty-First Annual meeting（1999.12）

Hirabayashi, Y., Yoon, B.I., Kodama, Y., Yodoi, J.* and Inoue, T.: Hemopoietic stem cells carrying Trx/ADF transgene were protective from oxidative stressors.
American Society of Hematology Forty-First Annual meeting（1999.12）
* 京都大学ウイルス研究所

壺井 功，森本幸治，斉藤 孝*¹，平林容子，森 和博*²，井上 達：若齢・加齢老化促進モデルマウス（SAM）のアンドロゲン投与による造血反応の比較
第16回日本疾患モデル学会総会（1999.11）
¹ 日本大学医学部
² 新潟大学理学部

平林容子，高木篤也，児玉幸夫，菅野 純，黒川雄二，井上 達：Mn-SOD 遺伝子導入マウス骨髄細胞での紫外線抵抗性

第58回日本癌学会総会（1999.10）

Hirabayashi, Y., Yoon B.I., Kodama, Y., Yodoi, J.* and Inoue, T.: Hemopoietic stem cells carrying Trx/ADF transgene were protective from oxidative stressors.
日本研究皮膚科学会第24回年次学術大会（1999.7）
* 京都大学ウイルス研究所

Hirabayashi, Y., Takagi, A., Yoon, B.I., Kodama, Y., Yoshida, K.* and Inoue, T.: Resistance to ultraviolet irradiation in the hemopoietic colony-formation of the transgenic mice expressing Mn-SOD introduced
Eleventh International Congress of Radiation Research（1999.7）

Yoon, B.I., Hirabayashi, Y., Kawasaki, Y., Kodama, Y., Kaneko, T., Kanno, J., Matsushima, Y., Umemura, T., Uchida, O., Kurokawa, Y. and Inoue, T.: Benzene hemopoietic toxicity revisited a new concept
第26回日本トキシコロジー学会学術年会（1999.7）

Ono, A., Kanno, J. and Inoue, T.: Mechanism based high throughput screening method for endocrine disrupting chemicals (EDCs) using bio-sensor
2nd European Workshop 99 International Molecular Toxicology（1999.9）

Ono, A., Kanno, J. and Inoue, T.: Conformational changes on ERα induced by endocrine disrupting chemicals (EDCs)
2000 Keystone Symposia on Molecular & Cellular Biology: Nuclear Receptors 2000（2000.3）

Sai, K.: Green tea: Its biologically suppressing effects during the hepatocarcinogenesis induced by pentachlorophenol –A possible implication for interaction of green tea components with endocrine disruptors–
The 5th International Symposium on Green Tea（1999.5）

Sai, K., Upham, B. L.*¹, Kang, K.-S.*², Hasegawa, R., Trosko, J. E.*¹ and Inoue, T.: Pentachlorophenol inhibits gap junctional intercellular communication in rat liver epithelial cells
1999 International Gap junction Conference（1999.9）
¹ Michigan State University, U.S.A.
² Seoul National University

佐井君江，菅野 純，黒川雄二，井上 達：Pentachlorophenolの肝培養細胞におけるアポトーシス阻害作用ならびにギャップ結合細胞間連絡阻害との関連
第58回日本癌学会総会（1999.9）

Sai, K., Trosko, J. E.* and Inoue, T.: Pentachlorophenol-induced down-regulation of gap junctional intercellular communication was ameliorated by (-)-epigallocatechin gallate in rat liver epithelial cells
Epigenetic Toxicant-Induced Signal Transduction and Altered Cell-Cell Communication（1999.10）
* Michigan State University

Upham, B. L.*, Chem, G.*, Voges, A.*, Sai, K. and Trosko, J. E.*: The inhibition of gap junctional intercellular communication and the activation of MAPK by methylated anthracenes with specific structures.

Epigenetic Toxicant-Induced Signal Transduction and Altered Cell-Cell Communication (1999.10)

* Michigan State University

Upham, B. L.*, Sai, K., Tithol, P. K.*, Chen, G.*, Wilson, W. R.* and Trosko, J. E.*: **Inhibition of gap junctional intercellular communication, activation of MAPK, and the release of arachidonic acid by specific isomers of methylated anthracenes**
Society of Toxicology 39th Annual Meeting (2000.3)

* Michigan State University

相賀裕美子, 村井直美^{*1}, 武田洋幸^{*2}, 井上 達: **MesP1, MesP2 ダブル欠損マウスの解析**
第32回日本発生生物学学会 (1999.5)

^{*1}万有製薬つくば研究所

^{*2}国立遺伝学研究所

高橋 雄, 北嶋 聡, 高木篤也, 井上 達, 相賀裕美子: **体節形成における Notch シグナリングと Mesp2 遺伝子の関係: 活性化型 Notch1 ノックインによる解析**
第32回日本発生生物学学会 (1999.5)

澤田篤志^{*1}, Andreas Fritz^{*2}, Yun-Jin-Jiang^{*3}, 山本朗仁^{*4}, 弥益 恭^{*5}, 黒岩 厚^{*1}, 相賀裕美子, 武田洋幸^{*6}: **ゼブラフィッシュ体節形成における Mesp family 遺伝子の機能**
第32回日本発生生物学学会 (1999.5)

^{*1}名古屋大学理学部

^{*2}Emory University

^{*3}Imperial Cancer Research Fund

^{*4}Howard Hughes Medical Institute, UCLA

^{*5}埼玉大学理学部

^{*6}国立遺伝学研究所

北嶋 聡, 高木篤也, 井上 達, 相賀裕美子: **転写因子 MesP1, MesP2 の初期中胚葉形成に果たす機能**
第22回日本分子生物学学会年会 (1999.12)

原口清輝, 井上 達, 相賀裕美子: **Mesp1, Mesp2 遺伝子のエンハンサー解析**
第22回日本分子生物学学会年会 (1999.12)

Byung-Il Yoon, 平林容子, 川崎 靖, 児玉幸夫, 金子豊蔵, 菅野 純, 相賀裕美子, 井上 達: **ベンゼンの造血障害発生メカニズムとしての細胞周期抑制について**
第22回日本分子生物学学会年会 (1999.12)

高木篤也, 北嶋 聡, 相賀裕美子, 嵩原昇子*, 久郷裕之*, 押村光雄*, 井上 達: **HLA 遺伝子座導入トランスジェニックマウスの作製**
第22回日本分子生物学学会年会 (1999.12)

* 鳥取大学医学部

Saga, Y.: **Function of bHLH factors, MesP1 and MesP2 during gastrulation and somite segmentation**
Molecular Genetics of Muscle Development and Neuromuscular Diseases (1999.9)

Saga, Y., Kitajima, S., Takagi, A., Takeda, H.* and Inoue, T.: **Mesp1 and Mesp2 double deficiency result in loss of the paraxial mesoderm and posterior neural tissues**
Congress of the European Developmental Biology Organisation

in co-operation with the International Society of Developmental Biologists (1999.6)

* 国立遺伝学研究所

Kitajima, S., Takagi, A., Hirabayashi, Y., Saga, Y. and Inoue, T.: **Testicular cell sorting, using flowcytometry, to establish molecular markers as a tool for lineage specific characterization**
2nd European Workshop, 99 Molecular Toxicology (1999.9)

Kitajima, S., Momma, J.* and Inoue, T.: **Reactivities of the skin-sensitization test in guinea pig (GPM) is a function of three parameters; induction doses (MID), challenge doses (SCD), and direct exposures (DED)**

1999 conference, Toxicology for the next millennium (1999.9)

* 医薬品機構

Yoon, B.I., Hirabayashi, Y., Ogawa, Y., Kanno, J., Inoue, T. and Kaneko, T.: **The oscillating recovery in cellularity of the bone marrow and CFU-GMs after intraperitoneal 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-dioxin (TCDD) DIOXIN99** (1999.9)

脇園亮子^{*1}, 松田春甫^{*1}, 宮永貞子^{*1}, 小林宏至^{*1}, 吉川雄二^{*1}, 和田友則^{*1}, 中野美代子^{*1}, 三好秀征^{*1}, 森山義和^{*1}, 大橋健一^{*2}, 菅野 純: **抗リン脂質抗体症候群 (APS) を合併した自己免疫性肝炎 (AIH) の1症例**
第85回日本消化器病学会総会 (1999.4)

^{*1}三楽病院

^{*2}東京医科歯科大学病院

菅野 純: **内分泌攪乱化学物質の生体影響メカニズムとスクリーニング法**

平成11年度北里大学薬学部公開教育講座 (1999.11)

大野泰雄: **臨床試験との関係における非臨床試験の役割**
金沢大学薬学部特別講演会 (1999.4)

倉田知光^{*1}, 西村有希^{*1}, 岩瀬万里子^{*1}, 李 華^{*1}, 鈴木 聡^{*2}, 伊藤洋二^{*3}, 草野満夫^{*3}, 佐藤哲男^{*2}, 大野泰雄, 内田英二^{*1}, 安原 一^{*1}: **ヒト肝薬物代謝酵素活性評価 一手術材料の有用性と信頼性に関する検討 (I) 一**
第6回 HAB 協議会学術年会 (1999.5) 東京

^{*1}昭和大学医学部第二薬理学教室

^{*2}HAB 協議会霊長類機能研究所

^{*3}昭和大学医学部第二外科学教室

鈴木 聡^{*1}, 倉田知光^{*2}, 西村有希^{*2}, 岩瀬万里子^{*2}, 李 華^{*2}, 伊藤洋二^{*3}, 草野満夫^{*3}, 佐藤哲男^{*1}, 大野泰雄, 内田英二^{*2}, 安原 一^{*2}: **ヒト肝薬物代謝酵素活性評価 一手術材料の有用性と信頼性に関する検討 (II) 一**
第6回 HAB 協議会学術年会 (1999.5) 東京

^{*1}HAB 協議会霊長類機能研究所

^{*2}昭和大学医学部第二薬理学教室

^{*3}昭和大学医学部第二外科学教室

大野泰雄: **臨床薬物動態試験および薬物相互作用ガイドライン検討の現状報告**
薬物動態談話会 (1999.6)

Ohno, Y.: **A Regulatory Acceptance of alternative tests for cosmetic ingredients: An MHW Perspective**

3rd International Congress on Alternatives to Animal Experiments (1999.9)

Ohno, Y.: **A Draft of Japanese Guidance for Drug Interactions: *In Vitro* and *in Vivo* Assessment**

3rd international Conference on Drug Interaction (1999.10) 浜松

大野泰雄：ダイオキシンの毒性とトキシコキネティクス
日本化学会環境と化学推進委員会第10回環境化学講演会 (1999.11)

大野泰雄：米国・日本における皮膚毒性評価の現状
第13回日本動物実験代替法学会 (1999.11)

Ohno, Y.: **Japanese Draft Guidance for Drug Interaction Studies**

American Association of Pharmaceutical Scientists (1999.12)

Koizumi, S., Bootman, M.D.*¹, Bobanovic, L.K.*¹, Schell, M.J.*², Berridge, M.J.*¹ and Lipp, P.*¹: **Characterisation of elementary Ca²⁺ release signals in NGF-differentiated PC-12 cells and hippocampal neurones**

Annual Meeting of Physiological Society in German (1999.5)

*¹ Babraham Institute

*² University of Cambridge

Bootman, M.D.*¹, Koizumi, S., Bobanovic, L.K.*¹, Schell, M.J.*², Berridge, M.J.*¹ and Lipp, P.*¹: **The elementary principles of Ca²⁺ release in neurones**

Annual Meeting of Physiological Society in German (1999.5)

*¹ Babraham Institute

*² University of Cambridge

小泉修一, 井上和秀：神経系細胞におけるストア作動性カルシウム流入と神経伝達物質放出
日本神経科学会 (1999.7)

小泉修一, 井上和秀：神経系細胞におけるCa²⁺遊離の基本要因の解明
第42回日本神経化学会 (1999.9)

Koizumi, S., Bootman, M.D.*¹, Bobanovic, L.K.*¹, Schell, M.J.*², Berridge, M.J.*¹, Lipp, P.*¹, and Inoue, K.: **Characterisation of elementary Ca²⁺ release signals in NGF-differentiated PC-12 cells and hippocampal neurones**

Annual Meeting of Society for Neuroscience (1999.10)

*¹ Babraham Institute

*² University of Cambridge

小泉修一, Bootman, M.D.*¹, Lipp, P.*¹, Berridge, M.J.*¹, 井上和秀：PC12細胞リアノジン受容体からの段階的カルシウム遊離起序の解明
第73回日本薬理学会年会 (2000.3)

* Babraham Institute

津田 誠, 上野伸哉*, 井上和秀：ラット足底部へのP2X受容体作動薬投与により誘発された痛覚過敏反応
第29回日本神経精神薬理学会年会 (1999.9)

* 福岡大学医学部

井上和秀, 津田 誠, 上野伸哉*：痛覚伝達系における

P2X受容体の役割

第42回日本神経化学会大会ワークショップ (1999.9)

* 福岡大学医学部

本田静世*, 大沢圭子*, Lopez-Redondo F*, 井上和秀, 高坂新一*：神経再生とミクログリアの活性化-ATPによるラッフル形成の促進

第42回日本神経化学会大会ワークショップ (1999.9)

* 国立精神神経センター

田中将也*¹, 鈴木智久*¹, 井上敦子*¹, 秀和泉*¹, 井上和秀, 高坂新一*², 仲田義啓*¹：細胞外ATPによるラット脳ミクログリアのTNF-α産生遊離

第42回日本神経化学会大会 (1999.9)

*¹ 広島大学医学部

*² 国立精神神経センター

Inoue, K., Ueno, S., Tsuda, M., Kita, A. and Koizumi, S.: **ATP-evoked inhibition of glutamate release and facilitation of GABA release from cultured hippocampal neurons**

16th International Society for Neurochemistry Meeting (1999.8)

井上和秀：ATPによる神経伝達物質放出の制御

第52回日本自律神経学会総会シンポジウム (1999.11)

津田 誠, 井上和秀：P2X受容体と痛み

第73回日本薬理学会年会 シンポジウム (2000.3)

喜多 彩, 小泉修一, 津田 誠, 上野伸哉*¹, 小浜とも子, 川島紘一郎*², 井上和秀：ラット培養海馬神経細胞におけるATPによるグルタミン酸神経伝達抑制メカニズムの解明

第73回日本薬理学会年会 (2000.3)

*¹ 福岡大学医学部

*² 共立薬科大学

重本由香里, 小泉修一, 高坂新一*, 井上和秀：マウスミクログリア細胞株(MG5)からの細胞外ATP刺激によるIL-6産生機構の解明

第73回日本薬理学会年会 (2000.3)

* 国立精神神経センター

津田 誠, 井上和秀：ラットを用いた術後痛モデルにおけるP2受容体拮抗薬PPADSの効果

第73回日本薬理学会年会 (2000.3)

富岡昭裕*¹, 上野伸哉*², 喜多 彩, 桂木 猛*², 小浜一弘*¹, 井上和秀：揮発性麻酔薬はHEK293細胞に発現させたP2X4受容体チャネルを増強する

第73回日本薬理学会年会 (2000.3)

*¹ 群馬大学医学部

*² 福岡大学医学部

Sato, K., Matsuki, N.*: **HSP70 protects CA1 selective damage and may serve as a factor underlying the selective vulnerability**
The 29th Annual Meeting Society for Neuroscience (1999.10)

* 東京大学薬学部

中澤憲一, 大野泰雄, North, R.A.*¹, Surprenant, A.*²：P2X2受容体チャネル孔変異体のカルシウム透過性

第73回日本薬理学会年会 (2000.3)

*The University of Sheffield

佐藤薫, 中澤憲一, 松木則夫*, 大野泰雄: エストロゲン及びその類縁物質の中樞神経細胞生存に対する効果-培養海馬切片を用いた検討

第73回日本薬理学会年会 (2000.3)

* 東京大学薬学部

小澤正吾, 加藤貴彦*, 稲富久人*, 松本哲朗*, 大野泰雄: ヒトフェノール硫酸転移酵素, アリルアミンN-アセチル転移酵素の遺伝子多型と尿路上皮癌感受性

第26回日本トキシコロジー学会学術年会 (1999.7)

* 産業医科大学

小澤正吾, 清水万紀子¹, 松本宜明¹, 福岡正道¹, 加藤貴彦², 大野泰雄: ヒト組織フェノール硫酸転移酵素の遺伝子多型と多型分子種の性質

第119日本薬物動態学会年会 (1999.10)

¹ 昭和薬科大学 (国立衛研・研究生)

² 産業医科大学

小澤正吾: ヒト末梢組織を用いた肝薬物代謝酵素活性のハイスループットモニタリングの可能性

日本動物実験代替法学会第13回大会 (1999.11)

小澤正吾, 大野泰雄: 内分泌攪乱化学物質のヒトにおける代謝と内分泌攪乱作用の修飾

日本化学会第78会春季年会・内分泌攪乱性化学物質の動態研究シンポジウム (I) (2000.3)

大田久美子*, 小澤正吾, 紅林秀雄, 篠内桃子, 宮島敦子, 清水万紀子*, 松本宜明*, 福岡正道*, 大野泰雄: o-フェニルフェノール (OPP) の毒性代謝物2,5-ジヒドロキシビフェニル生成に関するシクロムP450分子種

第120回日本薬学会年会 (2000.3)

* 昭和薬科大学

篠内桃子, 宮島敦子, 小澤正吾, 大野泰雄: ジフェニルのBDF1マウス肝薬物代謝酵素系に及ぼす影響

第26回日本トキシコロジー学会学術年会 (1999.7)

Sunouchi, M., Miyajima, A., Ozawa, S. and Ohno, Y.: Sex differences in hepatic CYP4A induction and biphenyl metabolism in biphenyl-administered BDF1 mice

The 39th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2000.3)

宮島敦子, 篠内桃子, 引間知広, 酒見和枝, 津田充宥, 大野泰雄: 2-Mercaptobenzimidazole (MBI) およびそのメチル誘導体のラット肝薬物代謝酵素系に及ぼす影響について

第26回日本トキシコロジー学会学術年会 (1999.7)

小野田文俊*, 宮島敦子, 関政幸*, 榎本武美*: 出芽酵母sgs1変異株におけるDNA障害誘導時の相同染色体組み換えの減少

第22回日本分子生物学会年会 (1999.12)

* 東北大学薬学部

宇井彩子*, 小野田文俊*, 佐藤友里恵*, 宮島敦子, 小野寺涼子*, 関政幸*, 榎本武美*: RecQヘリカーゼファミリーに保存されたアミノ酸の機能

第22回日本分子生物学会年会 (1999.12)

* 東北大学薬学部

紅林秀雄, 大野泰雄: Bisphenol Aの雄性ラットにおける血中動態と胆汁排泄

第25回環境トキシコロジーシンポジウム (1999.10)

根本浩之*, 野口智行*, 石川善孝*, 長塚伸一郎*, 須藤賢司*, 紅林秀雄, 大野泰雄: ラットにおけるBisphenol Aの体内動態

第2回日本内分泌錯乱攪乱化学物質学会 (1999.12)

* 第一化学薬品(株)薬物動態研究所

紅林秀雄, Harada, R.*, Stewart, R.K.*, Numata, H.*, 大野泰雄: ビスフェノールAのサルにおける生体内動態

第2回日本内分泌錯乱攪乱化学物質学会 (1999.12)

* ITR Laboratories Canada Inc., Quebec, Canada

紅林秀雄, Harada, R.*, Stewart, R.K.*, Numata, H.*, 大野泰雄: ビスフェノールAのサルにおける体内動態

日本薬学会第120年会 (2000.3)

* ITR Laboratories Canada Inc., Quebec, Canada

中島幹夫*, 高橋弘樹*, 佐々木真敬*, 小林洋四郎*, 宇佐見 誠, 大野泰雄: インジウムの発生毒性のラットおよびマウスにおける種差の検討

第39回日本先天異常学会学術集会 (1999.7)

* 旭化成工業株式会社 ライフサイエンス総合研究所

酒見和枝, 梅村隆志, 津田充宥, 大野泰雄: 2-Mercaptobenzimidazole (MBI) と lipopolisaccharide (LPS) の複合投与による毒性増強とトキシコキネティクス (TK)

第26回日本トキシコロジー学会学術年会 (1999.7)

Shimada, K.*, Nishikimi, H.*, Kansaku, N.*, Saito, N.*, Usami, M., Ohno, Y.: Developmental mRNA expression of P450c17, P450arom and AMH in chicken gonads

International Conference on bird reproduction (1999.9)

* Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, Japan

古川文夫, 西川秋佳, 広瀬雅雄: DEN投与ハムスターにおけるO6-medG発現の免疫組織化学的検討

第88回日本病理学会総会 (1999.4)

西川秋佳, 古川文夫, 広瀬雅雄: ハムスターBOP腺癌に対するprotocatechuic acid (PCA)の抑制効果

第88回日本病理学会総会 (1999.4)

糀谷高敏, 三森国敏, 安原加壽雄, 池田尚子, 今沢孝喜, 小野寺博志, 高木久宜, 広瀬雅雄: DHPNを用いたラット二段階発癌モデルにおけるDMA誘発鼻腔増殖性病変の病理学的検討

第127回日本獣医学会 (1999.4)

高木久宜, 三森国敏, 小野寺博志, 安原加壽雄, 糀谷高敏, 広瀬雅雄: p53ノックアウト(ヘテロ欠損)(p53(+/-))CBAマウスにおけるN-ethyl-N-nitrosourea (ENU)の発癌感受性

第127回日本獣医学会 (1999.4)

Furukawa, F., Nishikawa, A., Lee, I-S.*, Nakamura, H., Miyauchi, M., Hirose, M.: Chemopreventive activity of oltipraz against induction of glandular stomach carcinogenesis in rats by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

3rd International Gastric Cancer Congress (1999.4)

* 韓国啓明大学

Nishikawa, A., Furukawa, F., Lee, I-S.*1, Nakamura, H, Miyauchi, M., Kinac, N.*2, Hirose, M.: **Promoting effects of 3-chloro-4-(dimethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) on rat glandular stomach carcinogenesis initiated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine**

3rd International Gastric Cancer Congress (1999.4)

*1 韓国啓明大学

*2 静岡県立大学

Lee, I-S.*1, Kim, H-J.*1, Kim, H-S.*1, Nishikawa, A., Furukawa, F., Nakamura, H, Miyauchi, M., Hirose, M., Kim, S-U.*2: **Effects of Selagenella tamariscina on the expression of p53, G1 arrest in cell lines and glandular stomach carcinogenesis in rats initiated with MNNG**

3rd International Gastric Cancer Congress (1999.4)

*1 韓国啓明大学

*2 ソウル大学

Nishikawa, A.: **Risk assessment of food additives and related compounds: current status in Japan**

1999 Annual Meeting of Korean Society of Postharvest Science and Technology of Agricultural Products, Invited Lecture (1999.4)

古川文夫, 西川秋佳, 宮内 慎, 中村英明, 笠原健一郎, 李 仁善*: **ハムスター-BOP 膵発癌イニシエーションに対する 4-phenylbutyl isothiocyanate の影響**

第6回日本がん予防研究会 (1999.7)

* 韓国啓明大学

西川秋佳, 古川文夫, 宮内 慎, 中村英明, 池田尚子, 村上 明*1, 大東 肇*2, 広瀬雅雄: **1'-Acetoxychavicol acetate による BOP 誘発ハムスター肝内胆管腫瘍の抑制**

第6回日本がん予防研究会 (1999.7)

*1 近畿大学

*2 京都大学

古川文夫, 西川秋佳, 宮内 慎, 中村英明, 笠原健一郎, 広瀬雅雄: **ジョサマイシンによる WBN/kob ラット膵炎発生の抑制**

第26回日本トキシコロジー学会学術年会 (1999.7)

宮内 慎, 西川秋佳, 古川文夫, 中村英明, 広瀬雅雄: **抗酸化剤と亜硝酸の併用投与によるラット前胃への影響**

第26回日本トキシコロジー学会学術年会 (1999.7)

田村 啓, 渋谷 淳, 豊田和弘, 畝山智香子, 高橋道人, 広瀬雅雄: **ホウ素化合物のラット造血器およびリンパ系器官を標的とした毒性**

第26回日本トキシコロジー学会学術年会 (1999.7)

安原加壽雄, 三森国敏, 小林裕子*, 糀谷高敏, 小野寺博志, 高木久宜, 広瀬雅雄: **ラットにおける xylazine の鼻腔発癌修飾作用**

第26回日本トキシコロジー学会学術年会 (1999.7)

* (社) 日本植物防疫協会研究所

高木久宜, 三森国敏, 小野寺博志, 安原加壽雄, 糀谷高敏,

広瀬雅雄: **卵巣摘出ラットにおける内分泌攪乱化学物質の甲状腺増殖性病変に対する修飾作用**

第26回日本トキシコロジー学会学術年会 (1999.7)

小野寺博志, 三森国敏, 高木久宜, 安原加壽雄, 広瀬雅雄: **P53 ノックアウト (ヘテロ欠損) CBA マウスにおける発がん感受性**

第26回日本トキシコロジー学会学術年会 (1999.7)

中村英明, 古川文夫, 笠原健一郎, 宮内 慎, 西川秋佳, 広瀬雅雄: **LEC ラットの肝障害に対する Oltipraz の影響**

第26回日本トキシコロジー学会学術年会 (1999.7)

豊田和弘, 渋谷 淳, 田村 啓, 糀谷高敏, 畝山智香子, 広瀬雅雄: **ラット 28 日間反復投与試験法 "OECD Guideline 407 enhanced" 確立のための Flutamide を用いた予備的検討**

第26回日本トキシコロジー学会学術年会 (1999.7)

西川秋佳, 古川文夫, 宮内 慎, 中村英明, 孫 和永, 広瀬雅雄: **タバコ煙による発がん修飾の作用機構**

第14回発癌病理研究会 (1999.8)

西川秋佳, 古川文夫, 鈴木孝昌, 増村健一, 能美健彦, 林真, 広瀬雅雄: **マーカー遺伝子導入マウスによる化学発癌分子機構の解析**

第10回日本消化器癌発生学会 ワークショップ (1999.9)

古川文夫, 西川秋佳, 広瀬雅雄: **ハムスター BOP 膵発癌イニシエーション期におけるイソチオシアネート系化合物の抑制効果**

第10回日本消化器癌発生学会 (1999.9)

安原加壽雄, 三森国敏, 竹川 潔*, 糀谷高敏, 小野寺博志, 高木久宜, 広瀬雅雄: **Xylazine のラット甲状腺発癌プロモーション作用とそのメカニズム**

第58回日本癌学会総会 (1999.9)

* 吉富製薬(株)

古川文夫, 西川秋佳, 宮内 慎, 中村英明, 笠原健一郎, 李 仁善, 広瀬雅雄: **ハムスター BOP 膵発癌イニシエーションに対する 4-phenylbutyl isothiocyanate の影響**

第58回日本癌学会総会 (1999.9)

畝山智香子, 渋谷 淳, 豊田和弘, 田村 啓, 広瀬雅雄: **メタカーン固定・パラフィン包埋切片からの RNA 及び蛋白質の発現レベル解析 予備的検討**

第58回日本癌学会総会 (1999.9)

今沢孝喜, 西川秋佳, 池田尚子, 中村英明, 広瀬雅雄: **PhIP 単回投与によるラット標的細胞の核小体の超微形態学的変化**

第58回日本癌学会総会 (1999.9)

糀谷高敏, 三森国敏, 安原加壽雄, 池田尚子, 今沢孝喜, 小野寺博志, 高木久宜, 広瀬雅雄: **DHPN を用いたラット二段階発癌モデルにおける DMA 誘発鼻腔病変の経時的検討**

第58回日本癌学会総会 (1999.9)

池田尚子, 西川秋佳, 今沢孝喜, 宮内 慎, 中村英明, 木村修一*, 広瀬雅雄: **ヨード欠乏と大豆摂取による相乗的**

甲状腺増殖効果の閾値の検討
第58回日本癌学会総会 (1999.9)
* 昭和女子大学

西川秋佳, 池田尚子, 今沢孝喜, 宮内 慎, 中村英明, 木村修一*, 広瀬雅雄: 大豆摂取とヨード欠乏との特異的相乗的甲状腺増殖作用
第58回日本癌学会総会 (1999.9)
* 昭和女子大学

広瀬雅雄, 宮内慎, 古川文夫, 中村英明, 西川秋佳: 亜硝酸と抗酸化剤の複合投与によるラット前胃上皮に対する細胞増殖作用
第58回日本癌学会総会 (1999.9)

三森国敏, 若菜茂晴*, 安原加壽雄, 浦野浩司*, 丸山千佳*, 白居敏仁*, 梶谷高敏, 広瀬雅雄, 野村達次*: rasH2 トランスジェニックマウスのMNU/ENU誘発前胃・皮膚腫瘍における導入遺伝子変異
第58回日本癌学会総会 (1999.9)
* 実中研

Lee, I-S.*, Yang, U-J. *, Kim, H-J.*, Nishikawa, A., Furukawa, F., Hirose, M.: Effects of *Adenophora triphylla* on apoptosis induction, G1 arrest and gastric epithelial cell proliferation
第58回日本癌学会総会 (1999.9)
* 韓国啓明大学

宮内 慎, 西川秋佳, 古川文夫, 中村英明, 池田尚子, 村上 明^{*1}, 大東 肇^{*2}, 広瀬雅雄: ハムスターのBOP発癌イニシエーション期における1'-Acetoxychavicol acetateの影響
第58回日本癌学会総会 (1999.9)
^{*1} 近畿大学
^{*2} 京都大学

陳 協*, 小川久美子*, 崔 林*, 杉浦 諭*, 広瀬雅雄, 白井智之*: PEITCのラット膀胱, 肝発がん促進に対する用量相関作用
第58回日本癌学会総会 (1999.9)
* 名古屋市立大学

加藤俊男^{*1,2}, 玉野静光^{*3}, 二口 充^{*1}, 萩原昭裕^{*3}, 朝元誠人^{*1}, 河部真弓^{*3}, 広瀬雅雄, 白井智之^{*1}: DMABラット前立腺発がんにおけるtestosteroneとestrogenによる発癌修飾作用の検討
第58回日本癌学会総会 (1999.9)
^{*1} 名古屋市立大学
^{*2} 大雄会病・病理
^{*3} 大雄会医科研

中村英明, 西川秋佳, 古川文夫, 宮内 慎, 池田尚子, 今沢孝喜, 広瀬雅雄: Protocatechuic acidによるBOP誘発ハムスター膀胱発癌の抑制
第58回日本癌学会総会 (1999.9)

杉浦 諭*, 小川久美子*, 高橋 智*, 加藤俊男*, 広瀬雅雄, 白井智之*: Phenethyl isothiocyanate (PEITC)によるラット膀胱病変の可逆性
第58回日本癌学会総会 (1999.9)
* 名古屋市立大学

吉野裕子^{*1,2}, 佐野真士^{*1,2}, 小川久美子^{*1}, 杉浦 諭^{*1}, 小木曾 正^{*1}, 広瀬雅雄, 白井智之^{*1}: イソチオシアネート関連化合物によるラット膀胱上皮の変化
第58回日本癌学会総会 (1999.9)
^{*1} 名古屋市立大学
^{*2} 大雄会医科研

豊田和弘, 渋谷 淳, 田村 啓, 畝山智香子, 仁保直子, 広瀬雅雄: Benzyl isothiocyanate及びその代謝物のラット膀胱上皮細胞増殖に対する直接的作用
第58回日本癌学会総会 (1999.9)

河部真弓^{*1}, 高橋 智^{*2}, 今井田克巳^{*2}, 佐野真士^{*1,2}, 玉野静光^{*1}, 広瀬雅雄, 白井智之^{*2}: 雌ラットを用いた中期多臓器発癌性試験法の開発
第58回日本癌学会総会 (1999.9)
^{*1} 大雄会医科研
^{*2} 名古屋市立大学

高木久宜, 三森国敏, 小野寺博志, 安原加壽雄, 梶谷高敏, 広瀬雅雄: p53ノックアウト(ヘテロ欠損)(p53(+/-))CBAマウスを用いた二段階発癌モデルにおけるflumequineの肝発癌修飾作用
第58回日本癌学会総会 (1999.9)

小野寺博志, 三森国敏, 高木久宜, 安原加壽雄, 梶谷高敏, 広瀬雅雄: P53ノックアウト(ヘテロ欠損)CBAマウスを用いたENU誘発子宮腫瘍モデルにおけるmethoxychlorおよびatrazineの発がん修飾作用
第58回日本癌学会総会 (1999.9)

Mitsumori, K., Onodera, H., Yasuhara, K., Takagi, H., Koujitani, T. and Hirose, M.: Modifying effects of methoxychlor in uterine carcinogenesis model using heterozygous p53 deficient CBA mice treated with N-ethyl-N-nitrosourea
19th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (1999.9)

Shibutani, M., Toyoda, K., Imazawa, T., Nakamura, H., Miyauchi, M., Koujitani, T., Tamura, T., Hirose, M.: Validation study of proposed protocol for an "Enhanced OECD test guideline 407" using flutamide and 17alpha-methyltestosterone
19th International Symposium on halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (1999.9)

安原加壽雄, 三森国敏, 梶谷高敏, 高木久宜, 小野寺博志, 広瀬雅雄: Ethylnitrosoureaの短期発癌試験におけるヒトプロト型c-Ha-ras遺伝子導入マウスの発癌標的性
第128回日本獣医学会 (1999.10)

渋谷 淳, 畝山智香子, 宮崎恵子, 田村 啓, 豊田和弘, 広瀬雅雄: メタカーン固定法: パラフィン包埋切片における遺伝子発現レベル解析への応用
第128回日本獣医学会 (1999.10)

小出彰宏*, 不破浩司*, 古川文夫, 西川秋佳, 広瀬雅雄, 森 幸雄*: 膀胱発癌物質N-nitrosobis(oxopropyl)aniline (BOP)と喫煙(CS)の代謝活性化に対する影響
第28回日本環境変異原学会 (1999.12)
* 岐阜薬科大学

Lee, I-S.*, Kim, H-J.*, Han, J.*, Seo, H-J.*, Furukawa, F., Nishikawa, A.: **Chemoprevention effects of polyozellus multiflex, A Korean wild mushrooms, on glandular stomach carcinogenesis in rats treated with MNNG**

2nd International Conference on Food Factors (1999.12)

* 韓国啓明大学

Hirose, M., Toyoda, K., Shibutani, M., Nishikawa, A., Ogawa, K.*, Sano, M.*, Sugiura, S.*, Shirai, T.*: **Isothiocyanates: Chemopreventors or Carcinogens?**

2nd International Conference on Food Factors (1999.12)

* 名古屋市立大学

Ikeda, T.*, Nishikawa, A., Imazawa, T., Nakamura, H., Miyauchi, M., Son, H-Y., Nakanishi, Y.*, Inage, H.*, Kimura, S.*, Hirose, M.: **Mechanistic insights into synergistic effects of soybean with iodine deficiency regarding induction of thyroid hyperplasia in rats**

2nd International Conference on Food Factors (1999.12)

* 昭和女子大学

Nishikawa, A., Furukawa, F., Lee, I-S.*, Ikeda, T., Son, H-Y., Miyauchi, M., Nakamura, H., Hirose, M.: **Effects of alkyl chain length on inhibition of BOP-induced pancreatic tumorigenesis in hamsters by isothiocyanates**

2nd International Conference on Food Factors (1999.12)

* 韓国啓明大学

高木久宜, 三森国敏, 小野寺博志, 安原加壽雄, 梶谷高敏, 田村 啓, 広瀬雅雄: **p53 ノックアウト (ヘテロ欠損) CBA マウスを用いた二段階肝発癌モデルにおける flumequine の肝イニシエーション作用**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

小野寺博志, 三森国敏, 高木久宜, 安原加壽雄, 梶谷高敏, 田村 啓, 広瀬雅雄: **P53 ノックアウト (ヘテロ欠損) CBA マウスを用いた ENU による二段階多臓器発がんモデルにおけるビスフェノールA, DDT, きなこの発がん修飾作用**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

渋谷 淳, 三森国敏, 佐藤伸一¹, 西島基弘², 平塚秀明³, 佐藤雅彦⁴, 広瀬雅雄, 安藤正典: **ラットの微量カドミウム長期間曝露における毒性発現閾値評価に関する研究**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

¹イナリサーチ

²都立衛生研究所

³三菱化学安全科学研究所

⁴国立環境研究所

広瀬雅雄: **内分泌臓器の毒性変化と内分泌攪乱化学物質: 甲状腺**

第16回日本毒性病理学会シンポジウム (2000.1)

仁保直子, 渋谷 淳, 三森国敏, 佐藤伸一*, 広瀬雅雄, 安藤正典: **PCNA 標識率を指標とした微量カドミウム2年間投与ラットにおける腎傷害性の評価**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

* イナリサーチ(株)

畝山智香子, 渋谷 淳, 宮崎恵子, 仁保直子, 武吉正博*,

豊田和弘, 広瀬雅雄: **性ホルモン投与による肝細胞内 alpha2u-globulin 発現レベルの検索: Enhanced OECD Test Guideline 407 の新規パラメーターとしての可能性について**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

* 化学品検査協会・安全性評価技術研究所

安原加壽雄, 三森国敏, 梶谷高敏, 小野寺博志, 高木久宜, 田村 啓, 広瀬雅雄: **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 2,6-dimethylaniline の発癌感受性**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

梶谷高敏, 三森国敏, 安原加壽雄, 豊沢かおる*, 小野寺博志, 高木久宜, 田村 啓, 広瀬雅雄: **DHPN を用いたラット二段階発癌モデルにおける 2,6-dimethylaniline (DMA) 誘発増殖性病変の免疫組織化学的・超微形態学的検討**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

* 大日本製薬(株)

古川文夫, 西川秋佳, 孫 和永, 宮内 慎, 中村英明, 千原 猛¹, 新保 寛¹, 別府秀彦¹, 葛谷博磁¹, 李 仁善², 広瀬雅雄: **キダチアロエのハムスター BOP 腫瘍イニシエーション期における抑制効果**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

¹保健衛生大学・生薬研

²韓国啓明大学

三森国敏: **発癌性検出のための短期代替試験の評価上の問題点: 短期発癌代替法の基本概念**

第16回日本毒性病理学会シンポジウム (2000.1)

西川秋佳: **発がん性検出のための短期代替試験の評価上の問題点・遺伝子改変動物 (レポーター遺伝子導入マウス)**

第16回日本毒性病理学会シンポジウム (2000.1)

豊田和弘, 渋谷 淳, 畝山智香子, 宮崎恵子, 仁保直子, 広瀬雅雄: **非遺伝子障害性発癌物質投与によるラット肝細胞での PCNA, p27kip1 及び Ref-1 の経時的変化**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

杉浦 諭*, 小川久美子*, 朝元誠人*, 今井田克巳*, 小木曾 正*, 広瀬雅雄, 白井智之*: **Phenethyl isothiocyanate (PEITC) によるラット膀胱病変の可逆性**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

* 名古屋市立大学

田村 啓, 三森国敏, 安原加壽雄, 小野寺博志, 高木久宜, 広瀬雅雄: **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 urethane 誘発肺増殖性病変に対する Cinnamaldehyde の修飾作用**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

宮内 慎, 西川秋佳, 古川文夫, 中村英明, 孫 和永, 森幸雄*, 広瀬雅雄: **MeIQx 誘発ラット肝発癌におけるタバコ煙負荷の増強効果**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

* 岐阜薬大

中西 巧^{1,2}, 陳 協², 小川久美子², 崔 林², 鈴木周五², 広瀬雅雄, 白井智之²: **PEITC のラット膀胱, 肝発がん促進に対する用量相関作用**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

*1 大雄会医科研

*2 名古屋市立大学

吉野裕子*1,*2, 小川久美子*2, 玉野静光*1, 佐野真士*1,*2, 河部真弓*1, 二口 充*1, 広瀬雅雄, 白井智之*2: **BITC および PEITC 関連化合物のラット泌尿器系諸臓器に対する影響**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

*1 大雄会医科研

*2 名古屋市立大学

中村英明, 西川秋佳, 今沢孝喜, 古川文夫, 宮内 慎, 池田尚子, 広瀬雅雄: **ラット 28 日間反復投与試験法 "Enhanced OECD test Guideline 407" 確立のための 17 α -methyltestosterone を用いた予備的検討**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

池崎信一郎*1, 西川秋佳, 古川文夫, 工藤佳代子*2, 笠原健一郎*2, 岡崎修三*2, 田村一利*2, 森 秀樹*1: **ラット MNNG 誘発腺胃発癌におけるクルクミンの影響**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

*1 岐阜大学

*2 ポゾリサーチセンター

今沢孝喜, 渋谷 淳, 赤木 巧*1, 三森国敏, 佐藤伸一*2, 西川秋佳, 広瀬雅雄, 安藤正典: **塩化カドミウムの長期微量投与ラットにおける近位尿管上皮細胞内でのカドミウムとメタロチオネインの分布様式の解析**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

*1 理化研・脳科学総合研究センター

*2 イナリサーチ (株)

Son, H-Y., Nishikawa, A., Ikeda, T.*, Imazawa, T., Nakamura, H., Miyauchi, M., Yamagishi, M., Kimura, S.*, Hirose, M.: **Effects of soy isoflavone on the thyroid of rats treated with iodine deficiency.**

第16回日本毒性病理学会 (2000.1)

* 昭和女子大学

三森国敏: **動物用医薬品の安全性評価**

日本産業動物獣医学会・日本獣医公衆衛生学会合同シンポジウム (2000.2)

Nishikawa, A., Ikeda, T.*, Nakamura, H., Miyauchi, M., Imazawa, T., Son, H-Y., Furukawa, F., Kimura, S.*, Hirose, M.: **Dramatic synergism of excess soybean intake with iodine deficiency on the development of rat thyroid proliferative lesions**

39th Annual Meeting of Society of Toxicology (2000.3)

* 昭和女子大学

Miyauchi, M., Nishikawa, A., Furukawa, F., Nakamura, H., Son, H-Y., Ikeda, T.*, Imazawa, T., Hirose, M.: **Effects of combined treatment with antioxidants and sodium nitrite on the rat forestomach**

39th Annual Meeting of Society of Toxicology (2000.3)

Furukawa, F., Nishikawa, A., Miyauchi, M., Nakamura, H., Son, H-Y., Hirose, M.: **A morphometrical analysis of effects of female sex hormones on hamster pancreatic islet**

39th Annual Meeting of Society of Toxicology (2000.3)

Yasuhara, K., Mitsumori, K., Takegawa, K.*, Koujitani, T., Onodera, H., Takagi, H. and Hirose, H.: **Promoting activity of xylazine on rat thyroid carcinogenesis and its mechanism of action**

39th Annual Meeting of Society of Toxicology (2000.3)

* 吉富製薬 (株)

Mitsumori, K., Wakana, S.*, Urano, K.*, Maruyama, C.*, Usui, T.*, Yasuhara, K., Koujitani, T., Hirose, M. and Tamaoki, K.*: **Point mutations of the transgene in forestomach and skin tumors of rasH2 transgenic mice induced by N-methyl-N-nitrosourea or N-ethyl-N-nitrosourea**

39th Annual Meeting of Society of Toxicology (2000.3)

* 実中研

本間正充: **内分泌攪乱化学物質がもたらす遺伝的不安定性**

日本環境変異原学会シンポジウム (1999.5)

Suzuki, T., Nakajima, M.*1, Hachiya, N.*2, Hara, T.*3, Wang, X. and Itoh, S.*4 (The Collaborative Study Group for the Transgenic Mouse Mutation Assay, Mammalian Mutagenesis Study Group of the Environmental Mutagen Society of Japan): **The Second Collaborative Study on the Transgenic Mouse Mutation Assay by the JEMS/MMS: A comparability of the *cII* gene with the *lacZ* gene in the MutaTM Mouse**

The 29th Annual Meeting of the European Environmental Mutagen Society (1999.7)

*1 食品農医薬品安全性評価センター

*2 秋田大学医学部

*3 食品薬品安全センター

*4 第一製薬 (株)

本間正充, 祖父尼俊雄, 林 真: **p53 欠損細胞における Breakage-Fusion-Bridge (BFB) サイクルによる染色体不安定化機構**

日本放射線影響学会第42回大会 (1999.9)

本間正充, 百瀬真希, 林 真, Yu Yongia*, John Little* : **p53 欠損による組換え修復異常と染色体不安定性**

日本癌学会第58回総会 (1999.9)

*Harvard School of Public Health

楠洋一郎*, 本間正充, 林奉権*, 京泉誠之*: **放射線による生体内 MHC クラス I アリル欠失突然変異細胞の発生とその NK 細胞による抑制**

日本癌学会第58回総会 (1999.9)

*放射線影響研究所

Hayashi, M.: **The interaction between toxicology and biostatistics: Experience in Japan**

International Biometrics Society, Group Korea (1999.10)

Honma, M.: **Requirement of wild-type p53 protein for recombinational DNA repair and genomic instability**

Radiation and Cancer: Etiology, Treatment & Prevention (1999.10)

Honma, M.: **Requirement of wild-type p53 protein for recombinational DNA repair and chromosomal instability**

ASM Conference on DNA Repair and Mutagenesis (1999.11)

林 真：環境変異原と染色体研究の関わり：小核試験－その優れた特徴
染色体学会第50回記念大会（1999.11）

鈴木孝昌, 小原有弘, 王 雪, 本間正充, 林 真：トランスジェニックマウスを用いる突然変異解析における *λcII* 遺伝子の有用性
日本環境変異原学会第28回大会（1999.12）

小原有弘, 鈴木孝昌, 平野紀子^{*1}, 大澤浩一^{*1}, 大和田智彦^{*2}, 本間正充, 林 真：*o*-Aminoazotolueneにより誘発される *cII* 突然変異のスペクトル
日本環境変異原学会第28回大会（1999.12）

^{*1}大正製薬(株)

^{*2}名古屋市立大学薬学部

鈴木孝昌：ポストゲノム時代の変異原研究－DNAチップ, SNP, HTSのインパクト－
日本環境変異原学会第28回大会 Mutag21（1999.12）

本間正充, 楠洋一郎*, 京泉誠之*, 大西寿*, 林 真：マウス主要組織適応抗原クラスI遺伝子をターゲットとした新しい *in vivo* 遺伝子突然変異検出系の開発
日本環境変異原学会第28回大会（1999.12）

*放射線影響研究所

西川貴史*, 晴佐久満*, 足立邦明*, 増田光輝*, 林真：*In vivo* 皮膚小核試験法の開発
日本環境変異原学会第28回大会（1999.12）

*ライオン

浜田修一^{*1}, 山崎賢一^{*2}, 中西聡^{*2}, 芦川忠夫^{*2}, 林真：ラット小核試験における系統差の検討
日本環境変異原学会第28回大会（1999.12）

^{*1}エスエス製薬

^{*2}京都大学医学部

高井明德^{*1}, 石川卓^{*2}, 上野紘一^{*2}, 中室克彦^{*3}, 奥野智史^{*3}, 上野仁^{*3}, 北野雅昭^{*4}, 祖父尼俊雄^{*5}, 林 真：魚類を用いる小核試験および Ames 試験による都市河川の汚染モニタリング
日本環境変異原学会第28回大会（1999.12）

^{*1}大阪信愛短大

^{*2}近畿大学

^{*3}摂南大学

^{*4}大阪市環科研

^{*5}オリンパス光学工業(株) 染色体研究センター

森本茂子*, A. Gordon*, 黒部利博*, 福西暢尚*, 本間正充, 加藤武司*, 花岡文雄*, 谷田貝文夫*：低線量線重粒子照射によるヒト細胞での適応応答
日本環境変異原学会第28回大会（1999.12）

*理化学研究所

田所聡, 本間正充, 松岡厚子, 坂本浩子, 佐藤三佐子*, 杉本正信*, 古市泰宏*, 林 真：ウェルナー症患者由来 B リンパ球細胞株の小核誘発性と染色体不安定性
日本環境変異原学会第28回大会（1999.12）

*エイジーン研究所

坂本浩子, 本間正充, 田辺秀之, 今村宰*, 藤田久美子*,

松本武久*, 古市泰宏*, 林 真：ウェルナー型 (WRN) またはブルーム型 (BLM) RecQ ヘリカーゼ欠損トリ DT40 細胞の染色体不安定性

日本環境変異原学会第28回大会（1999.12）

*エイジーン研究所

松岡厚子, 坂本浩子, 田所 聡, 多田敦子^{*1}, 若林敬二^{*1}, 寺尾良保^{*2}, 榎谷東雄^{*2}, 林 真：*In vitro* 小核試験を用いる染色体数的異常誘発物質の検索

日本環境変異原学会第28回大会（1999.12）

^{*1}国立がんセンター

^{*2}静岡県立大学

今村 宰^{*1}, 松本武久^{*1}, 藤田久美子^{*1}, 島本 顕^{*1}, 田辺秀之, 本間正充, 林 真, 武田俊一^{*2}, 古市泰宏^{*1}：*DT40* 細胞株を用いたジーンターゲティングによる Bloom ヘリカーゼおよび Werner ヘリカーゼの機能解析
第22回日本分子生物学会年会（1999.12）

^{*1}エイジーン研究所

^{*2}京都大学医学部

Honma, M., Tanabe, H., Yongia, Y. *, Little, J. *, Sofuni, T. and Hayashi, M.: Requirement of wild-type p53 protein for maintenance of chromosomal integrity.
DNA Repair Defect (2000.1)

* Harvard Scholl of Public Health

本間正充：多段階発がん過程における組換え修復異常と染色体不安定性
放射線影響学会シンポジウム（2000.1）

小原有弘, 鈴木孝昌, 西川秋佳, 古川文夫, 広瀬雅雄, 大和田智彦, 本間正充, 林 真：*p53* ノックアウトマウスを用いた MeIQx の変異原性解析
日本薬学会第120年会（2000.3）

Honma, M., Tanabe, H., Yongia, Y. *, Little, J. *, Sofuni, T. and Hayashi, M.: Requirement of wild-type p53 protein for maintenance of chromosomal integrity.
Environmental Mutagen Society 31st Annual Meeting (2000.4)

*Harvard Scholl of Public Health

Suzuki, T., Kohara, A., Wang, X., Honma, M. and Hayashi, M.: *λcII* gene is useful for sequence analysis in the transgenic mouse mutation assay.
Environmental Mutagen Society 31st Annual Meeting (2000.4)

能美健彦：個体を用いた放射線誘発突然変異の検出
第9回放射線生物学ワークショップ（1999.6）

金秀良, Jérôme Wagner*, Petr Gruz, 山田雅巳, 松井恵子, Robert P.P. Fuchs*, 能美健彦：大腸菌 DNA polymerase IV をコードする *dinB* 遺伝子の解析
日本遺伝学会第71回大会

* CNRS, France

Wagner, J. *, Napolitano, R.L. *, Janel-Bintz, R. *, Becherel, O.J. *, Nohmi, T. and Fuchs, R.P.P. *: Polymerases in spontaneous and induced mutagenesis
ASM conference on DNA repair and mutagenesis (1999.11)

* CNRS, France

Kim, S.R., Matsui, K., Yamada, M., Gruz, P. and Nohmi, T.: **Roles of the *dinB* genes in chromosome and episome in the spontaneous frameshift mutations in *Escherichia coli***
ASM conference on DNA repair and mutagenesis (1999.11)

Wagner, J.* and Nohmi, T.: **Genetic requirements and specificity of mutations of untargeted mutagenesis of lambda phage enhanced by DNA polymerase IV (*dinB*) of *Escherichia coli***
ASM conference on DNA repair and mutagenesis (1999.11)
* CNRS, France

Wagner, J.*, Gruz, P., Kim S.R., Yamada, M., Matsui, K., Fuchs, R.P.P. * and Nohmi, T.: **The *dinB* gene encodes a novel *E. coli* DNA polymerase (DNA Pol IV) involved in mutagenesis**
ASM conference on DNA repair and mutagenesis (1999.11)
* CNRS, France

山田雅巳, Jérôme Wagner *, Petr Gruz, 金秀良, 松井恵子, Robert P. P. Fuchs *, 能美健彦: **Biochemical evidence for DinB as DNA Pol IV in *Escherichia coli***
2nd 3 R symposium (1999.11)
* CNRS, France

金秀良, 松井恵子, 山田雅巳, Petr Gruz, 能美健彦: **Roles of the *dinB* (Pol IV) genes in chromosome and episome in the spontaneous frameshift mutations in *Escherichia coli***
2nd 3 R symposium (1999.11)

鈴木 任, 能美健彦: **Growth phase-dependent expression of *mutM*, *T*, *Y* in *Escherichia coli*: the transcriptional cooperation of *mutM*, *T*, *Y* during phase-transition from rest to growth**
2nd 3 R symposium (1999.11)

増村健一, 堀口美恵子*¹, 国谷健介*², 古川文夫, 西川秋佳, 能美健彦: **トランスジェニックマウス *gpt delta* を用いた MeIQx により誘発される突然変異の解析**
日本環境変異原学会第28回大会 (1999.12)
¹東京農業大学
²昭和薬科大学

堀口美恵子*¹, 増村健一, 池畑広伸*², 小野哲也*², 管家祐輔*¹, 能美健彦: **トランスジェニックマウス *gptΔ* を用いた突然変異の *in vivo* 解析: 紫外線誘発の欠失変異**
日本環境変異原学会第28回大会 (1999.12)
¹東京農業大学
²東北大学医学部

竹入 章*, 田中健司*, 塩入明文*, 上田乙也*, 鈴木宏志*, 三島雅之*, 井上 誠*, 能美健彦: **トランスジェニックマウス *gptΔ* の骨髄における benzo[a]pyrene, mitomycin C および adriamycin による遺伝子突然変異の誘発**
日本環境変異原学会第28回大会 (1999.12)
* 中外製薬

能美健彦: **トランスジェニックマウスを用いた点突然変異と欠失突然変異の検出**
日本環境変異原学会第28回大会 (1999.12)

山田典代*, 松井恵子, 金秀良, 福岡正道*, 能美健彦: **8-ヒドロキシグアニン修復酵素欠損 Ames 試験菌株を用いた**

酸化型突然変異の効率的検出
日本環境変異原学会第28回大会 (1999.12)
* 昭和薬科大学

山田雅巳, Petr Gruz, 金秀良, Jérôme Wagner*, Robert P.P. Fuchs*, 能美健彦: **突然変異の生成と抑制に働く新しい DNA ポリメラーゼ・ファミリーの発見**
日本環境変異原学会第28回大会 (1999.12)
* CNRS, France

増村健一, 池田日出男*, 能美健彦: **マウス個体に誘発される非相同組換えの検出と解析**
第22回日本分子生物学会年会 (1999.12)
* 北里大学

金秀良, 松井恵子, 山田雅巳, Petr Gruz, 能美健彦: **大腸菌 *dinB* 遺伝子欠損株の作製とその解析**
第22回日本分子生物学会年会 (1999.12)

Petr Gruz, Jérôme Wagner*, 山田雅巳, 能美健彦: **Purification of native DNA polymerase IV from *E. coli* and functional comparison to its His Tagged derivative.**
第22回日本分子生物学会年会 (1999.12)
* CNRS, France

Jérôme Wagner*, Petr Gruz, 金秀良, 山田雅巳, 松井恵子, Robert P. P. Fuchs*, 能美健彦: **突然変異誘発に関与する大腸菌 *dinB* 遺伝子は新しい DNA ポリメラーゼ (DNA pol IV) をコードしている.**
第22回日本分子生物学会年会 (1999.12)
* CNRS, France

能美健彦: **大腸菌 DNA ポリメラーゼ IV (*dinB*) の突然変異誘発における役割**
平成11年度特定領域研究「DNA修復欠損・細胞複製装置」合同公開シンポジウム (2000.1)

Nohmi, T.: **Transgenic mouse *gpt delta*: development, recent progress and future directions**
The 31st annual meeting of the Environmental Mutagen Society (2000.4)

能美健彦: **環境変異原の検出と評価に用いるトランスジェニックマウスの開発**
第2回 環境遺伝子工学実験棟シンポジウム (2000.5)

増井 徹: **eti-1 (epithelial topoinhibition inducible) 遺伝子について**
第四回上皮細胞研究会 (1999.4)

田辺秀之, 高田容子, 峯岸大輔, Hans G. Drexler*¹, 工藤俊雄*², 祖父尼俊雄*³, 水沢 博: **STR 領域を用いた細胞株の個別識別と染色体分析: 3細胞株 ECV304, EJ-1, T24 のクロスカルチャーコンタミネーションについて**

日本組織培養学会第72回大会 (1999.5)
¹DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen), Germany
²東北大学加齢医学研究所
³オリンパス光学工業(株) 染色体研究センター

増井 徹, 高田容子, 樽松美治, 田辺秀之, 祖父尼俊雄, 水沢 博: **RCC1** リピートをもつ増殖停止関連遺伝子 **eti-1** の野生型 **p53** 依存性アポトーシス誘導活性
第72回日本組織培養学会大会 (1999.5)

増井 徹, 高田容子, 樽松美治, 田辺秀之, 岩下新太郎*, 祖父尼俊雄*, 水沢 博: 増殖停止関連遺伝子 **eti-1** のコロン形成阻害活性における正常 **p53** の役割
日本組織培養学会第72回大会 (1999.5)

*1 三菱化学生命科学研究所

*2 オリパス光学工業(株) 染色体研究センター

増井 徹: メカニカルストレスの一般培養系での意味
第72回日本組織培養学会大会シンポジウム (1999.5)

Masui, T., Takada, Y., Okado, K., Sofuni, T., Mizusawa, H.: **Epithelial Topoinhibition Inducible-1 (eti-1) gene isolated from normal human epithelium at growth arrest induced apoptosis.**

Congress on In Vitro Biology (1999.6)

増井 徹: 正常上皮組織の増殖調節と増殖因子の役割
第70回日本動物学会大会ワークショップ (1999.9)

増井 徹, 高田容子, 田辺秀之, 祖父尼俊雄, 水沢 博: **RCC1** リピートをもつ増殖停止関連遺伝子 **eti-1** の野生型 **p53** 依存性アポトーシス誘導活性
第58回日本癌学会総会 (1999.9)

増井 徹: 非医療分野でのヒト組織細胞の取り扱い
第7回組織移植医療研究会 (1999.11)

増井 徹: ヒト組織・細胞を取り扱う枠組みについてファーマコジェネチクスを例に考える -シンポジウム計画にあたって
第13回日本動物実験代替法学会大会シンポジウム (1999.11)

増井 徹: 細胞の増殖停止機構について
昭和大学薬学部 (1999.11)

増井 徹: 非医療分野におけるヒト組織・細胞の取り扱い
日本組織培養学会秋期シンポジウム (1999.11)

岡田敏史: 不純物プロファイルによる品質管理
日本薬学会第120年会 (岐阜, 2000.3)

工藤憲一*, 岩谷敬仁*, 四方田千佳子, 齊藤宗男*, Morris S.*: **Highly selective detection and optical determination of alkaloid in scopolia extract by HPLC with a CD (Circular dichroism) detector**

International Symposium on Chiral Discrimination (1999.7)

* 日本分光(株) 第二技術部

四方田千佳子, 田頭洋子, 岡田敏史: 医薬品分析における技能試験について一薬剤師会試験センター等52機関における実施結果一
第36回全国衛生化学技術協議会年会 (1999.11)

四方田千佳子: 医薬品分析における技能試験
日本薬剤師会技術講習会 (1999.12)

杉江修一*, 水上清太郎*, 片岡捷夫*, 米勢政勝*, 四方田千佳子: **Novel Submicron Complex of Acidic Mucopolysaccharide-Cationic Drug**
The 5th US-Japan Symposium on Drug Delivery Systems (1999.12)

*1 第一製薬(株) 製材技術研究所

*2 名古屋市立大学薬学部

四方田千佳子, 岡田敏史: ヒアルロン酸ゲルと医薬品の相互作用
第11回高分子ゲル討論会 (2000.1)

Miyazaki, T., Yomota, C. and Okada, S.: **Ultrasonic depolymerization of hyaluronate**
219th ACS National Meeting (2000.3)

Yomota, C. and Okada, S.: **Various interactions of drugs with the crosslinked hyaluronate gel**
219th ACS National Meeting (2000.3)

Maekawa, K., Tanimoto, T., Okada, S., Suzuki, T.*1, Suzuki, T.*1 and Yabe-Nishimura, C.*2: **Effects of Hyperglycemic and Hyperosmotic Conditions on Aldose Reductase mRNA Expression in Cultured Rat Schwann Cells**
2000 US-Japan Aldose Reductase Workshop (2000.1)

*1 三和化学研究所

*2 京都府立医科大学

Koide, T., Fuchino, H., Sekita, S., Satake, M.: **The effects of natural compounds based on ethnobotanical medicine against protozoa in vitro.**
13th International Congress of Traditional Medicine (1999.10)

測野裕之, 高橋真理衣, 小出達夫, 関田節子, 佐竹元吉: 南米産薬用植物の成分研究 ベルー産 *Lingua de vaca* の成分について
日本生薬学会第46回年会 (1999.9)

測野裕之, 高橋真理衣, 小出達夫, 関田節子, 佐竹元吉: 南米産薬用植物の成分研究 ブラジル産 *Lingua de vaca* の抗リーシュマニア活性成分
日本薬学会第120年会 (2000.3)

高橋真理衣, 測野裕之, 小出達夫, 関田節子, 佐竹元吉: 南米産薬用植物の成分研究 セスキテルペン誘導体の抗リーシュマニア活性について
日本薬学会第120年会 (2000.3)

斎藤博幸, 谷本 剛, 岡田敏史, 有本 達*, 佐々木哲也*, 半田哲郎*: スフィンゴミエリンによるリポпротеインリパーゼの反応制御機構
第41回日本脂質生化学研究会研究集会 (1999.6)

* 京都大学大学院薬学研究科

斎藤博幸, 奥平桂一郎*, Aline Vertut-Doi*, 松本智津子*, 谷本 剛, 岡田敏史, 半田哲郎*: アポリポ蛋白質Eに依存した脂質粒子の肝臓取り込み: コレステリルエステルによる阻害機構
第15回日本DDS学会 (1999.7)

* 京都大学大学院薬学研究科

櫻井文教^{*1}, 斎藤博幸, 馬場照彦^{*2}, 奥田 歩^{*1}, 松本治^{*1}, 多賀 徹^{*1}, 山下富義^{*1}, 高倉喜信^{*1}, 橋田 充^{*1}: コレステロール含有カチオン性リポソームを用いた *in vivo* 遺伝子導入における遺伝子発現上昇メカニズムの解明
第15回日本DDS学会 (1999.7)

^{*1} 京都大学大学院薬学研究所

^{*2} 物質工学工業技術研究所

斎藤博幸: 生体エマルション“血漿リポ蛋白質”の構造とその生理的機能

第52回コロイドおよび界面化学討論会 (1999.10)

田中将史^{*}, 斎藤博幸, 谷本 剛, 岡田敏史, 中野 実^{*}, 半田哲郎^{*}: 脂質エマルションの表面膜—コア脂質相互作用とアポリポ蛋白質 A-I の結合性

第52回コロイドおよび界面化学討論会 (1999.10)

^{*} 京都大学大学院薬学研究所

奥平桂一郎^{*}, 田中将史^{*}, 半田哲郎^{*}, 斎藤博幸: アポリポ蛋白質 A-I、E の脂質粒子への結合に対するコア中性脂質の効果

第21回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム (1999.11)

^{*} 京都大学大学院薬学研究所

奥平桂一郎^{*}, 土本奈乃子^{*}, Aline Vertut-Doi^{*}, 松本智津子^{*}, 斎藤博幸, 半田哲郎^{*}: 脂質粒子膜表面へのアポリポ蛋白質の結合性とその細胞取り込みに及ぼす影響
膜シンポジウム '99 (1999.11)

^{*} 京都大学大学院薬学研究所

Saito, H., Tanaka, M.^{*1}, Okamura E.^{*2}, Tanimoto, T., Okada, S., Nakahara M.^{*2} and Handa, T.^{*1}: **Lipid-Apolipoprotein A-I Interactions in Bilayers and Emulsion Monolayers**
Interactions of Biopolymers with Model Membranes (2000.3)

^{*1} Graduate School of Pharmaceutical Science,

Kyoto University

^{*2} Institute for Chemical Research, Kyoto University

土本奈乃子^{*}, 奥平桂一郎^{*}, Aline Vertut-Doi^{*}, 中野実^{*}, 斎藤博幸, 半田哲郎^{*}: エマルション粒子の HepG2 細胞取り込みに及ぼす表面脂質組成の影響

日本薬学会第120年会 (2000.3)

^{*} 京都大学大学院薬学研究所

佐々木哲也^{*}, 有本 達^{*}, 中野 実^{*}, 斎藤博幸, 半田哲郎^{*}: リポ蛋白質リパーゼ反応 (リポリシス) におけるスフィンゴミエリンの影響

日本薬学会第120年会 (2000.3)

^{*} 京都大学大学院薬学研究所

Tsuji, S., Amakura, Y., Okada, M., and Tonogai, Y.: **Investigation of Organic Impurities in Sunset Yellow FCF Using HPLC with Reversed-Phase Amide Column**
113th International Annual Meeting (1999.9)

天倉吉章, 岡田 舞, 辻 澄子, 外海泰秀: 果実中に含まれる天然抗酸化成分エラグ酸の分析

日本食品衛生学会第78回学術講演会 (1999.10)

辻 澄子, 天倉吉章, 岡田 舞, 外海泰秀: 5種アゾ系タール色素中の未反応原料, 反応中間体及び副成色素のスク

リーニング法の検討

日本食品衛生学会第78回学術講演会 (1999.10)

吉井公彦, 開原亜樹子, 津村ゆかり, 石光進, 外海泰秀: 農作物中エマメクチン安息香酸塩及び4種代謝物分析法の改良

日本食品衛生学会第78回学術講演会 (1999.10)

石光 進, 津村ゆかり, 外海泰秀, 斎藤 勲^{*1}, 酒井洋^{*2}, 小林ゆかり^{*2}: 食品中フタル酸エステル類の試験法及び分析値の機関間変動

日本食品衛生学会第78回学術講演会 (1999.10)

^{*1} 愛知県衛生研究所

^{*2} 新潟県保健環境科学研究所

中村優美子, 辻 澄子, 外海泰秀: 大豆及びその加工食品中のイソフラボノイド含量及びこれら的大豆由来食品より算出した日本人のイソフラボノイド1日摂取量について

第49回日本薬学会近畿支部総会・大会 (1999.10)

辻 澄子, 岡田 舞, 天倉吉章, 外海泰秀: 食用黄色5号 (サンセットイエローFCF) 中の不適事例について

第36回全国衛生化学技術協議会年会 (1999.11)

吉井公彦, 開原亜樹子, 津村ゆかり, 石光 進, 外海泰秀: マクロサイクリックラクトン系農薬 (ミルベメクチン、エマメクチン安息香酸塩等) の一斉分析法

第36回全国衛生化学技術協議会年会 (1999.11)

Amakura, Y., Okada, M., Tsuji, S. and Tonogai, Y.: **Determination of ellagic acid, a naturally occurring antioxidant, in fresh and processed fruits by HPLC-photodiode array detection**

Sixth International Symposium on Hyphenated Techniques in Chromatography and Hyphenated Chromatography Analyzer (2000.2)

Yoshii, K., Kaihara, A., Tsumura, Y., Ishimitsu, S. and Tonogai, Y.: **Liquid chromatographic determination of emamectin, milbemectin, ivermectin and abamectin in crops and confirmation by LC/MS**

Sixth International Symposium on Hyphenated Techniques in Chromatography and Hyphenated Chromatography Analyzer (2000.2)

Yoshii, K., Tsumura, Y., Nakamura, Y., Ishimitsu, S. and Tonogai Y.: **Simple and Rapid Determination of Bentazone, Inabenfide and Flusulfamide in Crops by HPLC and Confirmation by LC/MS**

XII California Pesticide Residue Workshop (2000.3)

Ishimitsu, S., Yoshii, K., Kaihara, A., Tsumura, Y., Nakamura, Y. and Tonogai Y.: **Simultaneous Determination of Clothodim and Its Oxidation Metabolites by HPLC**

XII California Pesticide Residue Workshop (2000.3)

岡野有見子^{*}, 赤澤麻衣子^{*}, 藤本貞毅^{*}, 石光 進, 外海泰秀: 食用色素のタンパク質に対する光増感作用に関する検討

日本薬学会第120年会 (2000.3)

^{*} 京都薬科大学

辻 澄子, 岡田 舞, 天倉吉章, 外海泰秀, 西 正敏*, 中西 勤*: 食用青色1号アルミニウムレーキから検出された付随色素について

日本食品衛生学会第79回学術講演会 (2000.5)

* 摂南大学薬学部

天倉吉章, 岡田 舞, 辻 澄子, 外海泰秀: HPLCによる天然果汁中5種フェノール酸の分析

日本食品衛生学会第79回学術講演会 (2000.5)

石光 進, 開原亜樹子, 吉井公彦, 津村ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀: 農産物中クレトジム及びその酸化代謝物のHPLCによる分析

日本食品衛生学会第79回学術講演会 (2000.5)

津村ゆかり, 石光 進, 開原亜樹子, 外海泰秀, 酒井洋*¹, 小林ゆかり*¹, 斎藤 勲*²: 日本人の日常的な食事に含まれるフタル酸エステル類濃度

日本食品衛生学会第79回学術講演会 (2000.5)

*¹新潟県保健環境科学研究所

*²愛知県衛生研究所

開原亜樹子, 吉井公彦, 津村ゆかり, 中村優美子, 石光進, 外海泰秀: SFE及びHPLCを用いた青果物中の27種農薬の迅速一斉分析法

日本食品衛生学会第79回学術講演会 (2000.5)

宮脇英美子, 前田秀子, 原園 景, 江馬 眞, 川島邦夫: CASA-Systemを用いたNitrobenzene関連化合物の精子試験 I. Nitrobenzene

第4回 Testes Workshop 精子形成・精巣毒性研究会 (1999.7)

前田秀子, 宮脇英美子, 原園 景, 江馬 眞, 川島邦夫: CASA-Systemを用いたNitrobenzene関連化合物の精子試験 II. 1, 4-dichloro-2-nitrobenzene

第4回 Testes Workshop 精子形成・精巣毒性研究会 (1999.7)

原園 景, 前田秀子, 宮脇英美子, 江馬 眞, 川島邦夫: CASA-Systemを用いたNitrobenzene関連化合物の精子試験 III. Nitrobenzene及び1, 4-dichloro-2-nitrobenzeneの相対効力検定

第4回 Testes Workshop 精子形成・精巣毒性研究会 (1999.7)

江馬 眞, 宮脇英美子, 川島邦夫: 可塑剤 dibutyl phthalateの妊娠及び偽妊娠ラットにおける生殖障害

第39回日本先天異常学会 (1999.7)

江馬 眞, 宮脇英美子, 川島邦夫: Triphenyltin chlorideのラットにおける発生毒性

第39回日本先天異常学会 (1999.7)

江馬 眞: 有機スズ化合物のラット生殖発生毒性

第39回日本先天異常学会シンポジウム (1999.7)

江馬 眞, 宮脇英美子, 川島邦夫: 妊娠初期に投与したdiphenyltin dichlorideによる胚致死作用

第26回日本トキシコロジー学会 (1999.7)

原園 景, 江馬 眞, 川島邦夫: トリブチルスズによるラットにおける着床阻害作用

第64回関西実験動物研究会 (1999.11)

Emma, M., Harazono, A. and Kawashima, K.: Early embryonic loss induced by dibutyltin dichloride (DBTCl) in rats. Society of Toxicology, 39th Annual Meeting (2000.3)

靄島由二, 村井敏美, 中川ゆかり, 平田陸正*, 矢上健, 中村晃忠: 天然医用材料の安全性評価に関する研究

第21回バイオマテリアル学会 (1999.11)

* 岩手医科大学

村井敏美, 中川ゆかり, 前田秀子, 川島邦夫, 高岡文*: ヒト単球系株化細胞を用いたin vitro発熱性物質試験法の開発

日本薬学会第120年会 (2000.3)

* 和光純薬工業(株) 大阪研究所

靄島由二, 村井敏美, 中川ゆかり, 平田陸正*, 矢上健, 中村晃忠: 医療用ラテックス製品に含まれる発熱性物質の同定

日本薬学会第120年会 (2000.3)

* 岩手医科大学

中川ゆかり, 前田秀子, 高岡文*, 村井敏美: 培養細胞を用いたインビトロ発熱性物質試験法の開発-ヒト単球系細胞株のサイトカイン産生を指標とする試験系について-

日本防菌防黴学会第27回年次大会 (2000.5)

* 和光純薬工業(株) 大阪研究所

柴田敏郎: ボウフウの栽培について

第9回薬用植物栽培技術フォーラム (1999.7)

南 基泰, 柴田敏郎, 佐竹元吉, 近藤誠三*¹, 岡 賢治*¹, 番 保徳*², 萱野暁明*²: 茵陳蒿の生産について (5) 石川県手取川河口で認められたカワラヨモギ (*Artemisia capillaris*) のほふく型及び直立型の中間雑種について

日本生薬学会46回年会 (1999.9)

*¹小太郎漢方製薬(株)

*²農林水産省生物資源研究所

芝野真喜雄*¹, 川瀬さおり*¹, 村上理恵*¹, 喜多俊二*¹, 草野源次郎*¹, 柴田敏郎, 畠山好雄, 縣 功*²: ウラルカンゾウ (*Glycyrrhiza uralensis*) の栽培のための基礎研究. 2

日本生薬学会46回年会 (1999.9)

*¹大阪薬科大学

*²北海道医療大学

草野源次郎*¹, 芝野真喜雄*¹, 渡辺 育*², 尾崎和男*², 喜多俊二*¹, 柴田敏郎, 畠山好雄, 飯島 泉*³: 甘草屋敷のウラルカンゾウ (*Glycyrrhiza uralensis*) の復活

日本生薬学会46回年会 (1999.9)

*¹大阪薬科大学

*²武田薬品工業

*³塩山市教育委員会

松岡秀明*, 佐藤文彦*, 下村講一郎, 矢崎一史*: GFP-fusionを用いたムラサキの暗黒下発現タンパクLEDI-2の細胞内局在性の解析

第17回日本植物細胞分子生物学会大会・シンポジウム, 札幌 (1999.7)

* 京都大学

東野 薫^{*1}, 原田久也^{*1}, 吉松嘉代, 矢崎一史^{*2}, 下村講一郎: 培養ムラサキシユートにおけるシコニン誘導体およびフェノール性化合物

第17回日本植物細胞分子生物学会大会・シンポジウム, 札幌 (1999.7)

^{*1}千葉大学

^{*2}京都大学

東野 薫^{*1}, 原田久也^{*1}, 吉松嘉代, 畠山好雄, 下村講一郎, 矢崎一史^{*2}: 培養ムラサキシユートにおけるシコニン誘導体およびフェノール性化合物 -メチルジャスモン酸の影響-

日本生薬学会第46回年会, 大阪 (1999.9)

^{*1}千葉大学

^{*2}京都大学

南 基泰, 畠山好雄, 下村講一郎, 東 克己*, 鎌田博*: 培養薬用植物体を用いた遺伝子発現に関する研究 (1) タンジン (*Salvia miltiorrhiza*) の順化過程に発現する遺伝子

日本生薬学会第46回年会, 大阪 (1999.9.18)

*筑波大学

八木 晟*, 佐藤由美子*, 三谷春美*, 福永将仁*, 下村講一郎: 茎頂培養アロエベラとアロエ種系統比較

日本生薬学会第46回年会, 大阪 (1999.9.18)

*福山大学

中根孝久, 吉松嘉代, 下村講一郎, 関田節子, 佐竹元吉: けしがら濃縮物 (CPS) のモルヒネ含有量について

日本薬学会第120年会, 岐阜 (2000.3.29)

Da-Woon Jung^{*1}, Kaori Touno^{*2}, Yoshio Hatakeyama, Kayo Yoshimatsu and Koichiro Shimomura: Cryopreservation of *Hyoscyamus niger* adventitious roots

日本薬学会第120年会, 岐阜 (2000.3.29)

^{*1}Chonnam National University

^{*2}千葉大学

東野 薫^{*1}, 原田久也^{*1}, 吉松嘉代, 畠山好雄, 矢崎一史^{*2}, 下村講一郎: 培養ムラサキシユートにおけるシコニン誘導体形成-シコニン誘導体含量に対する培養容器の影響-

日本薬学会第120年会, 岐阜 (2000.3.29)

^{*1}千葉大学

^{*2}京都大学

佐藤由美子*, 三谷春美*, 福長将人*, 八木 晟*, 下村講一郎: アロエベラおよびアロエ種系統比較

日本薬学会第120年会, 岐阜 (2000.3.29)

*福山大学

南 基泰*, 藤原弘幸*, 緒方達志*, 高原利雄*, 下村講一郎: カンキツ果実中で発現している遺伝子の解析

日本薬学会第120年会, 岐阜 (2000.3.29)

*果樹試験場

浅田善久^{*1}, 李 巍^{*1}, 寺田智宏^{*1}, 吉川孝文^{*1}, 佐々木和生^{*2}, 林 達男^{*3}, 下村講一郎: Forskolin の生合成

日本薬学会第120年会, 岐阜 (2000.3.29)

^{*1}北里大学

^{*2}青森大学

^{*3}(株)ライオン

吉田尚利^{*1}, 高上馬希重, 山田和也, 栗原孝吾, 飯田 修, 熊谷健夫, 畠山好雄, 神田博史^{*2}, 李 宜融, 関田節子, 佐竹元吉: トウキの基原植物の研究 (3)

日本生薬学会第46回年会 (1999.9)

^{*1}北海道大学薬学部

^{*2}広島大学医学部

高上馬希重, 山田和也, 栗原孝吾, 飯田 修, 熊谷健夫, 畠山好雄, 吉田尚利^{*1}, 神田博史^{*2}, 李 宜融, 関田節子, 佐竹元吉: トウキの基原植物の研究 (4)

日本生薬学会第46回年会 (1999.9)

^{*1}北海道大学薬学部

^{*2}広島大学医学部

高橋 勉^{*1}, 豊里友良^{*1}, 有本恵子^{*2}, 永井吉澄^{*2}, 香月茂樹, 高上馬希重, 飯田 修, 佐竹元吉, 新城光雄^{*3}, 神田博史^{*4}: 沖縄で栽培された *Cinnamomum cassia* の品質

日本生薬学会第46回年会 (1999.9)

^{*1}(株)仲善

^{*2}三國(株)

^{*3}沖縄県福祉保健部

^{*4}広島大学医学部

飯田 修, 山田和也, 栗原孝吾, 高上馬希重, 渡辺多加子*, 遠山美知子*: センナの国内栽培について I. チンネベリーセンナにおける1年生植物の生長と成分

日本生薬学会第46回年会 (1999.9)

*国民生活センター

高上馬希重, 李 宜融, 関田節子, 佐竹元吉, 牧野由紀子*: 大麻 *Cannabis sativa* L. の DNA 解析

日本 DNA 多型学会第8回学術集会 (1999.12)

*関東信越地区麻薬取締官事務所

高上馬希重, 山田和也, 栗原孝吾, 関田節子, 佐竹元吉, 津村義彦*, 飯田 修: 薬用・香料植物シナモンの葉緑体 DNA 塩基配列に基づく種間変異

日本育種学会第97回講演会 (2000.4)

*森林総合研究所

横倉胤夫*, 有本恵子*, 岩田善子*, 黄 啓榮*, 酒井英二, 嶋田康男*, 高井善孝*, 高木 昭*, 谷山登志男*, 中島健一*, 東 昭夫*, 久田陽一*, 俣野 豊*, 守安正恭*, 山本 豊*: 生薬品質集談会報告第30報 トウガラシについて【辛味成分カプサイシンの測定を中心に検討】

第28回生薬分析シンポジウム (1999.12)

*生薬品質集談会

酒井英二, 有本恵子*, 岩田善子*, 黄 啓榮*, 嶋田康男*, 高井善孝*, 高木 昭*, 谷山登志男*, 中島健一*, 東昭夫*, 久田陽一*, 俣野 豊*, 守安正恭*, 山本 豊*, 横倉胤夫*: 栽培したトウガラシ数品種の capsaicin 含量と形状

日本薬学会第120年会 (2000.3)

*生薬品質集談会

香月茂樹: 今、話題のウコンとその仲間
薬用植物シンポジウム・広島 (1999.5)

香月茂樹：インドジャボクの栽培に関する研究
第9回薬用植物栽培技術フォーラム(1999.7)

香月茂樹：日本で育つ南国地方のハーブ種子島の薬用植物—
第2回薬用植物シンポジウム・相模原(1999.10)

香月茂樹，嶋田康男^{*1}，神田博史^{*2}：種子島栽培ビャクダン中のサンタロールの分布について
日本薬学会第120年会(2000.3)

^{*1}三星製薬(株)

^{*2}広島大学医学部

森永 紀^{*1}，田中宏幸^{*1}，正山征洋^{*1}，香月茂樹，Sorasak Lhicochaiphant^{*2}，吉田尚利^{*3}：抗senoside Aモノクローナル抗体を用いたELISA,Western Bottlingの確立とその応用
日本薬学会第120年会(2000.3)

^{*1}九州大学薬学部

^{*2}チェンマイ大学薬学部

^{*3}北海道大学薬学部

会議名：ICH5準備会議

出席者：薬品部 小嶋茂雄，青柳伸男，吉岡澄江 (①，②のいずれにも参加)

鹿庭なほ子，香取典子，伊豆津健一 (②に参加)

開催場所，時期：①ワシントン (米国)，1999年10月4日～7日

②東京 (日本)，2000年2月28日～3月2日

参加者内訳，人数：日米欧3極の医薬品規制当局および製薬団体関係者多数

会議の内容：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) の策定 (①；小嶋，青柳が参加)，Q6Aに絡む薬局方試験法の調和 (②；小嶋，青柳，鹿庭，香取，伊豆津が参加)，原薬および製剤の不純物ガイドライン (Q3A/B) の改訂 (①；小嶋が参加)，および安定性試験ガイドライン (Q1A) の改訂 (①，②；吉岡が参加)

1. 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) の策定

Q6A本体については，平成11年10月のワシントンでの会議においてステップ4のサインオフが行われた。この会議では，Q6Aが最終合意に達した後に，薬局方試験法の調和作業をICHの場でどのように進めるかを中心に議論が行われた。その結果，Q6Aが最終合意に達した後も，これまでのQ6Aの専門家会議のメンバーと薬局方が一緒に作業をするExtra Working Groupをつくって，Task Forceを設けた5つの試験法 (含量均一性試験法，重量偏差試験法，溶出試験法，崩壊試験法および微生物限度試験法) の判定基準の調和を進めることになった。このように，薬局方試験法のうちで，最も問題のある5つの試験法の判定基準の調和作業が継続される見通しが立ち，それに基づいて，Q6A中の薬局方に関する記載がまとまったことから，作成されたステップ4文書に対して三極の行政当局によるサインオフがなされた。

2. Q6Aに絡む薬局方試験法の調和

平成12年3月の東京での会議では，Q6Aの専門家会議と薬局方側が協力して薬局方試験法の調和作業に当たる方針を示したconcept paperが作成され，ICH運営委員会です承された。また，この会議では，調和が特に困難と考えられていた含量均一性試験法，重量偏差試験法，溶出試験法ならびに崩壊試験法の4つの重要な製剤試験法の判定基準が合意に達するという非常に大きな成果が得られた。含量均一性試験法と重量偏差試験法については，日局13の判定法を基に，米国製薬協 (PhRMA) の提案を受入れて許容値を若干修正した調和案が作成されて，合意に達した。また，溶出試験法の判定基準の違いについては，USPのQ値を用いた判定法を受入れる形で解決した。USP，EPと日局との間で違いがあった溶出試験法のバスケットのメッシュサイズおよび崩壊試験法のピーカーサイズについては，両者のサイズを試験法に併記することで合意が得られた。

なお，ICHの場で検討することとされた5つ試験法のうちで，まだ判定基準の調和が達成されていない微生物限度試験法については，平成12年7月のブリュッセルでの会議において，米国Task Forceの提案を基に，集中的に議論が行われる予定である。

3. 原薬および製剤の不純物ガイドライン (Q3A/B) の改訂

各局での実施の中で明らかになってきた矛盾点を解決するために，不純物ガイドライン (Q3A/B) の改訂が取り上げられ，平成11年3月のブリュッセルでの非公式会議お

よび平成11年10月のワシントンでの公式会議で議論が行われて，改定案 (ステップ2文書) がとりまとめられた。主な検討項目は，①Q3Aにおける構造決定のいき値であるat or above 0.1% ($\geq 0.1\%$) (a)とその他の不純物の一般的な規格値であるnot more than 0.1% ($\leq 0.1\%$) (b)との間の矛盾の解消，②Q3A/Bにおける数値の丸め方 (rounding) に関する規定の再検討，③Q3Aにおける構造決定ならびに報告のいき値の再検討，④Q3Bにおけるその他の分解生成物の一般的な限度値の設定などであった。このうち，①～③の3項目について合意に達して，ステップ2のサインオフがなされた。

いちばん問題となったのは，②の項目であった。現行のガイドラインは，開発段階での話と製品の出荷に当たっての適否 (pass-fail) の判定の話とを切り離すという考え方で組み立てられている。開発段階では，1/10%，つまり，0.10000……%を構造決定のいき値として選び，それ以上含まれる不純物について構造決定を求める (すなわち，通常の数値の丸め方のルールは適用しない) とされている一方で，製品の出荷に当たっての適否の判定では，通常の数値の丸め方のルールを適用するとされている。一つのガイドラインの中に異なるルールが共存しているわけで，これが混乱を引き起こしたことから，ガイドラインを改定するという事態に至ったものである。いろいろ激しい議論があったが，最終的には，全ての場合について通常の数値の丸め方のルールを適用するという事で合意に達した。各極での内示を経て，平成12年7月あるいは11月の会議でステップ4に達するものと思われる。

4. 安定性試験ガイドライン (Q1A) の改訂

Q1Aの改訂については，平成11年10月のワシントンでの会議で，試験間隔，実生産ロットでの試験，低温保存の場合の試験条件，半透湿性容器に入った液剤の場合の試験条件，ガイドラインの記載中にある不整合な点の解消の5つの検討項目に関する改定案 (ステップ2文書) がまとめられた。この改定案については，今後の各極での内示を経て，平成12年7月あるいは11月の会議でステップ4に達するものと思われる。

これに続く，平成12年3月の東京での会議では，ブラケットティング&マトキシリングおよびデータの統計処理とその扱いの2つの検討項目について議論が行われたが，この2つの項目は関連があるので併行して検討すべきであるとするFDAと，両者を切り離し，ブラケットティング&マトキシリングを優先して議論すべきであるとする欧州製薬協 (EFPIA) との間で折り合いがつかず，平成12年7月のブリュッセルでの会議まで持ち越しとなっている。

会議名：バイオインターナショナル99会議

出席者：薬品部 青柳伸男

開催場所，時期：ロンドン (英国)，1999年9月29日～10月1日

参加者内訳，人数：欧米の医薬品規制当局，大学および製薬団体関係者約100名

会議の内容：製剤の処方変更，後発医薬品の承認の際，生物学的同等性を確認する試験が求められる。そこではヒト試験が重要な役割を果たすが，人といっても健康人，患者，大人，子供と様々で，どの種の人を被験者とし，どのレベルまで同等性を確認すべきか，異論は多い。また，製剤間のバイオアベイラビリティの差は，主薬の溶出速度の差に起因することが多いことから，ヒト試験の代わりに溶出試験を活用することが望まれるが，これについても両者の相関性が不確かなことから，見解は分かれる。会議の目的は，

これらの課題に対する回答を見出すこと、各国の規制の違いを把握し、生物学的同等性試験法の調和を図ることあり、行政、企業、アカデミーの間で活発な議論が行われた。米国は、個々の人における生物学的同等性の証明を要求するガイドラインを策定中であるが、これに対しては実験が難しく、費用もかかるとの理由で強い反対があった。これに対し、我が国の生物学的同等性ガイドラインは、溶出試験を積極的に活用し、溶出が異なった場合、患者、無胃酸の被験者など、特定の集団での試験を求めており、溶出が同じであれば、ヒト試験による厳密な証明を免除している。日本のガイドラインに対する支持は高く、国際的な標準試験法とすべきとの意見が寄せられた。また、薬物を溶解度、膜透過性から分類し、溶解性、透過性の優れている医薬品は、溶出試験の同等性の確認で十分であるとのコンセンサスがほぼ得られた。本会議で明らかにされた各国の試験法の特徴、得られたコンセンサスは、今後、互いの国の試験法に影響を及ぼすものと思われる。なお、本会議の要旨はEur.J Drug Met. Pharmacokin.に掲載される予定である。

会議名：不正不良医薬品の迅速分析法の改訂に係わる会議
出席者：薬品部 石橋無味雄

大阪支所薬品試験部 谷本 剛

開催場所、時期：ハノイ（ベトナム）、1999年5月9日～14日

参加者内訳、人数：代表としてWHO、カンボジア、中国、フィリピン、ベトナム、タイの各政府から各1名、日本から2名。オブザーバーとしてベトナム政府から6名。

会議の内容：本会議は、大臣官房国際課の要望により国際厚生事業団において作成、出版されたRapid Examination Methods against Counterfeit and Substandard Drugs（イエローブック）の初版本の改訂を目的として開催された。このイエローブックは、発展途上国等において市場に流通する偽薬を検出し、排除することを目的として作成され、官能試験法と薄層クロマトグラフ法を用いた簡易迅速分析法からなっている技術指導書である。この本に対する評価は、WHOをはじめとして東南アジア諸国及び中国において非常に高く、日本はもとよりWHOやそれらの国々が、偽薬の排除を目的として開催するセミナーの教科書として用いられている。この度、WHOを中心にそれらの国々の要望により、より充実したイエローブックを作成するために会議が開催されたものである。

会議は、ベトナム保健省次官の出席のもとに開催され、にせ薬の定義やその排除に関する方法等に関するカンントリーレポートが報告され、ついでイエローブック改訂のための議論を行った。議論は、総論、官能試験、薄層クロマトグラフ法及び個々の医薬品に関する分析法各論に分けて行われ、有意義な討議結果を得ることができた。この会議の結果を受けて改訂されたRapid Examination Methods against Counterfeit and Substandard Drugs, 2nd Editionが2000年3月に厚生省及び国際厚生事業団から出版された。

会議名：日・米・欧三極薬局方調和検討委員会

出席者：生物薬品部 早川堯夫

開催場所、時期：ストラスブル（フランス）、1999年9月23日～9月25日

参加者内訳、人数：日・米・欧三極薬局方調和検討委員会メンバー約12名

会議内容：日・米・欧三極薬局方調和検討委員会は、三極薬局方収載の総則、一般試験法、医薬品各条、添加剤各条等の国際調和に向けて、各局方の代表メンバーが定期的

に集まり、必要な検討作業を行っている会議である。今回の会議では、前回の東京会議議事要旨、ICH関連問題、調和作業手順、調和検討項目進捗状況、将来の調和課題などについて検討した。筆者は特に、バイオ医薬品その他の生物薬品の品質確保やこれに用いる試験法に関する課題を今後どのように進捗させるかについての討議に参画した。本会議において特筆すべき成果は、調和作業手順についての討議を綿密に行うことにより、調和のための各ステージの内容に関して共通認識が得られ、全手順の詳細がほぼ合意に達したことである。また、バイオ医薬品関連事項で合意された最も重要な事項は、国際調和のための各条ドラフトの記述様式を、案文作成の担当局方が自局の独自のスタイルによるのではなく、国際調和案のスタイルとして記述するという点であった。

会議名：国際シンポジウム“2000年以降の生物薬品”

出席者：生物薬品部 早川堯夫

開催場所、時期：ストラスブル（フランス）、1999年9月26日～9月29日

参加者内訳、人数：欧州を中心に、日、米、カナダなどの公的研究機関、規制当局、大学、製薬企業関係者など約300名

会議内容：本シンポジウムでは、1) 生物薬品の品質確保の将来、2) 遺伝子工学の最近の進歩、3) 生物薬品の特性解析法、4) 安全性問題：生物薬品開発におけるリスクをいかに最低限にするか、5) ワクチン、6) 血液製剤、7) 品質確保と規制などが主な話題として取り上げられた。このうち、2) や4) のセッションは、遺伝子治療薬の開発及び安全性評価技術に関し、先進的役割を果たしている欧米の研究者と直接研究交流して彼等の状況を正確に把握することにより、新たなアイデアや方向を見出す契機となり、大変有益であった。また、筆者は、3) のセッションにおいて座長を務めるとともに、“最新の糖タンパク質解析法”と題し、当部及びわが国で得られたデータを中心にしながら、総括的講演を行った。さらに、7) では、“生物薬品の品質確保に関する日本の将来展望”と題する講演を行い、これからのバイオ医薬品等の品質確保に必要な要件を指摘した。また、遺伝子治療薬や細胞・組織加工医薬品等の品質・安全性確保に関するわが国の現状及び将来展望を示すとともに、当該課題に対応するための国際的枠組みづくりや将来の国際ガイドライン作成の必要性について提言した。

会議名：日・米・欧三極薬局方調和検討委員会専門家会合

出席者：生物薬品部 早川堯夫

開催場所、時期：ストラスブル（フランス）、1999年9月30日

参加者内訳、人数：日・米・欧三極薬局方バイオ医薬品関係者約30名及び微生物試験関係者約15名

会議内容：専門家会合は、各調和検討項目のうち、三極薬局方関連委員会所属の専門家が一堂に会して問題点を討議することにより、より効果的に相互の意見等への理解を深め、調和の推進を図ることを目的として開催するものである。今回はその第1回目であった。まず、バイオ医薬品一般試験法関係のアミノ酸分析法、ペプチドマッピング、総タンパク質定量法、キャピラリー電気泳動法、等電点電気泳動法、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法に関する国際調和の推進上の問題点について討議した。その結果、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法については実質合意に達することができた。また、ワシントンでのICH/

EWGを直前に控えてQ6Aに記載されている局方調和検討課題である無菌試験法について論議しておくことがきわめて緊急で重要であるとされ、議題として取り上げられた。その結果、主要な論点については、概ね三極間で合意が得られた。さらに、Microbial Contamination（微生物限度試験法）について国際調和案作成の方向を探ろうとする検討が行われた。

会議名：国際討論集会“ICHとカナダの医薬品規制システム”

出席者：生物薬品部 早川堯夫

開催場所、時期：モントリオール（カナダ）、1999年11月14日～11月16日

参加者内訳、人数：カナダを中心に、日、米、欧州などの公的研究機関、規制当局、大学、製薬企業関係者など約300名

会議内容：カナダ衛生省（健康保健・治療用医薬品計画）では“ICHとカナダの医薬品規制システム”と題する討論集会をモントリオールで開催した。その一環として生物起源由来医薬品やバイオ応用医薬品に関するセッションが企画された。筆者は、バイオ医薬品の品質に関する全てのICHガイドライン作成にわが国のトップリーダーを務めてきた。また、特に“ウイルス安全性評価”に関するガイドライン作成作業では、日・米・欧全体の総括責任者として国際調和ガイドラインを完成させた。このような背景のもとで、上記討論集会で講演し、パネル及び聴衆との質疑応答に参加した。本討論集会においては、日・米・欧で国際調和したアプローチ、考え方を紹介するとともに、さまざまな分野の専門家との最新情報及び技術交流並びに将来展望に関する議論を行った。

会議名：カナダ衛生省セミナー

出席者：生物薬品部 早川堯夫

開催場所、時期：オタワ（カナダ）、1999年11月18日

参加者内訳、人数：カナダ衛生省生物薬品関係者約50名

会議内容：カナダ衛生省、生物薬品/放射性医薬品局、生物薬品部から、オタワにある同部門の研究スタッフと、遺伝子治療をめぐる規制上の問題点やトランスジェニック動物を使った生物薬品の生産及び生物薬品における同等性問題などについて意見交換をしたいとの要請があり、定例セミナーで講演及び討論を行った。これらはわが国においても精力的に取り組むべき先端的課題であり、また将来の国際調和の課題でもあるところから、外国政府の関係スタッフと情報交流及び将来展望に関する意見交換を行ったことは、貴重な機会であり、きわめて有意義であった。

会議名：ミレニアム世界薬学大会“バイオ医薬品の承認を決定する重要事項”に関するシンポジウム

出席者：生物薬品部 早川堯夫

開催場所、時期：サンフランシスコ（米国）、2000年4月16日～4月20日

参加者内訳、人数：北米、欧州、日本などの大学、公的研究機関、規制当局、製薬企業関係者など約1000名

会議内容：ミレニアムを機に、国際薬学連合、米国薬学会、日本薬学会、欧州薬学連合などの共催でミレニアム世界薬学大会が開催された。その一環としてバイオ応用医薬品に関するセッションが企画され、バイオ医薬品の品質・安全性確保に関する話題をはじめ、バイオ医薬品関係のさまざまな話題が取り上げられ、世界中の専門家が演者あるいは聴衆として一堂に会して最新情報及び技術を相互に交換

し、将来展望に関する議論を行った。筆者は、“バイオ医薬品の承認を決定する重要事項としてのバイオ医薬品の品質・安全性”に関し、日・米・欧で国際調和したアプローチ、考え方やこれまでのわが国の経験などについて講演し、討議に参加した。

会議名：第2回中生薬標準規格検討会議

出席者：生薬部 佐竹元吉、関田節子、川原信夫、和歌山薬用植物栽培試験場研究員 酒井英二

開催場所、時期：北京 中国薬品生物製品検定所1999年7月20日、21日

参加者内訳、人数：日中の生薬の薬局方関係者、約40名

会議内容：1998年3月の第1回の日中生薬標準規格検討会議を日本で行い、第2回日中生薬標準規格検討会議が北京で開催され、第1回に引き続き、日中の薬局方の生薬標準規格の作成について検討を行った。参加者全員は、広範囲な領域の学術交流と討論を通じて、日本と中国の生薬及び生薬製剤の品質を同一のものにし、両国で医薬品として広く使用できるものとするために同一規格の作成は必須なものであることを確認した。日本と中国との生薬及び生薬製剤の円滑な流通は両国民の健康増進に大きく寄与するものである。

両国の薬局方は日本では第14改正が2001年に、中国では2000年に薬典の改定が行われる予定であるが、今後の日中生薬（中薬）規格の調和が可能な事項を明らかにした。検討した項目は下記の通りである。

- I. 薬局方に関する両国の総合的な対比
 - II. 収載品目の比較（生薬及び生薬製剤）中国2000年版と13改正第二追補の比較
 - III. 調和品目の選定（共通基原のもの、基原が一部違うもの、生薬名が同じもので、基原又は部位が違うもの）
 - IV. 局方の記載内容
 1. 生薬名、別名、ラテン名、英名の記載方法
 2. 性状の記載内容の形態学的検討
 4. 化学的な規定の検討（定量法、確認試験）
 5. 今後の規格（微生物限度試験法）
 - V. 確認試験用標準品、定量法用標準品、生薬標準品（対象品）
 - VI. 生薬品質規格に関する共同研究が提示された。
 - (1) 同一基原の品目については試験方法を統一する。具体的に黄芩のバイカリンの規格値の比較を計画する。試験法の調和と中国の市場品の収集と国内品の収集により、定量し規格値を両国で調和させる。
 - (2) 日中間で、どちらかで完成されている試験法は両局に入れるための努力をする。黄柏のベルベリン定量法を検討する。
 - (3) 性状の項の内部形態の記載を充実させる。
 - (4) 両国で基原植物が異なるものに関しては生薬学的な検討を行い、基原植物の種を明らかにする。
 - (5) 釣藤鈎は中国薬典では基原植物は5種、日本局方外生薬規格では2種類を記載。日本では鈎藤の血圧下降研究と活性成分の研究が行われている。そこで有効成分に焦点を合わせ、中国薬典に収載されている基原植物種間の比較検討を行う。さらに有効成分の試験法を確立し、含量規格値を設定する。
 - (6) 生薬標準品に関する共同研究
 - (7) 生薬のDNA解析による鑑定法に関する共同研究
- これらの検討内容を薬局方に反映するために、この会議を継続的に行い、具体的な成果を両国の薬局方に反映させ

る努力すること。今後の会議は2000年に2回、2001年に1回両国で交互に開催するために努力する。

第3回会議は2000年2月21日から25日まで、東京で開催され、中国から5名の薬局方関係者が来日した。討議内容は第2回の内容の継続で、中国側は2000年版の新薬局方を披露された。

会議名：フィリピン薬局方シンポジウム

出席者：寺尾允男所長、生薬部 佐竹元吉

開催場所、時期：フィリピン マニラ 2000年2月28日から3月2日

参加者内訳、人数：フィリピン薬局方関係者の生薬の薬局方関係者、約100名

会議内容：2000年2月28日にフィリピン薬局方プロジェクトの経過報告、シンポジウム打ち合わせ及び所内見学をプロジェクト側からは野口衛専門から行った。

2月29日(火)にフィリピン薬局方シンポジウムをマニラのココナッツパレスで約100人が参加して、開催された。

3月1日、2日(水)BFAD(国立食品医薬品試験センター)でフィリピン薬局方プロジェクトに関する打合会を野口衛専門家、ジョージプロジェクト担当官、ジョイプロジェクト副担当官(Josephine K. Sarau)、医薬品部長及び吉田友哉JICAフィリピン事務所業務班員と行った。

(1) シンポジウムはBFADトール所長(William D. Torres)、フィリピン厚生省薬事担当次官、福田光日本大使館一等書記官、黒柳JICAフィリピン事務所員が行った。

1 フィリピン薬局方の歴史とその背景及び最近の動きとの演題でフィリピン学術会議会員ダイリット博士(Conrado Dayrit)が講演を行った。旧統治国スペインの薬事行政から近年のアメリカの薬局方USP中心の動きの紹介があった。現在はUSP以外に、EP(ヨーロッパ薬局方)、IP(国際薬局方)、BP(イギリス薬局方)、JP(日本薬局方)を用いた企画が国内の医薬品の流通上、認められている。

2 日本の薬局方の歴史、作成のための組織、役割と運用に関して寺尾専門家が話した。

3 日本の生薬が薬局方に収載されるようになった経緯と記載方法に関して佐竹が報告した。日本での経験がフィリピン生薬を薬局方に収載する参考になると思われる。生薬に関して原料規格以外に製剤規格はないのかとの質問があった。日本薬局方では生薬製剤はチンキ剤等が収載されているに過ぎず、多くのものは薬局方の考え方に従い、製薬会社が個々に申請し、許可されている。

4 フィリピン薬局方プロジェクトの持つ意義に関して、元BFAD所長のキンタナル博士の講演があった。キンタナル博士はこのプロジェクトの立ちあげに尽力された方で、国際社会にフィリピンが医薬品の分野で強く発言するためには自国の薬局方が必要であると結ばれた。

5 フィリピン薬局方ではPart 1とPart 2の形で作成し、Part 1は主として化学薬品で、Part 2はフィリピンの生薬を中心に記載したい。組織委員会は総合委員会にトール所長、フィリピン学術会議会員ダイリット博士、マニラ大学薬学部教授などで、Part 1とPart 2にも委員会が作られている。

6 2006年を目標に完成に全力で当たりたい。

7 生薬の記載原案作成のために野口専門家がタイ、ベトナム及び欧米の薬局方での生薬の記載例が示した。また、フィリピンが薬局方収載を予定している生薬53種の紹介があった。

8 総合討議が行われ、各分担責任者からの現状報告と収載文作成のための協力依頼があった。参加者からは協力の

意志表明の発言があった。ミンダナオ島の大学の教授からも協力の発言があった。

(2) 今後のスケジュール

1 専門家の派遣計画の検討 Part 1の化学の専門家、特に松雄さんの様な人と名前が話題になった。Part 2は野口専門家の分野で、1名の派遣を希望している。

2 研修員の受け入れ Part 1とPart 2で、医薬品食品衛生研究所薬品部、生薬部で各1名ずつの受け入れを行うことは可能である。

3 供用機器 早急に研修用に必要な機器はフィリピン国内で調達することを検討するように助言すること。

4 フィリピンのPart 1とPart 2の委員会と積極的に討議し、試験の必要なものは適切な分担を指示することが話合われた。

会議名：WHOの伝統医療の研究方法及び評価方法に関するガイドライン作成の会議

出席者：生薬部 佐竹元吉

開催場所、時期：香港 2000年4月11日から14日

参加者内訳、人数：世界31ヶ国から約100名

会議内容：伝統医療に関するWHOの動きの集大成で、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(東京、1987年)及び第5(パリ、1989年)国際医薬品行政官会議(ICDRA)で国際的に取引される伝統薬の規制に関する検討会議が持たれ、第6回のオタワ会議でガイドラインが作成された。

1991年から(1)生薬及び生薬製剤(HERBL 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(1991)、(2)生薬の品質確保に関するガイドライン(1992)、(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(1992)、(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(1997)、(5)伝統医療と西洋医学の調和に関する会議報告(1999)、(6)生薬・薬用植物のモノグラフの作成(Part 1, Part 2)が行われてきた。

最近、国際的に伝統医療に対する需要が高まり、10年間のWHOの成果をまとめ、世界各国で伝統医療が使いやすいものになるようにするガイドラインの作成の会議であった。

ガイドラインの内容は

I. 伝統医療の定義

各国が持っている健康増進に役立つ知識で、各国固有の伝統に基づき理論的や経験的なものである。伝統薬を使う分野と伝統薬を使わない伝統医療の分野に分けて、検討を行った。

II. 基本的な考え方

各国の伝統医療は科学的論拠が薄弱で、安全性と有効性をいかにして科学的な評価するかの方向付けを行うことを検討する。

III. 目的

1. 伝統医療の分野の言葉の統一

2. 伝統医療の研究と評価のための科学的検討方法を絞り込む

3. 伝統医療に関する研究の質を高め研究成果を価値あるものにする

4. 伝統医療の分野の規制や認定を推進するための適切な評価方法を提出する

IV. 使い方

各国及び各国の関係諸団体が伝統医療の普及に役に立つ方法で利用する

会議名：第8回室内空気質と気候に関する国際会議

出席者：環境衛生化学部 安藤正典

開催場所、時期：エジンバラ（英国），1999年8月7日～15日

参加者内訳、人数：先進諸国を中心に1000名

会議内容：昨今の室内空気質に関する関心はわが国ばかりでなく世界的な傾向となっている。しかしながら、特に居住環境における空気質に関するガイドラインは世界の国々でも踏み込むことに躊躇する傾向がみられる。人の生活環境の快適性と空気質の低下は表裏の関係にあり、その戦略に苦慮している。この会議ではこれら先進諸国の共通の課題について建築工学から生物による安全性の観点まで幅広い検討がなされた。一方、我が国では生活環境への国の関与がガイドラインなどの形で求められている。このため、揮発性有機化学物質の世界の動向を把握し、我が国のガイドライン設定に資するための基礎的な有益な情報が得られた会議であった。

会議名：飲料水中ヒ素に関する国連報告の著作者会議

出席者：環境衛生化学部 安藤正典

開催場所、時期：ダッカ（バングラディシュ），1999年11月28日～12月4日

参加者内訳、人数：日本、アメリカ、イギリス、ドイツ、UNEP、WHO

会議内容：この10～20年来、発展途上国等で未開発地域での地下水汲み上げによるヒ素汚染問題が大きな問題となっている。これを受けてUNEP及びWHOでは、地下水ヒ素汚染とそれの飲用による人のヒ素慢性中毒の広がり防止する観点から、ヒ素モノグラフ作成会議が行われ、地下水ヒ素汚染の指針となるプロトコルの作成作業について協議した。

会議名：トータルダイエツトスタディーに関する国際ワークショップ

出席者：食品部 豊田正武

開催場所、時期：カンサス市（米国），1999年7月26日～7月30日

参加者内訳、人数：日、米、欧、南米、アジア、アフリカなど公的機関所属の行政官及び研究者など約70名

会議内容：本会議は、WHOにより実施されているGEMS/トータルダイエツトスタディー（TDS）の理解と推進及びハーモナイゼーションを目的とし、USFDAとPan American Health Organizationの協力下で開催された。カンサス市にはFDAのTDS用のラボが設置されていることから本場所が選ばれた。先ずTDSに関するこれまでの経験を、オーストラリア、カナダ、チェコ、日本、ニュージーランド、スペイン、英国、USAが報告した。会議の結論と勧告は、TDSに水の部分を考慮する、定量限界値の取り扱いについてはLOQを使用しデータに付記する、95%タイル値による暴露評価を行う、暴露評価に幼児等の特殊な人口群も加える、並びにTDS用分析リストの作製であった。

会議名：食品の安全性確保とその品質保証のための照射に関する国際会議

出席者：食品部 宮原 誠

開催場所、時期：トルコ南部アンタルヤ近郊キリス，1999年10月19日から22日

参加者内訳、人数：参加者は約400名、論題数およそ70題。

会議内容：議論の中心は来年には照射肉の試験販売を行うと発表した米国の食品会社の詳細、アメリカの防疫を目的とした照射の規制原案を披露したこと、IAEA等が高線照射の的確性をアピールしたことである。さらに、現在照射食品を身近な食品として、実用化している南アフリカ等の実状が紹介された。また、世界香辛料協会の代表が、香辛料の除菌には照射が広範に使われていることを報告している。また、USDAが病原菌の防除目的に照射を利用しようとする有効性をアピールした。いずれにしても、食糧は国際商品であるから、これらの影響がどのように日本に現れるのか注意が必要であろう。

会議名：第53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（規格）

病理部 西川秋佳（毒性）

開催場所、時期：FAO本部 ローマ（イタリア），1999年6月1～10日

参加者内訳、人数：WHO委員6名、FAO規格グループ13名、FAO摂取評価グループ6名、事務局及び顧問21名の合計46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（ γ -サイクロデキストリン）、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（鉄EDTAナトリウム、水素添加ポリ-1-デセン）、3) 優先的な評価が必要とされた新規添加物（エリスリトール、カードラン、硫酸ナトリウム等）、4) 香料の安全性評価手法により評価される化合物等であった。また、規格については、新規化合物6品目、見直し33品目及び香料約180品目の製品規格が設定された。そのほか、アナトー抽出物、カンタキサンチン、エリスロシン、酸化鉄等の摂取量の評価が行われた。

会議名：第29回医薬品国際一般名（INN）に関する会議

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），1999年4月13日～16日

参加者内訳、人数：日、米、欧などからINN委員7人、WHO事務局10人、オブザーバー3人、など

会議内容：WHOのQuality Assurance & Safety (QSA): Medicines (Acting Team Coordinator: Dr. S. Kopp-Kubel)の主催で、29th Consultation on Nonproprietary Names for Pharmaceutical Substances (第29回医薬品国際一般名委員会)が開催され、1) proposed INNリスト#82等に収載するため、医薬品100品目について国際一般名（INN）の選定および見直しを行った。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うとともに、DataBase化についても検討を行った。

会議名：第3回韓国食品医薬品局国際シンポジウム

出席者：化学物質情報部 神沼 二真

開催場所、時期：ソウル（韓国），平成11年6月15日～6月18日

参加者内訳：日本より3名、米国より4名

今回の出張の主目的である第3回韓国食品医薬品局国際シンポジウムには、日本より3名、米国より4名の専門家が招聘され、内分泌かく乱物質に関する講演を行った。この問題に関する韓国の対応計画と構造活性相関に関する講演も行われた。これ以外にKFDA（韓国食品医薬品局）や国立環境研究院の研究者との情報交換の機会をもった。と

くに後者とはGINCアジア計画の枠組みでの協力について話し合った。

会議名：IPCSのプログラムアドバイザー会議 (PAC)

出席者：化学物質情報部 神沼 二真

開催場所、時期：ジュネーブ (スイス), 平成11年9月23日～10月3日

参加者内訳、人数：WHO/PCS, ILO/CIS, UNEP Chemicals など15名

会議内容：PACのStanding CommitteeとはPACの中の7名程の主要国メンバーからなる臨時の委員会であり、その役割は変革期にあるIPCSを外から応援することである。今回の会合はWHOの大きな機構改革とIPCSの責任者であるM. Mercierの退任に伴うIPCSのマネジメント体制の変化への対応とIPCSの活動自体の見直しを主な課題とした。前者については昨年から今年にかけてのWHOの組織改革とIPCSの事務局であるPCSの位置づけ、M. Mercierの後任であるT. Meredithの就任が紹介された。後者のIPCS活動については、IPCSの独自性のある活動領域 (niche) を重視すべきという意見が出された。なおGINC計画に関連し、UNEP/ChemicalsとILO/Chemicalを訪問し、F. Ouaneと今後の協力について打ち合わせた。また関連情報としてIFCSⅢが2000年10月14日～20日の間、ブラジルのサルバドルで開催されることが決まっている。また、2001年にはUNEPの会議とIUPACが、オーストラリアの隣接都市でほぼ同じ期間で開催される。そこで次のPACの開催は2001年以降となった。また、テーマは情報時代の化学物質安全性となった。

会議名：IPCS国際化学物質安全性カード (ICSC) 原案検討会議

出席者：化学物質情報部 山本 都

開催場所、時期：カーシャルトン (英国), 1999年10月18日～22日

参加者内訳、人数：EU各国, 米国, カナダ, 日本, IPCS, ILO, IARCの担当者, EU委員会等約20名

会議内容：各国の担当者が分担して作成したIPCSの国際化学物質安全性カード (ICSC) の原案について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た。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70物質のカード原案を検討した。日本は、n-ペンタン、ベンゾニトリル、シアン化ナトリウムなど13物質の原案作成を分担した。

会議名：不確実性と分布に関するIPCSワークグループ会議

出席者：化学物質情報部 関澤 純

開催場所、期間：カーシャルトン (英国), 1999年4月26～27日

参加者内訳、人数：メンバー11名 (米国3, カナダ2, 英, 独, 日, 蘭, 豪, 欧州連合各1名) および事務局3名

会議内容：IPCSは発癌など各種毒性のリスク評価のハーモニゼーションを進めてきたが、本ワークグループは既定値のように扱われてきた安全係数 (不確実性係数) の内容を検討し、健康リスク評価における不確実性と分布の問題を分析し明示する手法を検討することを目的に開かれた。

米国、欧州連合を中心とする不確実性分析に関するこれまでの活動成果を基に、検討すべき課題について議論した。

(i) データの不備, (ii) 外挿 (種間と、個体間のKinetics/Dynamics, NOAEL/LOAEL, 試験期間, 投与経路間), (iii) クリテカルエンドポイントの選択など不確実性要因につき事例研究を行い、不確実性分析の枠組みを検討する国際ワークショップ (来年, 場所未定) を計画することにした。

会議名：不確実性と分布に関するIPCSワークグループ会議

出席者：化学物質情報部 関澤 純

開催場所、期間：ジュネーブ (スイス), 1999年10月5～6日

参加者内訳、人数：メンバー11名 (米国, カナダ, 英各2, 独, 日, 蘭, 豪, ノルウェー, 欧州連合各1) および事務局1名

会議内容：今年4月のワークグループで提案された本テーマを主題とする国際ワークショップの来年開催に向けて討議した。ワークショップで検討すべき内容、目標、メンバー、題材とする事例研究について研究成果を持ち寄り検討した。題材とすべく検討された物質はPhenol, Diethyl hexyl phthalate, Butoxyethanol, Methylmetacrylate, Trichloroethylene, Dioxins, Chlorfenvinphos, Cyclohexylamineである。これら物質のリスクではなく、評価における種間と個体間の不確実性と分布要因について討議する上で、的確なデータの有無と解析の適切さを各物質について検討した。米国-カナダ合同ワークショップ報告 (1999年5月) と、欧州連合のワークショップ報告 (同4月) が提出された。会議日程は来年5月9～12日頃 (ベルリン開催予定) とし、参加予定者を専門分野、国などを考慮し、リストした。

会議名：不確実性と分布に関するIPCSワークグループ会議

出席者：化学物質情報部 関澤 純

開催場所、期間：カーシャルトン (英国), 2000年2月29～3月1日

参加者内訳、人数：メンバー11名 (米国2, カナダ3, 英2, 独, 日, 蘭, 欧州連合各1名) および事務局1名

会議内容：本年5月にベルリンで不確実性分析についてIPCS主催のクローズドの国際的なワークショップを開催するための準備と打ち合わせを行った。会議の目的、議題、参加者の役割、論点、題材として準備した事例研究の内容について詳細な検討を加えた。関澤はオランダのVermeire博士と研究事例の準備と検討にあたるが、グループ全体では会議直前まで電子メールと国際電話会議で、最終的な調整を図ることにした。

会議名：IPCSの第5回CICAD (国際簡潔評価文書) 最終検討会議

出席者：化学物質情報部 関澤 純,

病理部 西川秋佳

開催場所、期間：ストックホルム (スウェーデン), 1999年5月25～28日

参加者内訳、人数：メンバー14名 (スウェーデン4, 米3, 日, 英, 独は各2, カナダ1), 事務局4名, オブザーバー3名 (欧州工業会など)

会議内容：国際的に有用かつ簡潔なリスク評価文書としてのCICADの原案を今回はChlorine dioxide, Diphenylmethane-4, 4'-diisocyanate (MDI), Methyl chloride,

N-methyl-2-pyrrolidone について最終検討し、Methyl chloride を除き、CICAD 原案が承認されることになった。このうち MDI の CICAD 原案は関沢が米国環境保護庁の Dr. Greenberg の協力を得て作成した。次回わが国が、米国の有害物質疾病登録庁 (ATSDR) と協力して作成予定の Diethyl phthalate については欧州連合で評価が進行中のため、この結論を待ってという意見がだされた。

会議名：リスクアセスメントに関する顧問会合
出席者：安全性生物試験研究センター 黒川雄二
開催場所、期間：カナダ、オッタワ市、1999年9月2日－3日

参加者内訳、人数：英国、チリ、米国、ドイツ、カナダ、日本、エジプト、スイスの8カ国から、国際研究機関等に所属する安全性評価専門家、計10名

会議内容：1998年ドイツ国ハノーバー市で開催された「リスクアセスメント方法のレビューに関する諮問会議」において、IPCSにおける広い協力体制の必要が認識され、「リスクアセスメントに関する顧問会合」が提案され、その後IPCSのPACで承認され、その第1回会合が行われたのである。会議においては、CICAD及びEHCに関して、極めて具体的にそれぞれの進捗状況の把握、問題点の協議さらに将来取り上げるべき化学物質や安全性評価に関する話題等について協議した。

会議名：国家新薬安全性評価検測センタープロジェクト事前調査

出席者：安全性生物試験研究センター 黒川雄二
開催場所、期間：中国、北京市、99年11月28日－12月4日

参加者内訳、人数：調査団団長 寺尾允男国立医薬品食品衛生研究所所長、団員 小野宏(財)食品薬品安全センター秦野研究所長、遠藤仁杏林大学医学部教授、吉田光恵厚生省大臣官房国際課国際協力室国際課国際協力専門官、他2名

会議内容：JICA国際協力事業団では、天津プロジェクトに引き続き、上記の国家新薬安全性評価検測センタープロジェクトを開始している。具体的には、国家薬品监督管理局SDAの下の中薬品生物製品検定所に中国初のGLP対応施設として国家新薬安全性評価検測センターを建設し運営しようとするものであり、今回先ずJICAの依頼で、一般毒性・病理組織・生殖毒性・遺伝毒性・薬理・生化学・薬事行政等の専門家チームを組織して事前調査に赴いたものである。現地では、JICA中国事務所、日本大使館、国家科学技術部、国家薬品监督管理局、薬品生物製品検定所の関係者と面談し情報を得た後、さらに薬品生物製品検定所実験動物センター及び国家新薬安全性評価検測センター建設地を視察した。最後に、分野別調査に関して意見交換を行いミニッツ案を協議し署名した。

会議名：国家新薬安全性評価検測センタープロジェクト実施協議調査

出席者：安全性生物試験研究センター 黒川雄二
開催場所、期間：中国、北京市、2000年5月28日－6月3日

参加者内訳、人数：調査団団長 元寺尾允男国立医薬品食品衛生研究所所長、団員 水野佐敏元国立感染症研究所所長、他2名

会議内容：JICA国際協力事業団では、天津プロジェクト

に引き続き、上記の国家新薬安全性評価検測センタープロジェクトを99年から開始している。具体的には、国家薬品监督管理局SDAの下の中薬品生物製品検定所に中国初のGLP対応施設として国家新薬安全性評価検測センターを建設し運営しようとするものであり、99年11月には先ずJICAの依頼で、一般毒性・病理組織・生殖毒性・遺伝毒性・薬理・生化学・薬事行政等の専門家チームを組織して事前調査を行っており、今回はその最終段階として派遣されたものである。現地では、JICA中国事務所、日本大使館、国家科学技術部、国家薬品监督管理局、薬品生物製品検定所の関係者と面談し意見交換を行った後、さらに建設中の国家新薬安全性評価検測センターを視察した。来年4月には竣工とのことであった。最後に、ミニッツ案を二日に渡り詳細に協議し合意に達し、寺尾団長と桑国衛薬品生物製品検定所所長が署名した。

会議名：内分泌かく乱化学物質(EDCs)の現状に関する状況把握文書の編集会議
および関連する問題に関する国際化学物質安全計画運営委員会合同会議
(IPCS/Steering Committee on Endocrine Disruptors)

出席者：井上 達

開催場所、期間：国連米州保健機構(PAHO)ビルディング、ワシントン・コロンビア特別区、November 22, 1999

参加者内訳、人数：Steering Group: Susan Barlow, Aarke Bergman, Abraham Brouwer, Kathleen Cameron, Terri Damstra, Fernando Diaz-Barriga, Warren Forster, Andreas Gies, Tohru Inoue, J-F. Junger, Robert Kavlock, Glen Van Der Kraak, Rolaf van Leeuwen, George Lucier, Larry Reiter (座長), James Seiber (計30人)

会議内容：WHO/UNEPモノグラフ「内分泌かく乱化学物質」の出版に関する運営委員会

(I) それぞれのchapterのauthorから戻ってきた2nd draftを読んだ上での問題点をeditorialとして、改善すべき点がないかどうかについてarticle毎に討議した。

(II) Editorialとして加筆すること、authorに加筆して貰うことを定め、来るべきinformalおよびformalのpeer reviewに向けて、前準備を進めること。

モノグラフの概要

第2章：はじめに／背景

第3章：内分泌系のアウトラインについて

用語の説明と本章の目的／ホメオステシスについて／内分泌系のプログラム／内分泌かく乱物質のインパクト／視床下部・下垂体・性腺(HPG)系／標的細胞感受性／内分泌ホルモン代謝／内分泌系のパラクリン／HPG系の発育における役割／非ほ乳類のHPG／視床下部・下垂体・副腎(HPA)系／非ほ乳類のHPA／視床下部・下垂体・甲状腺(HPT)系／非ほ乳類のHPT／他の内分泌系とHPGの相互作用／発生途上のプログラム／内分泌クロストークと内分泌攪乱

第4章：野生生物

1) ほ乳類, 2) 鳥類, 3) 爬虫類, 4) 両棲類, 5) 魚類, 6) 無脊椎動物

第5章：健康影響

1) 雌性生殖機能, 2) 雄性生殖機能, 3) 雄性生殖機能

会議名:

出席者: 薬理部 大野泰雄

開催場所, 期間: Institute of Occupational Medicine, Lodz, ポーランド, 1999,6,14-6,15

参加者: Errol Zeiger (OECD), Marek Jakubowski (ポーランド), Annalaura Stamatii (伊), Cees De Heer (蘭), Jon R. Heylings, Julia Fentem (英), Winfried Steiling (独), Horst Spielmann (独), Ih, Chu, Cathy Campbell (加), Helga Tuschl (オーストリア), Neil G. Carmichael (仏), Angela Auletta, Robert L. Bronaugh (米), Konrad Rydinski, Przemyslaw Kostrzewski (ポーランド), 大野泰雄 (日本)

会議内容: 1996年に回覧された *in vitro* および *in vivo* 皮膚吸収試験に関する OECD の guideline は多くの国により受け入れられたが, カナダと米国は *in vitro* 法の validation が十分でないとして受け入れなかった。そこで, 関連文献についての review panel を組織し, *in vivo* 法と *in vitro* 法との関連性を中心に検討された。今回の会議はその結果について審議し, ガイドライン案作成に向けての議論を行った。

文献調査結果について, 以下の意見が出された。

COLIPA のデータはバリデーションとして行われたものではなく, *vivo-vitro* の比較が十分ではないが, 皮膚透過性を評価する第一段階の手段として有効であることを示している。公表論文の検討からは, 施設間のバラツキについてのデータは得られなかった。一方, *in vitro* 法は *in vivo* 法に置き換えるものとしては使用できないが, それにより比較的正確に皮膚透過性や吸収性を予測できることや皮膚吸収試験の代替法として使用できることを示す資料もある。TNO のデータは *in vitro/vivo* の比較と動物とヒトの比較がなされているが, 被験物質が少ないことが指摘された。全体として *in vitro* 試験法は吸収を過大評価し, その結果を利用した安全性評価上は保守的なものとなるとされたが, 化学物質の使用目的や状況により必ずしも全ての状況において保守的な評価となるわけではない。また, *in vitro* 法の施設内外の再現性や *in vivo* の予測性について明確に結論するには十分なデータが無い。

バリデーションの必要性について

上記の議論にも関わらず, 十分な時間と経費が無いこと及び ECETOC のガイドラインがあり, 企業は既に広く利用していることから, バリデーションは行わないこととされた。今後データベースを作成し, 予知性について検討すべきである。なお, *in vivo* 法についてもバリデーションが行われてはならず, *in vitro* 法と同様のバリデーションが必要であることが指摘された。また, 脂溶性や分子量の範囲において, いくつかの適切な対照物質を用いて評価することが必要であるとされた。

ガイドラインの行政的利用について

もし OECD のガイドラインができれば, *in vitro* のデータのみしか, 提出されなくなるだろうとの懸念が示されたが, *in vitro* 試験および *in vivo* 試験を何時, どのように行政的な化学物質登録に使用するかは個々の行政機関が決めることとされた。ガイドラインには *in vitro* あるいは *in vivo* のみで良い場合と両方必要な場合があることを明記することとされた。

まとめ

今回の会議の議論を踏まえて *in vitro* と *in vivo* のガイドラインを書き直すこととされた。Dr Zeiger が Dr Campbell, Dr Shu, Dr Auletta, Dr Heylings とともに修正作業を行う。それぞれのガイドラインの参考とするためにガイドライン文書を作成し, どのような状況でそれぞれのガイドラインを使用

するか, また, 結果をどのように解釈するかについて記述する。ガイドライン文書については introduction と initial consideration についてのみ審議し, 追加・修正がなされたが, これ以後についても修正作業を行う。また, ガイドラインに *in vivo* についての記述も追加する..

3) 今後のスケジュール

ECPA は 8 月に会議を持ち, ガイドラインの修正作業を始める。9 月末までにそれが終了することを期待する。ガイドラインについては 10-11 月までかかる。その後, なるべく早く会議出席者が検討し, 案を年末末までに National Coordinator に送りたい。(なお, 会議の後の検討により上の日程が延長された。)

会議名: 第29回 OECD 化学品合同会合

出席者: 総合評価研究室 長谷川隆一

開催場所: OECD 本部 (パリ, フランス)

時 期: 平成 11 年 6 月 8 日 - 11 日

参加者内訳, 人数: OECD 加盟国の約 100 名

会議内容: 新規化学物質について, 平成 11 年 5 月 14-16 日に開催されたワークショップで, 届け出様式の必要項目の違いに関する情報交換, 各国の届け出様式の標準化, アセスメント様式の標準化, ハザードアセスメント様式の標準化, 届け出不要条件, 情報の機密, 世界的な登録リストの公開について今後議論が行われる計画があり, 次回のタスクフォース (TF) は本年 9 月に行われることが提案された。各国ならびに BIAC, EC から次回の TF の開催支持および各項目優先順位について意見が述べられた。EC は基本的な考え方には賛成するものの, すべての項目について実行するにはいくつかの問題点のあることを指摘した。また, 複数地域における届け出必要事項の情報交換に関して, いくつかの実例のあることや OECD 加盟国と非加盟国間の届け出様式標準化例のあることなどが紹介された。なお, 全世界的な登録に関しては, 動物愛護の観点から特に支持されるとの発言があった。日本としてはすべての項目に興味があり, 積極的に TF に参加することを表明した。

既存化学物質について, OECD 事務局による評価物質数の増加提案および ICCA Initiative がすでに前回の JM で合意されている。今回, スポンサー国, 評価方法, その運営管理の提案がなされた。特に必須データとその信頼性, 新規に提案されている Robust 試験要旨, 評価文書 (SIAR) の内容, データ及び情報の管理 (統一した電子媒体を用いた Database, 試験の進捗状況や参加企業のわかるトラッキングシステム), ガイドラインの作成 (特にカテゴリー化および QSAR の使用法) について紹介され, これらを達成するために TF が必要と提案された。BIAC から ICCA の約束事項が述べられ, また, 現在の進捗状況として, 対象物質リスト, トラッキングシステム (情報公開), ハザードアセスメントの実行について述べられた。各国から本計画全体にわたって支持する発言があったが, Post-SIDS や IUCLID の活用, 分類のパイロットの実行について提案または要望があった。

評価文書の内容としての結論と初期評価の実務内容に関しては, ハザードアセスメントと分類について提案があったが, 分類に関しては他のセッションでほぼ終了している分類と表示を SIDS の結論に取り入れようとするものである。米国から 10 物質くらいパイロットワークをすべきとの提案があり, 各国ともこうした方式について賛成する発言があった。日本としてはパイロットワークに賛成するとともに, 暴露評価も自主的に行われる場合は取り入れるべきとの発言をした。また, 次回の SIAM でパイロットワークが紹介され, 次の TF で確定する予定が承認された。な

お、Post-SIDSやSIARの書式なども含めて次のTFで議論することとなった。

テストガイドラインについて、経口急性毒性試験法(TG 401)の削除についてExpert Consultation MeetingおよびNCMの結果が紹介された。議論はECによる代替法がすでに成立していること、専門家レベルではすでに削除が認められていることから、削除すべきのと強い要求が出されたが、米国からLD50は行政側からの要望があること、混合物については範囲が必要なこと、LD50はOECD非加盟国で使用していることから削除できないとの発言があった。その後3回に分けての議論の末、内容は別紙のように各活動の期限が設定され、2000年末に削除が予定されるとされたが、代替法使用のガイダンス文書を作成すること、代替法の改訂を行うこと、国際的法律上の問題の有無と対処が受け入れられることなどの要実行内容を含んで了承された。

内分泌かく乱物質については、全般的に現在進行中の3つのスクリーニング試験の検討に特段問題となる指摘はなかったが、*in vitro*試験法の導入や、魚を用いた試験法の提案があった(日本)。また、米国、ドイツ、スイス、オランダから生態に対する影響も行うべきとの提案があったが、現時点では平行して実行できないとの事務局からの回答があった。

会議名：OECDの第9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 長谷川隆一

開催場所：OECD本部(パリ、フランス)

時期：平成11年6月28日-7月1日

参加者内訳、人数：OECD加盟国の専門家45名

会議内容：SIAM 8以後の活動報告、HPVプログラムの加速化計画、2月のワーキンググループ、5月のタスクフォース、6月の第29回合同会合について報告があり、ハザードアセスメントを中心とすること、評価文書作成のための手引書の準備状況について説明があった。また、新規HPV物質のスポンサーの希望が紹介された。ハンガリーから3物質、韓国から7物質、日本から11物質の提案があり、了承された。

再議論となった7物質について、その改訂事項について議論され、日本担当のtert-Butylphenolについては、刺激性、感作性の評価、反復投与毒性、遺伝毒性について再評価することとなった。他の6物質については合意された。新規物質については14物質について討議され、日本からの5物質の評価文書を紹介した。日本担当物質のうち、4物質については評価に合意が得られたが、1,4-butanediolについては反復投与報告の原本(日本では入手不可)の入手・翻訳をBIACに依頼し、再評価・討議することとなった。

初期評価の中身をリスクアセスメントからハザードアセスメントに変更することに関して多くの意見が出されたが、本会議では結論は出さず、10月26-28日に行われるタスクフォースで議論することとなった。次回のSIAM 10については、日本から来年2月末か3月はじめに開催を引き受けることについて検討中であること、正式には10月のタスクフォースで発表する予定であることを紹介した。SIAM 10の初期評価文書の回覧は11月末が期限であることが発表された。

会議名：OECDの第8回既存化学物質に関するタスクフォース会合

出席者：総合評価研究室 長谷川隆一

開催場所：OECD本部(パリ、フランス)

時期：平成11年10月25-28日

参加者内訳、人数：OECD加盟国の専門家51名

会議内容：最初、ワークショップとして、EC主催でIUCLIDについての説明がおこなわれた。IUCLIDの成り立ち、入力法、使用法、今後の改訂計画等が紹介され、今後IUCLIDをOECD SIDSパッケージのDossierに置き換えることが提案された。また、robust summaryについても、IUCLIDで可能であるとの説明がなされた。この方針が了承され、タスクフォースの下にフォーラムを設置することをタスクフォースに提案することになった。また、26日はSIDS manual guidanceの1つとして、QSARについて非公式会合が行われた。化検協からQSARプログラムを用いた生分解性の計算予測実例が紹介され、また、その他のQSAR使用状況が紹介された。さらに、米国の作成したQSAR guidanceについてコメントが述べられ、それに基づいてさらに改訂されることになった。

本会議では現在までの活動状況が報告された。本タスクフォースでの決定事項は今回検討された各種のSIDS manual guidanceに基づくSIDSパッケージは今後新規にnominateされた化学物質に適用すること、すでにnominateされているものについては現在のSIDS manualでの提出を2年以内(SIAM 12まで)とすること、SIAM 1-6で討議され、合意の得られていない物質についてもSIAM 12までは旧formatで良いこと、各種の毒性についてのOECD harmonized integrated hazard classification systemによるcriteriaを取り入れることになっているため、事務局がこのパイロットサンプルを提供することとされた。

SIAM 10(2000年3月15-17日、東京)でのSIDS documentはOECD Internetのpassword protected siteで配布されることが事務局から発表された。

会議名：第1回OECDのIUCLID改良のためのエキパート会議

出席者：総合評価研究室 広瀬明彦

開催場所：OECD本部(パリ、フランス)

時期：平成12年2月3日

参加者内訳、人数：OECD加盟国のIUCLID専門家26名

会議内容：昨年の第8回のOECD Existing ChemicalsのTask Force会議でEUでのレギュレーションに使われているIUCLIDシステムの出力フォーマットを今後の加盟国間のデータ交換フォーマットとすることが合意されたことを受け、IUCLIDシステムのOECDのHPV Chemicals Programmeにおける有用性の検証をソフトウェアの技術的な側面から行うことを目的として開催された。また、同Task Force会議でRobust Summary styleをSIDS Dossierに適用することが合意されたことを受け、IUCLIDシステムにRobust Summary styleを導入する方法についても検討を行うことを目的としている。

本会議では、まず最新版のIUCLIDシステムの現状とOECDのHPV Chemicals Programmeへの適用の可能性についての紹介が行われ、総論的には参加者の中ではIUCLIDシステムをDossierレポート作成のツールとして使う有用性については確認された。

Robust Summary styleの導入について、事務局側から会議の直前にIUCLIDとRobust Summary中の項目の比較表が提出された。しかし、会議直前での準備のためか資料はまだ未整備であり、後日修正されたドキュメントに対し詳細な検討を行うことになった。

今後の計画としては、IUCLIDの使用に関して、特にBIAC側からトレーニングプログラムを行ってほしい旨の意見が出された。EC側からは、今後数ヶ月以内をめどに

トレーニングコースのプランを提示するとのことであった。また、最新版のIUCRIDシステムのプログラムCDはバグのフィックスの終了後、今回の出席者全員に配布され、各国でバリデーションを行う予定である。

会議名：第9回医薬品規制当局国際会議 (ICDRA)

出席者：審査第一部 高田幸一

開催場所、時期：ベルリン、ドイツ、1999年4月26日～29日

参加者内訳、人数：世界100カ国余の医薬品規制当局代表(各国1～10名)、WHO本部、ICH事務局代表など約200名

会議内容：医薬品規制当局国際会議 (ICDRA: International Conference of Drug Regulatory Authorities) は1980年から始まり、2年に一度定期的に開かれる会議でWHOが主催し、世界各国の医薬品規制当局代表者が参集し、各国が抱える問題点、医薬品行政の成果等を共有するための会議である。現在までに米、伊、スウェーデン、日、仏、加、オランダ、バーレーンの順に開催されてきた。今回の会議は4日間で種々のテーマ別に講演及び討議が行われ、日本からは①厚生省機構改革について、②ICHの過程・哲学・未来について、③CTD報告(安全性領域)、④抗生物質と耐性菌問題、⑤高齢者・幼児・妊娠可能女性における臨床試験について等の講演及び討議を行った。高田はCTD報告のうち、安全性領域を担当し、これまで3回の会議における経過及び成果について報告した。すなわち安全性領域の範囲については薬理、薬物動態及び毒性を含むこと、Table of Contentsについては試験項目の記載順序、Executive Summaryについては薬理・薬物動態・毒性試験を一体化し臨床評価に反映させるもの、Written Summaryについては各分野の要約並びに個々の試験の要約を記載すること、Tabulated Summaryについては詳細度別にレベルAからレベルDまでに分けること等を報告した。

会議名：ICH-CTD関連会議

出席者：審査センター 佐藤岳幸(品質)

鹿野真弓(品質)

高田幸一(安全性)

審査管理課 成川 衛(有効性)

開催場所、時期：ワシントン、米国、1999年10月4日～8日

参加者内訳、人数：日米欧三極の薬事規制当局及び製薬団体関係者約75名

会議内容：CTDは品質、安全性及び有効性の分野があり、個別に検討が成されている。品質については化成品とバイオテク薬の2グループに分かれて検討されている。TOCがstep2として合意された。またTOCについてより詳細な情報が必要であると判断された9個の項目については追加説明文書を添付することとされた。また、Step 2として合意されたTOCについては、追加説明文が必要と判断された9分野を除いて、意見聴取のため公表された。各極の医薬品承認申請のタイミングについての類似点、相違点が議論され、CTD-Qが取り扱うデータの範囲は化成品についてはパイロットスケールであるとされた。安全性に関しては、①試験項目の記載順序、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、③毒性試験については記載事項の詳細度の重み付け、④薬理、薬物動態試験については柔軟性を持たせた形にすることが合意され、Step 2となり、意見聴取のため公表された。有効性に関しては、①添付資料の配列順に関するガイダンスについてStep 2の合意に至った。これについては、Q及びS

の文書と合わせて1999年12月に意見聴取のために公表された。②Written Summary作成のガイダンスについては、前回までの検討結果を踏まえた新たなバージョンについて継続的に検討がなされ、一応の形が整う段階にまで来た。③Executive Summaryの位置付けについては、開発の経緯、重要なデータの要約、外国での開発状況、リスク/ベネフィットなどの情報をコンパクトにまとめるハイレベルのサマリーとすることで合意し、その作成のためのガイダンスの作成にとりかかった。

会議名：セルフメディケーションに用いられる一般用医薬品の評価に関するガイドラインについての非公式会合

出席者：審査第三部 小笠原弘道

開催場所、時期：ジュネーブ(スイス)、平成11年4月13日～4月18日

参加者内訳、人数：WHO、並びに日本、米国、イギリス、インドネシア及びウガンダの薬事規制当局8名、製薬団体関係者4名

会議内容：標記ガイドラインについて、草案に基づいて検討を行った。草案においては、例えばヒスタミンH2受容体拮抗薬及び非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)等が世界各国において処方箋薬の位置づけから非処方箋薬(over-the-counter, OTC)へと移行している状況を踏まえて、規制当局はいかなる医薬品を有効かつ安全に非処方箋薬へと転換することが適切か検討する必要があると分析し、その上で、本ガイドラインの目的を規制当局が各国の状況に基づいてセルフメディケーションに用いるに相応しい医薬品を決定する際の基準及び手順を提唱することであるとしている。ガイドラインは1.Introduction、2.General principles、3.General basis for regulatory assessment、及び4.Collection and regulatory assessment of evidence of medical products for self-medicationsの4章からなり、別添としてセルフメディケーションに用いられる医薬品に必要な情報提供の雛型が示されている。本草案については、今後WHOのExpert Committeeに諮られ、さらに議論される予定である。

会議名：「国際的視点からの血液安全政策に関する血液科学学会」準備会合

出席者：企画調整部 田宮憲一

開催場所、時期：ジュネーブ(スイス)、1999年11月16日～11月18日

参加者内訳、人数：オーストラリア、カナダ、フランス、ドイツ、日本、イギリス、アメリカ、WHOの血液行政関係者14名

会議内容：世界各国で行われている血液安全対策の現状についてまとめ、世界的な協力を促進することを目的とした会議を開催することの必要性から、1999年6月にWHO、フランス等を中心に第1回準備会合が開催された。今般、2回目の準備会合を開催するに当たり、WHOより日本に対して出席の要請があったものである。

本準備会合では、会議全体の趣旨として、以下の3点が確認された。(1)世界各国で実施されているa) 供血者に関連した安全対策、b) 血液製剤に関連した安全対策、c) 血液製剤を用いた患者に対するケアに関連した安全対策について、そのrisk/benefit、cost-effectiveness等をreviewし一覧としてまとめた合意文書を作成することにより、世界的な情勢、現状を把握するとともに、世界各国、特に開発途上国における血液安全行政の方針決定の一助とすること。(2) 合意文書は世界各国の血液安全行政の担当当局向けのものであること。(3) どのような血液安全行政の施策を採

るかは各国の事情に合わせて決定されるべきであり、合意文書は決して何らかの施策を各国に強要するような性格のものではないこと。

また、併せて翌年3月の第1回本会議に向けて詳細なプログラムが検討された。

会議名：国際的視点からの血液安全政策に関する血液科学会議

出席者：企画調整部 田宮憲一

開催場所、時期：ジュネーブ（スイス）、2000年3月27日～3月30日

参加者内訳、人数：アルゼンチン、オーストラリア、カナダ、フランス、ドイツ、インド、日本、マレーシア、ロシア、南アフリカ、チュニジア、イギリス、アメリカ、ジンバブエ、WHOの血液行政関係者及び専門家約45名

会議内容：前年11月の準備会合で決定された三つのテーマ（供血者に関する問題、製剤に関する問題、患者ケアにおける輸血用血液製剤の使用）について、先進国及び途上国における安全な血液確保のための取り組みの現状が報告された。また、テーマ毎に三つ～四つの重要な問題点（供血者の確保、感染症の脅威等）を挙げ、それぞれの分科会を設け、考えられる対策及びそのrisk/benefit、cost-effectiveness等について検討した。

当初、本会議の成果をもとに各国の大臣クラスを招いた2回目の会議を7月に開くこととされていたが、時間的制約等から今回の会議では全ての問題点を網羅出来ず、また、各施策について踏み込んだ内容のレポートを作成することは困難であることが指摘された。したがって、第2回目の会議の開催は延期となり、その代わりに血液の安全確保のための施策を決定する際の一般的な方法論（Conceptual Framework）について議論を詰めていくこととされた。

今後は、WHO事務局が専門家会議の開催の必要性も視野に入れつつConceptual Frameworkの取りまとめを行うこととなるが、現段階のドラフトは内容に乏しく、大臣クラスの会議の必要性、目的等については慎重に検討していく必要がある。

会議名：医療用具規制国際整合化会議（GHFT）SG1

開催場所、時期：ロンドン（英国）MDA庁舎内会議室
平成12年3月21日～23日

出席者：審査第四部 伏見環、井出勝久

参加者内訳、人数：日米EU豪加の医療機器規制当局及び医療機器関係団体関係者 計17名

会議内容：主要点は以下のとおり

①医療用具のclassificationとその用具に対する規制は相関することから、従来検討してきたclassificationのdocumentと用具の評価、規制のあり方（regulatory conformity assessment）は今後一つの文書としてまとめることとされた。

②SG1の前の週にバーゼルで開催されたISO/TC194会合で医療用具GCPに関する議論が行われたことを受けて、GHFTとして今後医療用具の臨床評価この分野でどのような検討を進めるべきか議論が行われた。結果、医療用具の市販前の評価にあたって「どのような場合に臨床データが必要か」及び「臨床に関する資料はどのような特徴を備えているべきか」について検討を進めることとされた。

③現行のSummary Technical File Guideline案に基づいて作成された、3つの品目に関するSTFが事前に5つの規制当局に送付されており、会議では規制当局からのコメントについて検討が行われた。その結果、現行のSTFGuideline案

をさらに修正することとされた。

会議名：GHFT本会議

開催場所、時期：ワシントンD.C.（米国）NIH（Natcher Building）

平成11年6月29日（火） 8:30～17:30

出席者：審査第四部 中村晃忠、木下勝美

厚生省 俵木登美子、長谷部和久、佐藤岳幸、長谷川浩一、剣持和弘

参加者内訳、人数：日米EU豪加の薬事規制当局及び医療機器関係団体関係者（メインテーブル）ほか、総計26ヶ国から、総勢156人の参加者が出席

会議内容：

1. 各SGからの各作成文書の進捗状況についての報告があった。SG1からSG4までの各SGで最終的なところまで作成が進んだ文書が採択された。

2. SG3は品質に関する議題を取り扱っていること、特にGHFTからのアウトプットは行政側のニーズを反映したものであるという観点からもGHFTとISO TC210との連携は、支持されるべきとの意見があった。

3. 一般的な行政的・科学的事項に関する意見交換について

(1) ブラジルが南米MERCOSUR諸国の医療機器規制について発表。

(2) シンガポールがAPEC諸国内でのGHFTの成果物の利用に関するワーキンググループを発展させたいとの発表を行った。スポンサーを探していること、正式にSGにオブザーバー参加したい等の意見があったが、会場からの反応はなかった。

(3) 中村部長から、細胞・組織利用医療用具についての認識、技術的な集積からICHでの議論がふさわしいこと、10月にICHで提案することの発表を行った。EUの業界から、現在業界でも「RAPS」のグループでこの件を議論しており、慎重に連携をとってほしいとの意見があった。なお、「RAPS」の会議は、10月にワシントンで開催される予定とのこと。

(4) 欧州の業界代表からは、公衆衛生に配慮しつつも同一医療機器のGHFTのコア地域内での同時期流通のためには、規制の相互性が目標との展望が発表された。

(5) PAHO/WHO米国地域事務局の南米地域に対する規制やガイドライン等の支援活動、放射線治療用具のガイドライン等について紹介された。

4. GHFTとISO TC210との協力関係について

ISO TC210における医療機器に関する品質規格の作業とGHFTの作業が重複なく、特にSG3と協力関係の下に進めていけるように覚え書きがGHFT議長とISO TC210のRobert Allen議長との間でサインされた。現在、ISO TC176で行われているISO 9001（全産業を対象）の2000年に向けた改正作業は、医療機器業界以外の圧力が強く、特にISO TC176での改正の議論が他業界主導で行われ、TC210の行っているISO 13485（医療機器の品質システム）の改正作業に影響を及ぼすものとの危機感を持っているため、GHFTの観点を改正に反映させるためにも、TC210がGHFTに正規の出席権を与えることとしたものである。

5. 「GHFT作業手順書」について

(1) いままでの議長諮問会議の中での議論を踏まえ、議長の米国が「GHFT作業手順書」案を提出した。この「GHFT作業手順書」として、GHFTの枠組み、メンバー、運営委員会等の役割、文書採択規定を定める

ことには意義があり、賛同をえた。

(2)「GHTF作業手順書」について、欧州委員会をはじめ多くのコメント(主に運営委員会の議席数、運営委員会メンバーが、)がよせられ、詳細については議論の必要があり、Ad hocグループの設置が了承され、9月27、28日にオタワで開催されることとされた。メンバーは、5ヶ国・地域の行政及び業界代表から一人ずつとし、8月1日までにカナダの議長にノミネートした人物を連絡することとされた。その他議長からオブザーバーも受け入れる提案がなされた。

(3)また、「GHTF作業手順書」のうち、今回の第8回総会までの間に「文書採択規定」の部分が「暫定文書採択規定」として、利用されることとなった。「暫定文書採択規定」により、文書のドラフトの意見聴取のステップから採択までのステップはこれに従い、手続きを進められることとなり、次回総会を待たずに行政側のサインにより採択できることとなった。また、課題の採択の優先順位や運営委員会での採択の手続きも重要であり、「暫定文書採択規定」においても実施すべきとの当方の提案については、今後のAd hocグループの中で議論されることとされた。

(4)また、業界側からは、文書の採択のサインが行政側のみであり、最終段階での業界の確認ができないことに対する不満の意見もあった。また、行政側はサインすることでその文書の施行を約束するという意味でないという趣旨が確認された。

6. 次回のGHTF総会の開催について

次回第8回総会は、オタワで平成12年9月の最終週に開催されることとなり、今回の総会后に議長国がカナダに交代する。

会議名：GHTF SG1 会議報告

開催場所、時期：ワシントンD.C.(米国) NIH (Natcher Building), 平成11年6月30日(水) 9:00 ~ 17:30

出席者：審査第四部 中村晃忠, 木下勝美

厚生省 俵木登美子, 佐藤岳幸, 長谷川浩一

参加者内訳、人数：日米EU豪加の薬事規制当局及び医療機器関係団体関係者のほか、キューバ、ハンガリー、メキシコ、タイから、総勢約30人の参加者が出席

会議内容：

1. GHTF Plenary 会合の報告

前日のPlenary会合の報告が行われ、Essential Principleの文書が最終文書となったこと、Role of Standards, Classification及びLabellingに関する文書がステップアップしてProposed Documentとなったことが確認され、Proposed Documentsとなった3文書については、9月中旬までをコメント期間として意見を求め、10月の東京会合で寄せられたコメントについて検討を行うこととされた。

2. Summary Technical File

EU業界から、当該文書の意義について疑問が呈され、特に中小企業にとってはこれに従って果たして申請書が作成できるのか心配だとの声があがった。これに対し、米業界からは、そもそもこの文書は各規制当局の申請書への記載要求事項が異なることからその実状を調査し、共通なものを作り上げて申請手続きの簡素化を図ろうとするもので、意義のあるものだとし、医療用具のクラス分類に応じて記載内容の詳細さが異なることをもう少し明確に記載するよう解釈的なコメントをそれぞれの項に付していけば、中小企業にもわかりやすいものになる、との意見があっ

た。

このため、9月にも5~6名のチームによる作業を行うこととされた。

3. Summary Technical FileのPilot Project

3~5種のクラス分類の異なる医療用具について、STF第1部(各国共通要求事項部分)に従って申請資料を作成することとし、以下の2段階ステップによる作業に入る方針が確認された。

第一ステップ

①参加企業を募り、参加企業は、既認可医療用具について、STF第一部に基づき、申請資料案を作成する。

②作成した申請資料案をSG1へ提出する。

③参加企業が実際の資料作成作業の実施を踏まえた、STFについてのコメントを提出する。

④各規制当局へ当該申請資料案を送付し、審査資料として受け入れ可能な内容であるか否かについて評価する。この際、内容についての科学的な評価はしない。

⑤評価結果をSG1へ提出する。

第二ステップ

企業の作成時コメント、規制当局の評価結果を踏まえ、必要によりSTFを改訂する。

2000年9月のGHTF Plenary会合までに、このステップを終了することが目標とされた。

4. 「医療用具」の定義

議長を含めた数名のチームで作成された「医療用具」の範囲についての共通認識案(別紙1)について議論され、各国規制による共通部分をコアとして医療用具の基本定義とし、各国規制により医療用具になる場合とならない場合がある以下のようなものについては、その旨付記することとされて、共通認識案が確認された。

- ・体外診断薬
- ・福祉機器
- ・動物用用具
- ・スペアパーツ
- ・ヒト動物由来製品

また、当該共通認識案は、各種GHTF文書の理解のための共通認識を提示するものであって各国規制の定義に影響を与えるものではないことが確認され、趣旨を明記することとされた。

5. 臨床試験のガイドライン

豪TGAより、臨床試験に関連した文書が提示されたが、臨床試験については、ISO/CENでの検討が進められていること、EUのNBのガイダンス文書が作成されていることについて情報提供があったほかは、特に議論とはならなかった。

6. Concept of MD Regulatory System and Components

米国業界より、医療用具の開発から製造中止までのライフサイクルについて、設計管理からPMSまでのサイクルの各段階とSG文書の関係について概念整理のフロー図が提示され、特に議論なく、理解を得た。(なお、このフロー図(別紙2)については翌日の公開会議で提示された。)

7. 次回会合

1999年10月13日~15日 日本(東京)

2000年2~3月頃 ブラッセル

会議名：GHTF SG1 公開会合報告

開催場所、時期：ワシントンD.C.(米国) NIH (Natcher Building), 平成11年7月1日(木) 9:00 ~ 15:00

出席者：審査第四部 中村晃忠, 木下勝美

厚生省 俵木登美子, 佐藤岳幸, 長谷川浩一

参加者内訳、人数：日米EU豪加の薬事規制当局及び医療機器関係団体関係者のほか、キューバ、メキシコ、ブラジル、韓国、中国、タイ、マレーシア、台湾、シンガポール、キューバ、ハンガリー、メキシコ、タイから、総勢約40人の参加者が出席

会議内容：

1. SG1文書の紹介

これまでに作成されたSG1文書として、Essential Principle, Role of Standards, Classification, Labellingの各文書について、背景等について議長及びMDA長官ケント氏より紹介され、併せて、「医療用具」の定義についての共通認識案及び規制システムのフロー図（別紙2）について紹介された。

これに対し、質疑が行われ、Role of Standardsに関連してISO/TC210が作成中の基本要件に対応するStandardsの選定作業との関係について、及び医療用具の定義に関連して医薬品とのコンビネーション製品の取扱いについて質問があった。前者については、ISO/TC210の作業はSG1が作成したEssential Principlesへの適合性を示すために利用できる具体的なStandardsの選定を行っているものであること、後者については、医薬品とするか医療用具とするか判断の難しいケースがあるが、物理的作用によるものなのか、薬理作用によるものなのかにより判断することとなろうこと、医薬品規制当局との連絡をよく取るようにすることが必要なこと、等の意見があった。

2. 各国からの現状報告

マレーシア、タイ、韓国から各国の医療用具規制に関する簡単なプレゼンテーションが行われ、マレーシアからは、現在医療用具規制制度の導入を検討中であること、タイからは1988年に規制制度が導入されていること、韓国からは、1997年の通知改正で、3つからなるクラス分類制度の導入、GMPの導入等が行われたことが報告された。（韓国の認証制度は、KTL（韓国試験検査所）によるGMP査察、KTLを含む7つの試験検査施設による全製品についてのタイプ試験の実施と、KFDA（韓国食品医薬品庁）による臨床評価等の最終承認審査という3段階審査により認証が与えられており、KTL等の検査は30日、KFDAの承認審査は10日で行われているとのこと。）

また、シンガポールから、GHTFの成果はアジア諸国にとって極めて有益であり、最終文書の配布だけでなく、実際の討論を聞き、問題の背景、各規制当局の考え方を知る機会を与えてほしい（つまりは、各SGへのオブザーバー出席）旨の発言があった。

会議名：医療用具の原材料規定に関する会合

開催場所、時期：ワシントンD.C.（米国）NIH（Natcher Building）、平成11年7月1日（木）15:30～17:00

出席者：審査第四部 中村晃忠、木下勝美

厚生省 俵木登美子、佐藤岳幸、長谷川浩一

参加者内訳、人数：日米EU豪加の薬事規制当局及び医療機器関係団体関係者のほか、キューバ、メキシコ、韓国から、総勢約30人の参加者が出席

会議内容：

1. 問題提起

米国HIMAハルバーソン氏より、原材料成分についての情報が原材料メーカーから得られないという問題について、実態が提示された。

2. 議論

中村部長から、現在検討されている我が国の原材料規格ガイドラインの内容についてプレゼンテーションが行われたほか、FDA Dr.GanttからMaster File制度について紹介され、EUNBからは、医療用具製造業者と原料業者の契約書の提示を求めていること、場合によっては原料業者からの直接の情報提供も受けていることが紹介された。

・FDAのマスターファイルについては、必ずしも活用されていないのではないか。

・詳細な成分情報については必ずしも医療用具の安全性評価に必要ではなく、最終製品による生物学的安全性試験データの評価により十分担保できるのではないかと。

・日本では生物学的安全性試験データとしてISO10993に従った試験データを必ずしも受け入れていないことは問題だ等の議論があったが、特段の結論には至らず、次回SG1会合で継続されることとなかった。

会議名：GHTF SG4会議報告

開催場所、時期：ワシントンD.C.（米国）NIH（Natcher Building）、平成11年7月1日（木）15:30～17:00

出席者：審査第四部 木下勝美

参加者内訳、人数：日米EU豪加の薬事規制当局及び医療機器関係団体関係者のほか、キューバ、ブラジル、韓国、中国、台湾、シンガポールから、総勢約30人の参加者が出席

会議内容：

1. アレン議長より、現在までに作成してきた「言語要求事項」、「監査日数の査定」、「MRA信頼性醸成監査報告書」、「監査戦略」、「MRA対応立会監査指針」及び「監査記録文書の編集」について、各文書に対し寄せられている各方面よりのコメントの確認し、それらを審議した。

2. 監査アプローチに対するEU、米国間のギャップ（監査員としての経験上の差や監査員の資格、認定基準の格差）とその整合性確保の必要性が指摘され、議論された。

3. ISO TC210の議長でもあるアレン議長より、2000年より導入されるISO9000シリーズ、品質システム規格の導入に伴う問題点と解決策について説明があり、GHTFとISO TC210間の協力の必要性が強調され、意見交換が行われた。

4. GHTFの対SG4委任事項について、SG4の行っている監査に関する作業は、日、米、欧、加、豪以外の国々の監査の実情にも影響を与えると考えるため、それに配慮した文章に修正することが提案され、本会議においても了承された。

5. 議長がオブザーバーとして参加した、中国、韓国、台湾、シンガポール、キューバ、ブラジルよりの代表者にも積極的に議論に参画するように求めたため、メンバーのみでの監査戦略、MRA信頼性醸成対応立会監査や監査報告書等の整合化問題について十分討議する機会が多く得られず、今後のSGの運営について考慮が必要と思われる。

6. 次回は、本年10月13日（水）から15日（金）の日程で、アイルランドのダブリン市内にて開催することとなった。

会議名：ICHコモンテクニカルドキュメント専門会議

出席者：審査第一部 佐藤岳幸

審査第三部 鹿野真弓

開催場所・時期：英国ロンドン、平成12年7月18日～24日

参加者内訳、人数：日米欧州の薬事規制当局及び日米欧州の製薬団体 合計約30名

会議内容：1999年3月ブラッセルにおける専門会議 (EWG) において、コモンテクニカルドキュメント (CTD) の中心をなすデータ項目の配列表 (TOC: Table of Contents) の作成が第一の目標として掲げられたが、ロンドンにおける専門会議では、このTOCを構成するPart, Data, Module, Reference to ICH Guideline等の内容を確定する作業を行った。TOCは、PartをS (Drug Substance), P (Drug Product), O (Other Information) 及びA (Appendices) の4つにわけて、それぞれについてData Module及びReferenceを付けている。この確定した各事項を10月に開催されるワシントン会合において再確認することとされた。

会議名：国際標準化機構第194技術委員会
出席者：医薬品医療機器審査センター審査第二部
小野俊介
開催場所、時期：Helsingor (デンマーク), 平成11年5月17日-21日
参加者内訳、人数：各国 (FDA, EU) の規制当局 (医療用具) 担当者等, 20名

会議内容：医療用具の臨床試験に関するGCPの国際標準の作成を目指す委員会がISO/TC194である。医療用具のGCP基準は既にISO14155なる文書が存在するが、近年の医薬品分野における標準化文書ICH-GCPの内容等を踏まえつつ、かつ医療用具の開発に独自の問題を織り込みつつ、この文書を発展させて国際標準の位置づけにまで高めようという試みが今回の会議の大きな目的であった。

今回の会議はそのための具体的な最初の動きであり、完全な最終テキストには至らなかったが、各極の抱える固有の問題点等がはっきりしたこと等の成果があったと思われる。

会議名：ICH原薬GMP専門家会議
出席者：大阪支所薬品試験部 岡田敏史, 谷本 剛
開催場所、時期：ワシントンD.C. (米国), 1999年10月4日~7日
・東京 (日本), 2000年2月28日~3月2日
参加者内訳、人数：日米欧の医薬品規制当局及び製薬団体関係者, 約25名

会議内容：原薬GMPガイドライン (Q7A) 策定のための討議が行われた。ワシントン会議では過去4回の専門家会議に基づいて作成されたドラフト5について全体的内容、本ガイドラインの適用範囲及び適用段階、バイテク関連医薬品への適用等について討議した。東京会議ではワシントン会議の結果及びその後の各極のコメントを受けて作成したドラフト6について、全20章の各項にわたり検証し、主な修正箇所として、次の事項について合意された。

- (1) バイテク関連医薬品への本ガイドラインの適用段階はWorking Cell Bankの保守・管理以降とし、古典的発酵によるものは本培養以降とすること。
- (2) 記録は電子媒体も利用できること。
- (3) Blending processesの必要事項を明確にしたこと。
- (4) 標準品の供給元の記録の保存、及び公的機関からの入手が困難な標準品の製造に関する要求事項の明文化。
- (5) 試料の保存期間を明記すること。
- (6) 18章の表題を「Specific Guidance for APIs Manufactured by Cell Culture/Fermentation」に改め、前17章でカバーされていない特別事項を規定すること、及び本章の対象は主にバイテク医薬品であるが、古典的発酵で製造されるもの (抗生物質等の製造) も対象に含まれること。ただし、両者は区別して明記すること。

(7) 治験用既存原薬の有効期限、再評価期限は11章6項を適用し、新薬の臨床治験前の段階では11章6項を適用しないこと。

東京会議では、これらを修正した後のドラフト7を3月17日迄に各極に配布し、その後4月15日迄にPostal Sign-offし、ステップ2に進めるが確認された。

会議名：第12回カリフォルニア残留農薬ワークショップ
出席者：食品試験部 外海泰秀, 石光 進
開催場所、時期：米国 平成12年3月25-31日
参加者内訳、人数：諸外国の農薬分析技術者, 300人
会議内容：当ワークショップはカリフォルニア農務省 (CDFA) のCenter for Analytical Chemistryが事務局となって州都サクラメントを中心に毎年開催されているもので、通常国際学会とは異なり実務担当者が多く集まるのが特徴である。会議内容は各国における農薬残留の規制状況、分析法及びモニタリング結果の報告やGC/MS, LC/MS, Retention Time Rockingなどの最新技術情報、さらにMethod DevelopmentのHands on Trainingなど、農薬に関わるあらゆる問題について論議が行われた。

会議名：偽薬に対する監視等のワークショップ
出席者：谷本 剛 (支所薬品試験部)
開催場所、時期：マニラ (フィリピン), 1999年12月5日~11日

参加者内訳、人数：ブータン (1), カンボジア (1), 中国 (1), インドネシア (1), ラオス (1), マレーシア (1), モルジブ (1), モンゴル (1), ネパール (1), スリランカ (1), タイ (1), ベトナム (1), フィリピン (15), ベトナム (1), フィリピン (15), 日本 (1), WHO (1)

会議内容：WHOは開発途上国での安全な医療供給の一つの柱として偽薬の流通阻止対策を取り上げ、偽薬監視の重要性の啓蒙、偽薬の簡易鑑別法の作成、偽薬鑑別技術の普及及び技術移転などを実施している。このWHOプロジェクトの一環として、偽薬対策に関心をもつアジア開発途上国の薬事監視担当官に対して偽薬鑑別のための技術指導、偽薬監視のための実地研修を行った。今回のワークショップでは比国政府及びBFADの協力により正規の薬事検査命令に基づく立ち入り検査に参加者を臨時薬事監視員として同行させることができ、薬事監視の実態並びに収去検体の自らの鑑別試験を研修させることができた。

主な研修内容は次の通りである。

- (1) 東南アジア地域における偽薬の現状とモデル国での偽薬対策に関する講義 (担当：WHO)
- (2) 不正医薬品鑑別法マニュアル "Rapid Examination Methods against Counterfeit and Substandard Drugs"を用いた偽薬、不良医薬品の簡易鑑別法の講義 (担当：日本)
- (3) 偽薬鑑別技術の実験室指導 (担当：日本, 比国BFAD)
- (4) 薬局, 病院, 工場, マーケット等への立ち入り検査 (比国BFADの正式命令に基づく立ち入り検査)
- (5) 収去検体の試験 (参加国担当官)

会議名：第12回カリフォルニア残留農薬ワークショップ
出席者：大阪支所食品試験部 外海泰秀, 石光 進
開催場所、時期：米国, 平成12年3月25日~31日
参加者内訳、人数：諸外国の農薬分析技術者, 300人
会議内容：当ワークショップはカリフォルニア農務省 (CDFA) のCenter for Analytical Chemistryが事務局となっ

て州都サクラメントを中心に毎年開催されているもので、通常の国際学会とは異なり実務担当者が多く集まるのが特徴である。会議内容は各国における農薬残留の規制状況、分析法及びモニタリング結果の報告やGC/MS, LC/MS,

Retention Time Rockingなどの最新技術情報、さらにMethod DevelopmentのHands on Trainingなど、農薬に関わるあらゆる問題について論議が行われた。

第417回 (平成11年7月13日)

1. 超音波照射によるヒアルロン酸の低分子化
薬品試験部 宮崎玉樹
2. 酵素処理カンゾウの甘味成分について
食品添加物部 劉宏民
米谷民雄
3. 新規麻薬2C-B及び代謝物の血液、尿、毛髪への分布について
薬品部 坂本知昭
中原雄二
4. p53による組換え修復制御と染色体安定化機構
変異遺伝部 本間正充

第418回 (平成11年9月14日)

1. P53欠失マウスを用いたベンゼン暴露による発ガン研究
毒性部 川崎靖
2. ラット28日間反復投与試験法“OECD Guideline 407 enhanced”確立のためのFlutamideを用いた予備的検討
病理部 豊田和弘
3. DHPNを用いたラット鼻腔二段階発癌モデルにおけるxylazineとその代謝物2,6-dimethylamineの鼻腔腫瘍プロモーション作用の検討
病理部 梶谷高敏
三森国敏
4. 天然保存料の有効成分
食品添加物部 杉本直樹
5. 遺伝子型に基づいた新しい突然変異検出法の確立とその応用
変異遺伝部 鈴木孝昌

第419回 (平成11年10月12日)

1. Spindlepoisonによる遺伝子突然変異誘発機構
変異遺伝部 百瀬真希
本間正充
林真
2. γ 線照射PLLAの骨分化に及ぼす影響
療品部 伊佐間和郎
3. 天然着色料中の主色素成分及び不純物の分析
食品添加物部 佐藤恭子

第420回 (平成11年11月9日)

1. 療品部におけるネットワークコラボレーション
療品部 伊佐間和郎

2. 天然添加物酵素処理ルチン(抽出物)及び酵素処理イソクエルシトリンの成分分析
食品添加物部 秋山卓美
3. 亜硝酸と抗酸化剤の複合投与によるラット前胃への影響
病理部 宮内慎
西川秋佳
広瀬雅雄
4. Xylazineのラット甲状腺発癌プロモーション作用とそのメカニズム
病理部 安原加壽雄
5. 過去の毒劇物事件等に関する調査と分析
化学物質情報部 山本都

第421回 (平成12年2月8日)

1. 薬剤反応性の個人差に関連する遺伝子多型について
薬理部 小澤正吾
2. 遺伝子解析技術の進歩とToxicogenomics
変異遺伝部 鈴木孝昌
3. 遺伝子の一塩基多型とPharmacogenomics
国立小児病院 小児医療研究センター
小児薬理研究部 辻本豪三先生
4. ヒト試料の取扱倫理
変異遺伝部 増井徹

第422回 (平成12年3月14日)

1. 上皮細胞の創傷治癒機構の解析: 増殖停止関連遺伝子eti-1の構造と機能
変異遺伝部 増井徹
高田容子
2. ラット28日間反復投与毒性試験法(OECD TG407)を基礎とした内分泌かく乱物質検出法の確立-17 α -メチルテストステロンを用いた予備的検討
病理部 中村英明
今沢孝喜
広瀬雅雄
3. レスベラトロールのDNA切断活性
有機化学部 福原潔

支 所 例 会

第164回(平成11年6月22日)

1. 薬用生物資源のリーシュマニア症への活用に関する研究
薬品試験部 小出 達夫
2. 食品中フタル酸エステル類の試験法の検討
食品試験部 津村 ゆかり
3. HPLCによる農作物中エマメクチン(殺ダニ剤)及びその類縁化合物の一斉分析法の検討
食品試験部 吉井 公彦

第165回(平成11年9月28日)

1. 天然伝承薬物が示す生体調節機能への科学的アプローチ～トウダイグサ科 Euphorbia 属植物中のタンニン成分～
食品試験部 天倉 吉章
2. ラット胎児の性分化に及ぼす可塑剤 di-n-butylphthalate の影響
生物試験部 江馬 眞
3. ラットにおけるトリブチルスズ妊娠初期投与による胚致死作用：トリブチルスズの脱落膜反応に与える影響
生物試験部 原園 景

第166回(平成11年10月26日)

1. 医薬品分析における試験所間比較による技能試験－平成10年度の薬剤師会検査センター等52機関における実施結果－
薬品試験部 四方田 千佳子
田頭 洋子
2. 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
薬品試験部 前川 京子
3. 5種アゾ系タール色素中の未反応原料, 反応中間体及び副成色素のスクリーニング法の検討
食品試験部 辻 澄子

第167回(平成10年12月21日)

1. 酸性多糖とドキシサイクリンによる複合体形成
薬品試験部 宮崎 玉樹

2. 合成着色料のタンパク質に対する光増感作用に関する検討
食品試験部 石光 進
3. 大豆及びその加工食品中のイソフラボノイド含量及びこれら的大豆由来食品より算出した日本人のイソフラボノイド1日摂取量について
食品試験部 中村 優美子

第168回(平成12年1月25日)

1. 日局一般試験法(理化学的試験法)改正の動向
支所長 岡田 敏史
2. 生物検定法の理化学的試験法等への代替とその局方への取り込み
薬品試験部 谷本 剛
3. HPLCによるベンタゾン、イナベンフィド及びフルスルファミドの簡易・一斉分析法
食品試験部 外海 泰秀
4. 遺伝子の制御領域の外来オリゴヌクレオチドとの三重鎖形成能－遺伝子治療の一方法として－
生物試験部 田中 寿一

第169回(平成12年2月22日)

1. Titration Calorimetryによる脂質－アポリポ蛋白質相互作用の解析
薬品試験部 斎藤 博幸
2. 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4報)－Cdc2活性抑制機構およびサイクリンE/Cdk2下流の細胞周期制御因子について－
生物試験部 村井 敏美
前田 秀子
3. 培養NCマウスケラチノサイトにおけるiNOSの発現に関する研究
生物試験部 天野 博夫

特別講演会

- 11年7月16日(金)
うま味感受性ニューロンとその生物学的意義
—ERATO研究から—
味の素(株)中央研究所基盤研究所長
科学技術振興事業団鳥居食情報調節プロジェクト
(ERATO)代表 鳥居邦夫
- 11年7月23日(金)
“Novel Plant Allergens”
Head, Laboratory of Immunobiology, National Public
Health Institute, Finland
Research Professor Dr. Timo Palosuo
- 11年7月27日(火)
Current Work Priorities of the OECD's
Current Work Priorities of the OECD's Environmental
Health and Safety Research
Lesley Onyon, BSc., MSc (Tox)
- 11年8月31日(火)
ER beta- a new dimension in understanding of estrogen action
Chairman, Department of Medical Nutrition, Director,
Center for Biotechnology, Karolinska Institutet
Professor Jan-Ake Gustafsson, M.D., Ph.D
- 11年11月9日(火)
細胞接着によるサイトカイン産生とアポトーシスの制
御
共立薬科大学 笠原 忠 教授
- 11年12月6日(月)
Estrogen Receptor Knockout Mice: Endocrine and Molecular
Phenotypes
Scientific Program Director, Chief Lab. Reprod. Develop.
Tox. National Institute of Health/NIEHS
Kenneth S. Korach, Ph.D.
- 11年12月13日(月)
Differential Interaction of the Methoxychlor Metabolite
HPTE with Estrogen Receptor α and β
Scientist II, Chemical Industry Institute of Toxicology
Kevin W. Gaido, Ph.D.
- 11年12月14日(火)
Molecular Basis of Endocrine Disruptor –Estrogen Receptor
Interactions: A Specie Comparison
Assistant Professor, Department of Biochemistry and
National Food Safety & Toxicology Center, Michigan S U
Timothy R. Zacharewski, Ph.D.
- 12年1月20日(木)
DNA損傷における塩基配列特異性とその意義(仮)
三重大学 医学部 川西正祐 教授
- 12年1月26日(水)
Pharmaceutical regulation in an ere of rapidly advancing sci-
ence
Office of Testing and Research; Center for Drug
Evaluation and Research; Food and Drug Administration
James T. MacGregor, Ph.D.
- 12年2月22日(火)
ヒトY染色体の構造と機能
徳島大学 医学部公衆衛生学教室 中堀 豊 教授

支所特別講演会

平成11年11月30日
「ダイオキシンによるマウス発生毒性発現機構」
広島大学医学部解剖学第一教室 山下 敬介

平成11年度に行った主な研究課題

Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 1999

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 rapid 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. 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
2. 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)
Studies on the application of telomere length and telomerase activity for risk assessment of chemicals and irradiation
3. 生薬の電子線滅菌ならびに遺伝子解析法を主体とした照射生薬の検知法に関する研究 (生薬)
Studies on the electron-beam sterilization of crude drugs and the detection methods for irradiated samples using gene analysis
4. 照射食肉等の検知法に関する研究 (食品)
Study on Detection procedures for Irradiated Frozen Foods
5. 新規グルココルチコイド受容体の検索及びその臨床応用に関する基礎的研究 (生物)
Study on newtype of glucocorticoid receptor and its clinical application
6. 低線量放射線による微生物毒素産生能の低減化に関する研究 (衛微)
Effects of gamma irradiation on toxin production by food-borne pathogen
7. 血液脳関門を透過する放射性組換え抗体の開発 (機能)
8. γ 線照射による穏やかな重合を利用した精密な放出制御機能を有する刺激応答性薬物送達システムの設計 (薬品)
9. 新規ペプチド標識法を用いるアレルギー性試験法の開発に関する研究 (機能)
10. 突然変異の誘発を促進する蛋白質の構造と機能に関する研究 (変異)
Structure-function analysis of proteins that promote mutagenesis

科学技術振興調整費 (科学技術庁)
(総合研究)

1. 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
2. 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 (臓器・組織再生システムのための基礎技術の開発)
3. 組織間相互作用の制御による臓器・組織構築技術の研

究 (毒性)

- Studies toward the establishment of basic technology for the reconstruction of organs and tissues via regulating tissue interaction
(内分泌攪乱物質による生殖への影響とその作用機構に関する研究)
4. 内分泌攪乱物質の計測手法及評価手法の開発 (食品)
5. 内分泌攪乱の発現メカニズムの解明に関する研究 (毒性)
Studies on the mechanism of endocrine disruptors (知的基盤整備推進制度)
6. 国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 resistan and biocompatible materials
7. 化学物質安全特性予測基盤の確立に関する研究 (毒性)
Study on safety prediction of chemical substances
8. 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
Construction of databases for biological research resources (生活・社会基盤研究のうち生活者ニーズ対応研究)
10. アトピー性皮膚炎に関連する真菌の検索および真菌による発症要因の研究 (衛微)
11. 生活環境からのアトピー性皮膚炎等の増悪化学物質の評価法の確立と検索に関する研究 (環境)
(固相精密合成法によるケミカルライブラリーの構築を基盤とする超機能性材料の創製と評価に関する研究)
12. 機能性材料ライブラリー創製を目的とした固相精密合成法の開発 (有機)
(国際共同研究総合推進制度)
13. 細菌感染症に対する新規対策法の開発に関する共同研究 (衛微)
(院内感染と医療環境要因に関する研究)
14. 病院給食施設における院内感染の原因となりうる細菌等の汚染状況, 対策に関する調査研究 (衛微)
(重点基礎研究)
15. 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
16. 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
17. 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)
Studies on development and application for effective separation method of chemical substances in foods
(内分泌攪乱物質による生殖への影響とその作用機構に関する研究) (毒性, 薬理, 病理, 食品, 食添)
18. 内分泌かく乱化学物質の作用機構に焦点を当てた新しいハイ・スルー・ブットスクリーニング法の開発
Studies on establishment of novel methods for high throughput screening focussed on mechanism of endocrine disruptors

19. 内分泌攪乱物質の食品用器具, 包装容器中の検索と食品への移行性, 並びに環境経由食品汚染の評価手法の開発 (食品, 食添)
Screening of endocrine-disrupting substances in utensils containers and packaging materials for foods and their migration into foods, and development of environmental risk assessment approach via food consumption
20. 高次元での内分泌攪乱物質の影響に対する分子レベルでの発生メカニズムの解明 (毒性)
Molecular biological approach on the effects of endocrine disrupting chemicals on the development of organism (共同研究)
21. 有害ヒ素の健康影響評価と地下水低減化技術開発に係る共同研究 (環境)
Japan-India intergovernmental cooperation program in science and technology: Human health risk assessment of arsenic and development of remediation technologies for arsenic-contaminated groundwater
- 国立機関公害防止等試験研究費 (環境庁)**
1. 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
2. ダイオキシン等内分泌系攪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 (環境)
Human health and ecological risk assessment of endocrine-disrupting chemical in the aquatic environment
3. 大気中多種化学物質暴露による疾病発生要因解明と寄与率評価に関する研究 (環境)
4. 環境中の内分泌障害性物質が生体防御系に与える影響に関する研究 (代謝)
5. 界面活性剤の水道水源水域及び利水過程における挙動と適正管理に関する研究 (環境)
Comprehensive approaches to the management of surfactants and related chemicals in water sources and drinking water treatment processes
6. 遺伝子変化を指標とした環境化学物質による発がんリスク評価および機構解明のための手法の開発に関する研究 (変異)
Developments of screening methods for genetic changes relevant for a mechanistic cancer risk assessment of environmental chemicals
- 地球環境研究総合推進制度 (環境庁)**
1. 東アジア海域における有害化学物質の動態解明に関する研究 (情報)
2. 地下水利用に伴う広域的ヒ素汚染による生態影響およびヒト慢性中毒と金属汚染の低減化対策に関する予備的研究 (環境)
- 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)**
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 tungi and parasitic tungi 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
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. chemical hazards, and elucidation of the causes
12. 新開発食品素材の安全性評価に関する研究 (支食)
Study on the evaluation of safety about newly developed foodstuffs
13. 輸入農産物の試験方法に関する研究 (支食)
Studies on investigation method for imported agricultural products
13. 輸入食品の分析・試験法等に関する調査研究 (支食, 食品, 食安協)
Investigation and research for analysis or monitoring method of imported foods
14. 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
15. 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
16. 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
20. トリガータイプの家庭用エアゾル製品に関する研究 (療品)
Study on trigger-type household aerosol products
21. 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
22. 医薬品の品質保証基準及び品質判定システムに関する研究 (薬品)
Studies on new evaluation concepts for quality assurance of drug products
23. 内分泌攪乱化学物質の人の健康への影響のメカニズム等に関する調査研究 (毒性)
Study of endocrine disrupting chemicals on human effects: mechanism of their actions
24. in vitro試験法を用いた化粧品等の安全性評価法及びその国際的ハーモナイゼーションに関する研究 (薬理)
Studies on safety evaluation of cosmetics by in vitro meth-

- ods and its international harmonization
25. ダイオキシン類の汚染状況及び子宮内膜症等健康影響に関する研究 (毒性)
A study of health effect of dioxin exposure including possible induction of endometriosis
 28. 食品中の有害物質等の評価に関する研究 (食品)
Studies on evaluation of toxic compounds in foods
 29. 日本薬局方等医薬品基準の規格・試験方法に関する研究 (薬品, 支薬)
Studies on the specifications and test methods for the Japanese Pharmacopoeia
 31. 医薬安全総合研究の企画と評価に関する研究 (副所長)
 32. 食品中残留農薬分析の超迅速化に関する研究 (食品)
Development of rapid analytical methods for pesticide residue
 33. 未規制薬物の乱用防止に関する研究 (生薬)
Studies on prevention of extravagant use for unregulated drugs medicinal substances
 34. タバコ含有物質による健康増進に及ぼす影響に関する研究 (生薬, 病理, 食添, 支生)
Chemical studies of tabcco and tabacco smoke for effect upon the human health
 35. 薬効成分を有する天然物-生薬, 漢方製剤-の安全性に関する研究 (生薬, 病理, 有機, 情報, 代謝)
Studies on safety of natural medicines (herbal medicines and chinese medicines) containing effective components
 36. 医療用具・医療材料の有効性・安全性・品質評価に関する研究 (療品)
Studies on the evaluation of effectiveness, safety and quality of medical devices and biomaterials
 37. 生活安全総合研究の企画及び評価に関する研究 (所長)
 38. 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)
 39. ダイオキシン類の食品経由総摂取量調査研究 (食品)
Studies on the intake of dioxins from foods
 40. 食品中化学物質の相互作用等に関する調査研究 (病理, 薬理, 毒性, 食品)
Studies on the interactive effects of food chemicals on biological systems
 41. 食中毒原因究明方策に関する研究 (衛微)
Studies on prevention system of causative pathogen on foodborne diseases
 42. 日本薬局方・微生物試験法の国際調和対応のための調査, 研究 (衛微)
International harmonization of microbial tests in Japanese pharmacopoeia
 43. 畜水産食品中の化学物質残留防止対策に関する研究 (病理, 食品)
Studies on policies for prevention of veterinary drug residues in food of animal origin
 44. 食品添加物の規格基準設定等に関する基礎的調査研究 (食添)
Basical-studies on the establishment of standards and specifications for food additives
 45. 高分子素材からなる生活関連製品由来の内分泌かく乱化学物質の分析及び動態解析 (食添)
Studies on analysis and dynamics of endocrine disruptures in plastics used in human life
 46. 分子運動性スケールの利用による効率的省資源型安定性試験法の確立 (薬品)
Stability evaluation of pharmaceuticals based on a scale of molecular mobility
 47. 医薬品等の副作用又は医療器具の不具合情報の収集および活用に関する研究 (情報)
 48. 内分泌かく乱物質等, 生活環境中の化学物質による健康リスクの評価における不確実性の解析に関する研究 (情報)
 49. 室内空気中の化学物質に関する調査研究 (環境)
Studies on the chemicals in indoor air
 50. 医薬品等の安全性確保の基盤となる研究-アポトーシスを指標とした毒性評価のための動物の組織・細胞の利用法に関する研究- (毒性)
Basic research on the safety of drugs - research on the development of methodology using aoptosis in animal tissues and cells as an index of toxicity
 51. 新医薬品に用いる品質評価技術を高度化するための調査及び研究 (衛微, 支薬)
Study on the technical advancement of quality assessment for newly developed drugs
 52. 放射線照射器具の品質確保に関する研究 (機能)
The quality control of the radiation devices
 53. 動物組織由来医薬品等原材料の異常プリオンタンパク汚染の高感度検出法の開発 (機能)
The development of the sensitive assay of prion proteins in materials derived from animal tissues
 54. 放射線医療施設の管理における評価基準の指標に関する研究 (機能)
The guideline for the control of medical radiation institution
 55. 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 (食品)
Studies on the intake of aluminum from foods
 56. トランスジェニック動物/クローン動物を利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 derived from transgenic animals/clone animals
 57. 薬用生物資源の分布調査とその活用に関する研究 (生薬)
Studies on distribution of medicinal plants and its utilization
 58. DNA修復異常遺伝病の分子機構の解明に関する研究 (変異)
Studies on molecular mechanisms of genetic diseases caused by DNA repair abnormalities
 59. 培養細胞研究資源の高度化及び研究資源基盤整備に関する研究 (変異)
Studies on establishing an infrastructure and qualification systems of the cell culture research resources
 60. 地域における医薬品試験等のネットワーク化に関する研究 (薬品, 支薬)
Development of network within provincial Institute of Health Sciences
 62. 医療用具の適正使用に関する研究 (療品)
Study for appropriate usage of medical devices
 63. 医療用具減菌バリデーションに於けるバイオバーデン菌抵抗性変動要因の究明 (療品)
Study on cause of resistance variation of bioburden microorganism for attainment of sterilization validation of health care products
 64. 医療用具関係の国際ハーモナイゼーションに関する研究 (療品)
Research and other activities relevant to international har-

- monization in medical devices area
65. 感染症廃棄物中間処理における新処理技術の安全性および有効性に関する評価研究(療品)
Evaluation for safety and efficacy of alternative technologies on infectious waste treatment
66. 新しい日米科学技術に関する研究(毒科学研究)(センター長)
US-Japan exchange program on new toxicological information
67. 食品中ダイオキシン類実態調査(食品)
Monitoring study on residual dioxins in foods
68. 毒劇物中毒事件に関する研究(情報)
70. 安全性試験法開発に関する研究(病理, 食品)
Studies on the development of testing methods for chemical safety evaluation
71. フタル酸エステル類及びフェノール類の食品汚染実態及び摂取量に関する研究(食品, 食添, 支食)
Studies on levels of phthalates and phenols in foods and estimation of daily intake
72. 食品中のアルキルフェノール化合物及び2,4-ジクロロフェノールの含有量に関する調査研究(食品)
Study on the determination of alkylphenols and 2,4-dichlorophenol on foods
73. 新課題医療廃棄物の処理システムの構築に関する研究(療品)
Establishment of treatment system for non-regulated alternative medical wastes
74. 医療材料などにおけるエンドクリン阻害物質に関する研究(療品)
Chemical and biological analysis on endocrine disruptors existing in medical materials
75. 臨床薬物動態試験ガイドラインに関する調査研究(薬理)
Studies on clinical pharmacokinetics guideline
76. 薬物相互作用ガイドラインに関する調査研究(薬理)
Studies on guidelines for evaluation of drug interactions
77. 内分泌かく乱化学物質等, 生活環境中化学物質による人の健康影響についての試験法に関する調査研究(薬理)
Studies on test methods for evaluation of health effects by endocrine disruptors
78. 甲状腺障害物質のin vivo相互作用予測に関するトキシコキネティクス研究(薬理)
Drug interaction of thyroid toxic substances (Toxicokinetic studies)
79. 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(薬理)
Studies on the use of human liver tissues and hepatocytes for evaluation of new drugs
80. 2週間の反復投与毒性試験による雄性生殖器への影響評価の可否に関する研究(薬理)
Validation of 2 Week repeated dose toxicity studies to evaluate effects of drug substances on male genital organs
81. Bisphenol Aのラット及びサルにおける体内動態試験(薬理)
Pharmacokinetic studies of Bisphenol A in rats and monkey
82. 内分泌かく乱化学物質の発達期中枢神経障害に関する実験的研究(病理)
Experimental study on the effect of endocrine disrupting chemicals for the developing nervous system
83. 食品中に含まれる内分泌かく乱化学物質の発がん就職作用に関する実験的研究(病理)
Experimental study on the carcinogenicity of endocrine disrupting chemicals in food
- 科学研究費補助金(文部省)
(特定A)
1. 体節形成における分節化開始機構の解析(毒性)
Analysis of the initiation mechanism of somite segmentation
 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(毒性)
Generation and analysis of MesP1 and / or MesP2 enhancer specific deficient mice
(基盤A)
 3. 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
(基盤B)
 4. 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
 5. 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
(基盤C)
 6. トランス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
 7. 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
 8. 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)
Studies on structure-function relationship for ATP receptor/channel using molecular biological techniques
 9. 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
 10. 単離心筋細胞を用いたエンドセリンA受容体脱感作機序の解明(生薬)
Electrophysiological and pharmacological study on the mechanism for desensitization of ETA endothelin receptor, by using isolated single cardiomyocytes
 11. 糖鎖結合によるアポBリポ蛋白分泌の制御機構の研究(代謝)
The role of N-glycosylation in the secretion of apolipoprotein B-containing lipoproteins
 12. 代謝活性型NO Donorの開発(有機)
Synthesis of NO donors classified as biotransformation type
 13. 形質転換実験系における遺伝子発現変化の解析による発癌促進物質の作用機序の研究(衛微)
Mechanistic studies on the action of tumor promoters by the analysis of altered gene expression in cell transformation
 14. 体節形成における分節化開始機構の解析(毒性)

- Analysis of the initiation mechanism of somite segmentation
(萌芽)
15. DPV法を利用した簡便なりガンドレーセプター相互作用解析手法の開発 (有機)
Development of the convenient methods for the analysis of ligand-receptor interaction using DPV technique
(奨励A)
16. 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 hematopoietic stem cells using BrdU labeled cells followed by an elimination using UVA irradiation
17. 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
18. 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
19. 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
20. 白血球の機能発現におけるコフィリンの役割に関するアンチセンス法による解析 (代謝)
Study on the role of cofilin in leukocyte functioning using antisense method
21. 環境因子の発がんリスク評価に関する研究 (病理)
Risk assessment analysis on the carcinogenicity of environmental factors
22. 血漿アポリポ蛋白質の結合選択性を利用した脂質エマルジョンの体内代謝の制御 (支薬)
Studies on binding of plasma apolipoproteins and metabolism of lipid emulsions
23. 発がんプロモーション時期に特異的に発現する遺伝子の解析 (病理)
Oncogenomic gene search specific for promotion stage in carcinogenesis

がん研究助成金 (厚生省)

1. 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, 毒性, 変異, 病理)
Studies on establishment of new methods for evaluation of carcinogenicity studies using animals and its implication
2. ヘテロサイクリックアミンの新しいトランスジェニックマウスモデルに対する変異原性の分子解析 (変異)
Molecular analysis of the mutagenicity of heterocyclic amines on novel transgenic mouse model
3. in vivoでの突然変異と発がんの関連に関する研究 (変異)
Studies on the relationship between mutagenicity and carcinogenicity in vivo
4. 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
5. ヒト発がん要因の相互作用の解明に基づくがん制御に関する研究 (薬理)

発癌感受性に影響を及ぼす遺伝子多型性に関する研究
Studies on human genetic polymorphisms affecting individual susceptibility to environmental mutagens and carcinogens

その他

喫煙科学研究財団研究助成金

1. 喫煙関連発がんの卸御機構と予防に関する研究 (病理)
Mechanistic studies on smoking-related carcinogenesis and its prevention
2. 実験的肺線維症における肺腫瘍誘発に係る諸因子の解析 (病理)
Studies on the factors relating to lung tumor induction in experimental pulmonary fibrosis

食品等試験検査費

1. 農薬衛生対策推進費・食品残留農薬告示分析法検討 (食品, 支食)
Study on development of official analytical method for pesticide residue
2. 農薬衛生対策推進費・残留農薬分析法再評価検討 (食品, 支食)
Study on improvement of official analytical method for pesticide residue
3. 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 foods additives
4. 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
5. 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
6. 食品添加物安全性再評価費・慢性・発がん性併用試験 (ラット) (硫酸アンモニウム, アカネ色素, 塩化マグネシウム) (病理)
Chronic toxicity and carcinogenicity tests in rats (Ammonium sulfate, Madder color, Magnesium chloride)
7. 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 additive

Mutagenicity of food additives

8. 食品添加物安全性再評価費・90日間投与試験 (ラット) (補骨子抽出物, トコトリエノール, 没食子酸) (病理, 毒性)
Ninety-days toxicity studies of natural food additives (Extract of psoralea corylifolia, Tocotrienol, Gallic acid)
9. 食品添加物安全性再評価費・発がんメカニズム (イソチオシアネート) (病理)
Mechanistic studies on carcinogenesis induced by isothiocyanates
10. 食品添加物安全性再評価費・催奇形性試験 (ラット) (支生)
Teratology study of hinokitiol in rats
11. 食品添加物安全性再評価費・その他 (既存添加物の安

- 全性評価に関する調査研究・コウジ酸) (病理)
Mechanistic study on thyroid carcinogenesis of kojic acid in rats
12. 容器包装等試験検査費 (食添)
Studies on food package and container
13. 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
14. 畜水産食品中の残留有害物質に係る資料の収集・解析及び毒性試験 (フルメキン) (病理)
Mechanistic study on toxicity/carcinogenicity of some drug residues contained in food products of animal origin (Flumequine)
15. 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)
Actual survey for dioxins contamination of foods (dioxins, coplanar PCB)
16. 食品等の規格基準の設定等に係る試験検査 (食品, 衛微, 毒性)
Studies for establishment of standards and specifications on foods
17. 水質試験検査の実施 (水質管理調査・未規制物質基準化検討MIP・未規制物質基準化MX) (環境, 病理)
Standardization of analytical methods for drinking water
- 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 (Zinc butylxanthate) (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 (療品)
Cytotoxicity test of chemicals used in household products: ZIPX, BBIT, TCMTBT, TMBCDPB
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 (毒性)
Chronic inhalation toxicity study of bisether
5. 家庭用品に使用される化学物質の試験検査・分析法設定 (療品)
Development of analytical methods of chemicals used in household products
6. 第二種特定化学物質暴露量調査・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) (食品)
Exposure survey of second class special chemical substances (triphenyltin, tributyltin compounds)
7. 環境化学物質の暴露量測定の検討 (情報)
8. OECD試験法ガイドラインの導入に係わる試験検査機関間精度管理 (代謝)
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. OECD試験法ガイドラインの導入に係わる国内試験法の改正 (変異)
Revision of Japanese test guidelines associated with the OECD test guidelines
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)
Program of strategy for volatile chemicals in indoor air
- 厚生本省庁費 (厚生省医薬安全局)
1. 鑑識用麻薬等の標準品製造 (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 (外用性抗真菌薬 ビタミンA) (支薬)
Studies on rapid examination method of drugs
- 厚生本省医薬品等審査業務庁費 (厚生省医薬安全局)
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
3. 医療用後発医薬品再評価品質規格設定等 (溶出試験規格の設定等) (薬品, 審査センター)
Reevaluation of generic prescription drugs by dissolution tests and application of dissolution specifications
4. 医療用後発品品質確保事業 (各都道府県衛生機関の外部試験精度管理を行うための標準品の測定, 管理, 配布, 測定結果の分析, 講評) (薬品)
Quality control of generic drugs (Reliability of quality assurance on provincial health sciences institute)
5. 医療用後発品品質確保対策事業 (医療用注射剤の後発品の無菌試験, 発熱性物質試験, 不溶性異物試験等) (支生, 支薬)
Quality control of generic drugs (pyrogen test, sterility test and foreign insoluble matter test for injections of generic drugs)
6. 医薬品関連情報の管理及び活用方法に関する調査 (情報)
- 厚生本省あへん等取扱業務庁費
1. けし直接抽出法に関する研究 (第二次) (北植, 筑植, 種植)
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 (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 (生物)
Studies on the evaluation of safety and efficacy of cells derived from transgenic animals for human cell therapy
- 厚生省補正予算
1. 内分泌かく乱化学物質の人体影響に関する調査研究費 "OECD Test Guideline 407 enhanced" 案に基づくラットを用いた反復投与試験 (フルタミド, 17 α -メチルテストステロン) (病理)
Validation study of proposed protocol for an "Enhanced OECD Test Guideline 407" using flutamide and 17 α -methyltestosterone
- 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. アトピー性皮膚炎自然発症(NC)マウスを用いた皮膚掻痒症の発症機序の解明と新規治療, 薬の創製 (支生)
Clarification of mechanism of pruritics in spontaneous atopic dermatitis mouse (NC mouse) and discovery of anti-pruritogenic agents
2. 中枢神経系における ATP 受容体の機能の解析と医療への応用 (薬理)
3. 生殖細胞系列の完全連続培養系の開発
4. 精巣細胞各種分化系列を標識する抗体の作成と精巣障害解析の技術基盤の整備 (毒性)
Establishment of lineage specific antibodies during rat spermatogenesis to analyze testicular toxicity
5. 加速試験で評価できない製剤機能の安定性評価に関する研究 (薬品)
Stability testing for characteristics of dosage forms, alternative to accelerated testing
6. 新開発食品の食品化学的特性の解析と評価に関する研究 (食品)
Evaluation and characterization of functional activity on new foods
8. 食品添加物の開発手法及び食品添加物の品質・安全性の評価・試験方法に関する研究 (食添)
Techniques for the development and evaluation methods for the quality and the safety of food additives
10. 臨床試験の予見性を高めるための, ヒト組織を用いた医薬品の安全性・有効性評価手法の確立に関する研究 (薬理)
Promotion of predictability of drug evaluation by using human tissues
11. 培養細胞を用いたインビトロ発熱性物質試験法の開発に関する研究 (支生)
Development of an in-vitro cell culture assay system for detecting pyrogenic contamination in pharmaceuticals
12. 薬物代謝活性の多型性とハイリスク患者における薬物評価に関する研究 (薬理)
Studies on polymorphism of drug metabolic enzymes and evaluation of drugs used for high-risk patients
13. 新規制御因子を標的とした高脂血症・動脈硬化症予防治療薬の開発に関する基礎的研究 (代謝)
Studies on the regulatory mechanisms of VLDL secretion and apolipoprotein-mediated cellular cholesterol efflux
14. 薬用植物の開発研究 (生薬)
Studies on development of medicinal plants
15. 高齢化社会に向けた歯周疾患対策: 特に成人性歯周炎に関する基礎的研究と薬物開発への応用 (療品)
The control for periodontal disease in an advanced age society: basic research on adult periodontal disease and development of vaccine for the prevention
19. 酸性多糖類の医用材料としての応用に関する基礎的研究 (支薬)
Fundamental studies on the biomedical applications of anionic polysaccharides
20. 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 (療品)
Studies on the useful indices of long-term safety evaluation of artificial organ materials

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
3. 変異ヒトアポB発現細胞を用いた VLDL 分泌制御機構の解明 (代謝)
Structure and function of human apolipoprotein B in the assembly and secretion of VLDL

ヒューマンサイエンス振興財団エイズ医薬品開発推進事業

1. エイズ医薬品候補物質のスクリーニング研究 (衛微)
Preliminary screening for antiviral AIDS drugs

ヒューマンサイエンス振興財団創薬科学総合研究事業

1. 神経伝達物質および内在ペプチドによる心筋イオンチャンネル調節の分子機序の解明 (生薬)
Electrophysiological and molecular biological studies on mechanisms by which neurotransmitters and endogenous peptides regulate cardiac ion-channels
2. シナプス伝達における P2 プリン受容体群の機能の解明 (薬理)
Function of P2-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
8. 情報理論に基づいた分析値信頼性評価手法の研究 (療品, 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
11. フラーレンを基本骨格とするがん光線力学治療薬の開発研究 (有機)
Study on the development of cancer photodynamic therapeutic drug with fullerene moiety as a pharmacophore

創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業

1. 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
2. 薬用植物の種に特異的な機能の分子生物学的解析 (北植)
Molecular analysis of specific function for some medicinal plant species
3. 植物バイオテクノロジーによる次世代薬用資源の開発に関する研究 (筑植)
Research on exploitation of new medicinal resources for next generation by plant biotechnology
4. 遺伝子改変テスターを用いる第二世代変異原性試験法の開発 (変異)
Development of second generation mutagenesis test using

- modified tester by gene engineering
- 5. 発がん抑制・転移抑制薬の開発のための研究 (病理)
Studies on the development of drugs to suppress carcinogenesis and tumor metastasis
- 6. 糖タンパク質及び糖鎖関連物質の糖鎖の機能及び構造解析と品質等評価技術の開発 (生物)
Studies on the characterization, standardization and control of glycoprotein products
- 7. 血液凝固線溶制御因子に関する基礎的研究並びに関連医薬品の有用性確保及び診断技術の確立 (生物)
Studies on factors regulating blood coagulation and acquisition of their usefulness as protein drugs, and establishment of diagnostic method
- 8. チャネルの開口を視る技術の開発研究 (生物)
Development of technologies for imaging channel opening
- 9. 白血球機能の新しい制御手法の開発に関する研究 (代謝)
Studies on development of new methods for regulation of leukocyte functions

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 (核内レセプター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
ヒト型バソプ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
- 4. 種々のヒト・サイトカン受容体導入マウス幹細胞自己複製機構の解析と造血幹細胞増幅への応用 (毒性)
Evaluation of the self-renewal capacity of the hemopoietic stem cell from transgenic mice carrying a variety of human cytokine receptor genes to apply on the stem cell proliferation

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 薬 部	生薬
療 品 部	療品
環 境 衛 生 化 学 部	環境
食 品 部	食品
食 品 添 加 物 部	食添
有 機 化 学 部	有機
機 能 生 化 学 部	機能
代 謝 生 化 学 部	代謝
衛 生 微 生 物 部	衛微
化 学 物 質 情 報 部	情報
毒 性 部	毒性
薬 理 部	薬理
病 理 部	病理
変 異 遺 伝 部	変異
総 合 評 価 研 究 室	評価
大 阪 支 所 薬 品 試 験 部	支薬
大 阪 支 所 食 品 試 験 部	支食
大 阪 支 所 生 物 試 験 部	支生
北 海 道 薬 用 植 物 栽 培 試 験 場	北植
筑 波 薬 用 植 物 栽 培 試 験 場	筑植
伊 豆 薬 用 植 物 栽 培 試 験 場	伊植
和 歌 山 薬 用 植 物 栽 培 試 験 場	和植
種 子 島 薬 用 植 物 栽 培 試 験 場	種植

平成11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11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		
	件	件	件	件	%
国 家 検 定	(0) 0	(0) 0	(0) 0	—	—
国 家 検 査	(0) 0	(211) 0	(211) 160	△ 51	75.83
製 品 検 査	(0) 0	(284) 0	(284) 260	△ 24	91.55
特 別 審 査 試 験	(71) 74	(0) 74	(71) 74	3	104.23
特 別 行 政 試 験	(171) 278	(0) 278	(171) 278	107	162.57
一 斉 取 締 試 験	(0) 8	(148) 8	(148) 105	△ 43	70.95
輸 入 食 品 検 査	(0) 0	(0) 0	(0) 0	0	—
合 計	(242) 360	(643) 360	(885) 877	△ 8	

() 内は平成10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11年度国家検査品目別月別判定別件数
実績表 | 372頁 | ○平成11年度特別行政試験実績表 | 374頁 |
| ○平成11年度製品検査月別判定別件数実績表 | 374頁 | ○平成11年度一斉取締試験判定別件数実績表 | 375頁 |
| ○平成11年度特別審査試験月別件数実績表 | 374頁 | | |

平成 11 年 度 国 家 検 査 品 目 別

区 分		4 月			5 月			6 月			7 月			8 月		
		合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
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
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
ヒトインスリン注射液	大阪	0	-	0	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
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
生合成ヒト中性インスリン注射液	大阪	6	-	6	0	-	0	1	-	1	4	-	4	4	-	4
生合成ヒトインスリン 亜鉛水性懸濁注射液	大阪	1	-	1	1	-	1	1	-	1	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	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	0	-	0	2	-	2	0	-	0
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	17	-	17	5	-	5	1	-	1	17	-	17	10	-	10
生合成ヒトイソフェンインスリン 水性懸濁注射液	大阪	4	-	4	2	-	2	1	-	1	5	-	5	2	-	2
ヒト二相性イソフェンインスリン 水性懸濁注射液	大阪	4	-	4	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0
計		32	-	32	8	-	8	4	-	4	29	-	29	17	-	17

月別判定別件数実績表

9 月			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	合 格	不 合 格	計			
0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0
0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0
0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0
0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0
0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0
3	-	3	3	-	3	3	-	3	3	-	3	0	-	0	0	-	0	5	-	5	32	-	32			
1	-	1	0	-	0	1	-	1	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	7	-	7			
0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0
1	-	1	0	-	0	1	-	1	0	-	0	0	-	0	0	-	0	1	-	1	5	-	5			
10	-	10	6	-	6	3	-	3	7	-	7	3	-	3	0	-	0	5	-	5	84	-	84			
6	-	6	0	-	0	2	-	2	4	-	4	0	-	0	0	-	0	2	-	2	28	-	28			
0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	4	-	4			
21	-	21	9	-	9	10	-	10	14	-	14	3	-	3	0	-	0	13	-	13	160	-	160			

平成11年度製品検査品目別

区 分	4 月			5 月			6 月			7 月			8 月		
	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
大 阪	31	1	32	24	-	24	27	-	27	36	-	36	6	-	6
計	31	1	32	24	-	24	27	-	27	36	-	36	6	-	6

平成11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	-	10	8	-	17	3	10	-	14	2	2	1	67
生 物 薬 品 部	-	-	-	2	3	-	-	-	-	-	-	-	5
微 生 物 生 物 部	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	2
	0	10	8	2	22	3	10	0	14	2	2	1	74

平成11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 麻 薬 課	国産生あへんのモルヒネ含有率試験について	159	
		16	薬品部
		143	筑波試験場
	輸入生あへんのモルヒネ含有率試験について	119	薬品部
	合 計	278	東京 278件 大阪 0件

月別判定別件数実績表

9月			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	合格	不合格	計
25	-	25	15	-	15	25	-	25	31	-	31	9	-	9	21	-	21	9	-	9	259	1	260
25	-	25	15	-	15	25	-	25	31	-	31	9	-	9	21	-	21	9	-	9	259	1	260

平成11年度一斉取締試験判定別件数実績表

区 分	合 格	不 合 格	無 判 定	計
東 京	8	0	0	8
大 阪	94	3	0	97
合 計	102	3	0	105

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12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
			円	
1	アルプロスタジル	10mg入り 1本	63,800	・アルプロスタジル, アルプロスタジル・アルファデクスとそれらの製剤の定量法
2	インスリン	20mg入り 1本	29,600	・インスリン, インスリン注射液, インスリン亜鉛水性懸濁注射液, 結晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液, 無晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液, プロタミンインスリン亜鉛水性懸濁注射液, イソフェンインスリン水性懸濁注射液, 中性インスリン注射液の定量法. イソフェンインスリン水性懸濁注射液の純度試験
3	ウリナスタチン	3600単位入り 1本	36,800	・ウリナスタチンおよびその製剤の定量法
4	ウロキナーゼ	1,000単位入り 1本	19,700	・ウロキナーゼおよびその製剤の定量法
5	エルカトニン	10単位入り 2本	44,400	・エルカトニンおよびその製剤の定量法
6	エルゴカルシフェロール	100mg入り 1本	20,800	・エルゴカルシフェロールの確認試験および定量法
7	塩化ベルベリン	30mg入り 1本	32,400	・オウレン, オウレン末, オウバク, オウバク末中の塩化ベルベリンの成分含量
8	エンドトキシン10000	10,000単位 1本	23,200	・エンドトキシン試験
9	エンドトキシン100	100単位 3本	17,800	・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	16,900	・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	25,300	・含糖ペプシンの定量法
12	ジゴキシン	20mg入り 1本	19,200	・ジゴキシン, 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	35,700	・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	42,200	・血清性性腺刺激ホルモン, 注射用血清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	25,000	・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	21,500	・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	20,500	・コレカルシフェロールの確認試験および定量法
18	酢酸トコフェロール	150mg入り 1本	21,500	・酢酸トコフェロールの確認試験および定量法
19	ジキタリス	1g入り 3本	18,900	・ジキタリス, 同末の定量法
20	ジギトキシン	50mg入り 1本	18,900	・ジギトキシンの確認試験および定量法. 同錠の溶出試験, 含量均一試験および定量法
21	シクランデラート	300mg入り 1本	18,200	・シクランデラートの定量法
22	ジゴキシン	50mg入り 1本	18,900	・ジゴキシンの確認試験および定量法. 同錠の溶出試験, 含量均一試験および定量法. 同注射液の定量法. 注射液の純度試験および定量法
23	シュウ酸カルシウム一水和物	100mg入り 1本	22,000	・熱分析法・熱重量測定法における質量スケールの校正

日本薬局方標準品

番号	標準品名	包装単位	価格	使用目的
			円	
24	シヨ糖オクタ硫酸エステル カリウム	1g入り 1本	18,000	・スクラルファートの定量法
25	G-ストロファンチン	100mg入り 1本	19,600	・G-ストロファンチンの定量法、同注射液の確認試験および定量法
26	セクレチン	100単位入り	38,400	・セクレチンの定量法
27	胎盤性性腺刺激ホルモン	1,000単位入り 1本	40,400	・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
28	デスラノシド	100mg入り 1本	19,700	・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
29	トコフェロール	150mg入り 1本	21,600	・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
30	トリアムシノロン	100mg入り 1本	19,300	・トリアムシノロンの確認試験および定量法
31	トリアムシノロンアセトニド	100mg入り 1本	19,300	・トリアムシノロンアセトニドの確認試験および定量法
32	トロンビン	500単位入り 2本	43,900	・トロンビンの定量法
33	ニコチン酸トコフェロール	150mg入り 1本	23,600	・ニコチン酸トコフェロールの確認試験および定量法
34	脳下垂体後葉	20mg入り 2本	19,000	・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
35	バイカリン	30mg入り 1本	29,000	・オウゴンの確認試験及びオウゴン中のバイカリンの定量
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	9,000	・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	6,900	・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	フルオシノニド	100mg入り 1本	20,800	・フルオシノニドの確認試験および定量法
39	フルオシノロンアセトニド	50mg入り 1本	19,100	・フルオシノロンアセトニドの定量法
40	フルオロメトロン	100mg入り 1本	19,700	・フルオロメトロンおよびその製剤の定量法
41	プロピオン酸ベクロメタゾン	100mg入り 1本	19,700	・プロピオン酸ベクロメタゾンの確認試験および定量法
42	ベオニフロリン	20mg入り 1本	33,900	・ベオニフロリンの定量法
43	ヘパリンナトリウム	1,200単位 1本	34,900	・ヘパリンナトリウム、同注射液の定量法、硫酸プロタミンおよび同注射液の抗ヘパリン試験
44	メシル酸 ジヒドロエルゴトキシン	100mg入り 1本	35,200	・メシル酸ジヒドロエルゴトキシンの定量法
45	メチルジゴキシン	50mg入り 1本	15,600	・メチルジゴキシンの確認試験および定量法
46	ラナトシドC	100mg入り 1本	19,100	・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
47	硫酸プロタミン	100mg入り 1本	34,300	・イソフェンインスリン水性懸濁注射液の純度試験
48	リン酸ヒドロコルチゾン ナトリウム	100mg入り 1本	17,400	・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
49	リン酸ベタメタゾン ナトリウム	100mg入り 1本	17,800	・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12年4月1日現在)

号	標準品名	包装単位	価格	使用目的
			円	
1	インドシアニングリーン	300mg入り 1本	18,100	・インドシアニングリーンおよびその製剤の定量法
2	エストラジオール	50mg入り 1本	19,100	・エストラジオールおよびその製剤の純度試験
3	エストロン	50mg入り 1本	19,100	・エストロンおよびその製剤の確認試験及び定量法
4	塩酸チアミン液	1mg入り 10本	10,800	・チアミンおよびその製剤の定量法
5	下垂体性性腺刺激ホルモン	20mg入り 1本	45,300	・下垂体性性腺刺激ホルモンのバイオアッセイ
6	吉草酸ジフルコルトロン	100mg入り 1本	17,900	・吉草酸ジフルコルトロンおよびその製剤の定量法
7	酢酸デキサメタゾン	100mg入り 1本	18,600	・酢酸デキサメタゾンおよびその製剤の定量法
8	酢酸レチノール	10,000単位入り 5カプセル	18,500	・酢酸レチノールおよびその製剤の定量法
9	スウェルチアマリン	20mg入り 1本	34,100	・センブリおよびセンブリ末の定量法
10	センノシド	150mg入り 1本	25,600	・センノシドの定量
11	組織培養ウロキナーゼ	8,000単位入り 1本	25,200	・組織培養ウロキナーゼの定量法
12	低分子量ヘパリン	100mg入り 1本	34,500	・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
13	テオプロミン	100mg入り 1本	13,900	・ペントキシフィルンの純度試験
14	パルミチン酸レチノール	10,000単位入り 5カプセル	17,500	・パルミチン酸レチノールおよびその製剤の定量法
15	ヒアルロニダーゼ	500mg入り 1本	22,700	・注射用ヒアルロニダーゼの定量法
16	ヒトインスリン	50mg入り 1本	32,400	・ヒトインスリンおよびその製剤の定量法
17	ヒト成長ホルモン	4mg入り 1本	42,700	・ヒト成長ホルモンおよびその製剤の確認試験および定量法
18	フルドロキシコルチド	100mg入り 1本	23,100	・フルドロキシコルチドおよびその製剤の定量法
19	プロピオン酸テストステロン	50mg入り 1本	18,700	・プロピオン酸テストステロンおよびその製剤の定量法
20	マレイン酸 メチルエルゴメトリン	50mg入り 1本	18,600	・マレイン酸メチルエルゴメトリンの定量法
21	融点測定用 〔アセトアニリド, アセトフェネチジン, カフェイン, スルファニルアミド, スルファピリジン, ワニリン〕	各1g入り 6本	60,700	・融点測定用温度計, 同装置の補正
22	酪酸ヒドロコルチゾン	100mg入り 1本	19,700	・酪酸ヒドロコルチゾンおよびその製剤の定量法
23	リゾチーム	500mg入り 1本	33,000	・リゾチーム製品の定量法
24	リン酸デキサメタゾン ナトリウム	100mg入り 1本	17,300	・リン酸デキサメタゾンナトリウムおよびその製剤の定量法
25	リン酸ヒスタミン	50mg入り 1本	16,000	・ヒスタミン試験
26	リン酸プレドニゾロン ナトリウム	100mg入り 1本	17,400	・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12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	
			円		
1	アシッドバイオレット6B	1g入り	1本	3,850	・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	3,950	・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	3,550	・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	3,650	・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	5,700	・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	3,700	・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	3,550	・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	3,500	・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	3,650	・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	3,400	・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	3,400	・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	3,400	・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	3,400	・粘膜以外医薬品，化粧品および製剤中のオイルレッドXOの確認試験
14	オレンジI	1g入り	1本	3,450	・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	3,450	・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	3,750	・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	3,400	・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	3,450	・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sein	1g入り	1本	3,550	・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seinの確認試験
20	テトラブロムフルオレsein	1g入り	1本	3,650	・外用医薬品，化粧品および製剤中のテトラブロムフルオレsein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	
			円		
21	トルイジンレッド	1g入り	1本	3,350	・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	3,500	・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	3,450	・食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のニューコキシンの確認試験
24	パーマネントオレンジ	1g入り	1本	3,350	・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	3,400	・外用医薬品, 化粧品および製剤中のハンサエローの確認試験
26	ファストグリーンFCF	1g入り	1本	4,550	・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	3,950	・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	3,750	・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	3,500	・外用医薬品, 化粧品および製剤中のフルオレセインの確認試験
30	フロキシシ	1g入り	1本	3,550	・食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のフロキシシの確認試験
31	ボンソーR	1g入り	1本	3,650	・粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のボンソーRの確認試験
32	ボンソーSX	1g入り	1本	3,550	・粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のボンソーSXの確認試験
33	ボンソー3R	1g入り	1本	3,650	・粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のボンソー3Rの確認試験
34	リソールルビンBCA	1g入り	1本	3,650	・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	3,650	・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	3,650	・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	3,650	・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	3,550	・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11年度国立医薬品食品衛生研究所標準品出納状況

別表

(医薬品試験用標準品)

標準品名	前年度末 在庫数量	製造数量	売払数量	自家消費等 数量	年度末 在庫数量	備考
	個	個	個	個	個	
アルプロスタジル	26	0	26	0	0	
インスリン	29	0	20	0	9	
インドシアニングリーン	16	0	6	0	10	
ウリナスタチン	12	50	23	0	39	
ウロキナーゼ	34	0	18	0	16	
エストラジオール	30	123	124	0	29	
エストロン	40	0	22	0	18	
エテンザミド	5	0	1	4	0	
エルカトニン	99	0	44	5	50	
エルゴカルシフェロール	60	140	166	11	23	
塩化ベルベリン	38	150	178	0	10	
塩酸チアミン液	14	20	15	0	19	
エンドトキシン	505	1,898	2,386	0	17	
エンドトキシン100	0	500	298	50	152	
下垂体性性腺刺激ホルモン	28	35	46	0	17	
カリジノゲナーゼ	26	100	66	0	60	
含糖ペプシン	13	50	27	0	36	
吉草酸ジフルコルトロン	31	0	3	0	28	
ギトキシン	2	50	11	0	41	
グリチルリチン酸	2	700	615	3	84	
血清性性腺刺激ホルモン	51	0	17	0	34	
高分子量ウロキナーゼ	63	50	110	0	3	
コハク酸トコフェロール	88	51	109	0	30	
コレカルシフェロール	40	140	152	1	27	
酢酸デキサメタゾン	4	20	3	0	21	
酢酸トコフェロール	132	947	929	1	149	
酢酸レチノール	37	0	22	0	15	
ジギタリス	15	0	0	0	15	
ジギトキシン	53	0	35	0	18	
シクランデラート	18	0	2	0	16	
ジゴキシン	37	0	32	0	5	
シュウ酸カルシウム水和物	0	0	0	0	0	
ショ糖オクタ硫酸エステルカルシウム	16	50	19	0	47	
G-ストロファンチン	24	0	0	0	24	
セクレチン	50	0	12	0	38	
センノシド	26	0	15	3	8	
組織培養ウロキナーゼ	47	0	0	0	47	
胎盤性性腺刺激ホルモン	50	100	55	1	94	
低分子量ヘパリン	38	0	27	0	11	
テオプロミン	20	0	0	0	20	
デスラノシド	14	0	8	0	6	
トコフェロール	34	400	265	4	165	
トリアムシノロン	16	0	4	0	12	
トリアムシノロンアセトニド	15	0	6	0	9	
トロンビン	31	100	102	1	28	
脳下垂体後葉	0	18	17	0	1	
バイカリン	0	50	28	0	22	
薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	43	0	11	0	32	
薄層クロマトグラフ用バルミチン酸 レチノール	18	60	30	0	48	

標準品名	前年度末 在庫数量	製造数量	売払数量	自家消費等 数量	年度末 在庫数量	備 考
	個	個	個	個	個	
バルミチン酸レチノール	31	100	109	0	22	
ヒアルロニダーゼ	26	0	10	0	16	
ヒトインスリン	118	0	19	0	99	
ヒト成長ホルモン	158	0	4	6	148	
フルオシノニド	34	0	4	0	30	
フルオシノロンアセトニド	41	0	21	1	19	
フルオロメトロン	38	50	43	0	45	
フルドロキシコルチド	48	0	6	0	42	
プロピオン酸テストステロン	39	0	0	0	39	
プロピオン酸ベクロメタゾン	41	56	40	28	29	
ベオニフロリン	22	93	104	0	11	
ヘパリンナトリウム	44	95	101	0	38	
マレイン酸メチルエルゴメトリン	15	0	4	0	11	
メシル酸ジヒドロエルゴトキシシ	40	0	3	0	37	
メチルジゴキシシ	21	0	18	0	3	
融点測定用	16	20	36	0	0	
〔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〕						
酪酸ヒドロコルチゾン	8	0	1	7	0	
ラナトシドC	37	0	13	0	24	
リゾチーム	0	400	238	0	162	
硫酸プロタミン	19	0	0	0	19	
リン酸デキサメタゾンナトリウム	20	0	20	0	0	
リン酸ヒスタミン	33	0	19	0	14	
リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム	40	0	30	3	7	
リン酸プレドニゾロンナトリウム	31	68	23	42	34	
リン酸ベタメタゾンナトリウム	39	0	27	0	12	
計	2,949	6,684	6,998	171	2,464	

(色素試験用標準品)

標準品名	前年度末 在庫数量	製造数量	売払数量	自家消費等 数量	年度末 在庫数量	備考
	個	個	個	個	個	
アシッドバイオレット6B	64	0	1	0	63	
アシッドレッド	457	0	9	0	448	
アゾルビンエキストラ	68	0	1	0	67	
アマランス	398	0	9	0	389	
アルラレッドAC	296	0	10	0	286	
インジゴ	122	0	1	0	121	
インジゴカルミン	498	0	9	0	489	
エオシン	106	0	1	0	105	
エリスロシン	438	0	9	0	429	
オイルエローAB	209	0	1	0	208	
オイルエローOB	218	0	2	0	216	
オイルオレンジSS	219	0	1	0	218	
オイルレッドXO	193	0	1	0	192	
オレンジ。	265	0	1	0	264	
オレンジI	144	0	1	0	143	
ギネアグリーンB	55	0	1	0	54	
サンセットエローFCF	444	0	10	0	434	
タートラジン	417	0	10	0	407	
テトラクロルテトラブロムフ ルオレセイン	142	0	1	0	141	
テトラブロムフルオレセイン	103	0	1	0	102	
トルイジンレッド	69	0	1	0	68	
トルイジンレッド	129	0	1	0	128	
ナフトールエローS	449	0	12	0	437	
ニューコクシン	20	0	1	0	19	
パーマネントオレンジ	67	0	1	0	66	
ハンサエロー	427	0	8	1	419	
ファストグリーンFCF	189	0	1	0	188	
ファストレッドS	400	0	15	0	374	
ブリリアントブルーFCF	179	0	1	0	178	
フルオレセイン	277	0	7	0	270	
フロキシシン	239	0	1	0	238	
ボンソーR	139	0	1	0	138	
ボンソーSX	149	0	1	0	148	
ボンソー3R	349	0	1	0	348	
リソールルビンBCA	376	0	1	0	375	
レーキレッドC	113	0	1	0	112	
レーキレッドCBA	154	0	1	0	153	
レーキレッドDBA	411	0	7	0	404	
ローズベンガル						
	8,992	0	142	1	8,839	

国立医薬品食品衛生研究所第118号人名索引 (アルファベット順)

A

Abe, Yukiiko (阿部有希子) 323
 Adachi, Reiko (安達玲子) 268, 298
 Akiyama, Hiroshi (穠山 浩) 261, 262, 265
 Akiyama, Takumi (秋山卓美) 264
 Amakura, Yoshiaki (天倉吉章) 100, 131, 135, 288
 Amano, Hiroo (天野博夫) 361
 Ando, Masanori (安藤正典) 103, 256, 257, 258, 259
 Aoyagi, Nobuo (青柳伸男) 293
 Aso, Yukio (阿曾幸男) 250
 Azumi, Satoko (安住聡子) 268

C

Chung, Youn-son (鄭 然孫) 257, 258, 259

E

Ema, Makoto (江馬 眞) 287, 289, 303

F

Fukuhara, Kiyoshi (福原 潔) 261
 Furukawa, Fumio (古川文夫) 278
 Fushimi, Tamaki (伏見 環) 355

G

Goda, Yukihiko (合田幸広) 261, 262, 264

H

Hachisuka, Akiko (蜂須賀暁子) 266
 Haishima, Yuji (配島由二) 294
 Hamada, Mika (濱田実香) 296
 Hanioka, Nobumitsu (埴岡伸光) 258, 259
 Harazono, Akira (原園 景) 312
 Hasegawa, Ryuichi (長谷川隆一) 272, 287, 302, 303
 Hashimoto, Osamu (橋本 統) 252, 254
 Hatakeyama, Yoshio (畠山好雄) 290
 Hayakawa, Takao (早川堯夫) 251, 252, 253, 254, 293
 Hayashi, Makoto (林 眞) 272, 283, 300, 302
 Hayashi, Yuzuru (林 譲) 259, 287
 Hirabayashi, Yoko (平林容子) 305
 Hirose, Akihiko (広瀬明彦) 287, 303
 Hirose, Masao (広瀬雅雄) 55, 63, 276, 278, 279
 Honma, Masamitsu (本間正充) 301
 Hosokawa, Keizo (細川敬三) 291
 Hyuga, Masashi (日向昌司) 252
 Hyuga, Sumiko (日向須美子) 252

I

Ichinoe, Masakatsu (一戸正勝) 261
 Ide, Katsuhisa (井出勝久) 355
 Iida, Osamu (飯田 修) 71, 77
 Ikarashi, Yoshiaki (五十嵐良明) 256
 Ikebuchi, Hideharu (池渕秀治) 266, 267
 Ikeda, Takako (池田尚子) 278
 Ikezaki, Shin-ichiro (池崎信一郎) 278, 279
 Imazawa, Takayoshi (今沢孝喜) 277
 Inoue, Kazuhide (井上和秀) 274
 Inoue, Osamu (井上 修) 71, 77
 Inoue, Tohru (井上 達) 271, 272, 273, 299
 Isama, Kazuo (伊佐間和郎) 272
 Ishibashi, Mumio (石橋無味雄) 250
 Watabe-Ishii, Akiko (石井(渡部)明子) 253
 Ishimitsu, Susumu (石光 進) 288, 358
 Ishiwata, Hajimu (石綿 肇) 263, 297
 Iwata, Miho (岩田美保) 140, 142, 145, 148, 152, 155, 288
 Izutsu, Ken-ichi (伊豆津健一) 250

J

Jinno, Hideto (神野透人) 258, 259

K

Kabuyama, Noriko (蕪山典子) 85, 90
 Kamata, Eiichi (鎌田栄一) 302, 303
 Kaminuma, Tsuguchika (神沼二真) 37, 81, 85, 90, 107, 117, 270
 Kaniwa, Masa-aki (鹿庭正昭) 255, 295, 296
 Kaniwa, Nahoko (鹿庭なほ子) 275, 293
 Kanno, Jun (菅野 純) 272, 273, 300
 Kasahara, Ken-ichiro (笠原健一郎) 278
 Katsuki Shigeki (香月茂樹) 306
 Kawahara, Nobuo (川原信夫) 255
 Kawamura, Yoko (河村葉子) 265, 297
 Kawanishi, Tohru (川西 徹) 252, 253, 294
 Kawasaki, Nana (川崎ナナ) 252
 Kawasaki, Yoko (川崎洋子) 263, 272
 Kawashima, Kunio (川島邦夫) 289, 290
 Kikuchi, Yutaka (菊池 裕) 261
 Kikura, Ruri (木倉瑠理) 251
 Kim, Su-Ryang (金 秀良) 338, 339
 Kinoshita, Katsumi (木下勝美) 355, 356, 357
 Kitajima, Aya (北島 文) 288
 Kitajima, Satoshi (北嶋 聡) 271, 272
 Kobayashi, Tetsu (小林 哲) 254
 Kodama, Yukio (児玉幸夫) 272
 Kohara, Arihiro (小原有弘) 338
 Kohjyouma, Mareshige (高上馬希重) 71
 Koide, Tatsuo (小出達夫) 140, 142, 145, 148, 152

Koizumi, Mutsuko (小泉睦子) 302, 303
 Koizumi, Schuichi (小泉修一) 273
 Kojima, Shigeo (小嶋茂雄) 250, 251
 komine, kei (小峰 啓) 107
 Kondo, Kazunari (近藤一成) 260, 261
 Konuma, Hirotaka (小沼博隆) 268, 298
 Koujitani, Takatoshi (糀谷高敏) 63, 276, 278
 Kubota, Hiroki (久保田浩樹) 264
 Kurebayashi, Hideo (紅林秀雄) 45, 50, 275, 287
 Kurematsu, Miharū (樽松美治) 286
 Kurihara, Kogo (栗原孝吾) 71
 Kurihara, Masaaki (栗原正明) 261, 265, 266
 Kurokawa, Yuji (黒川雄二) 272, 273, 287
 Kusui, kaoru (楠井 薫) 298

L

Lee, I-Jyng (李 宜融) 316

M

Maeda, Hideko (前田秀子) 157, 290
 Maehara, Tamae (前原玉枝) 140, 142, 145, 148, 152, 155, 265
 Maekawa, Keiko (前川京子) 288
 Maitani, Tamio (米谷民雄) 261, 264, 265
 Masui, Tohru (増井 徹) 286, 301
 Masumura, Ken-ichi (増村健一) 284
 Masutomi, Naoya (槲富直哉) 55
 Matsuda, Rieko (松田りえ子) 259, 287, 297
 Matsui, Keiko (松井恵子) 285
 Matsui, Sachiko (松井幸子) 268
 Matsumura, Toshiro (松村年郎) 257, 296
 Matsuo, Atsuko (松岡厚子) 283
 Matsushima, Yuko (松島裕子) 272
 Mia, MD, Wahiduzzaman 290
 Minami, Motoyasu (南 基泰) 290
 Minegishi, Daisuke (峯岸大輔) 286
 Mitsumori, Kunitoshi (三森国敏) 63, 256, 276, 300
 Miyahara, Makoto (宮原 誠) 262
 Miyahara, Michiko (宮原美知子) 262, 268
 Miyajima, Atsuko (宮島敦子) 275
 Miyata, Naoki (宮田直樹) 21, 261, 265, 266, 269, 298
 Miyauchi, Makoto (宮内 慎) 278
 Miyawaki, Emiko (宮脇英美子) 289, 312
 Miyazaki, Keiko (宮崎恵子) 335, 336
 Miyazaki, Tamaki (宮崎玉樹) 287
 Mizuguchi, Hiroyuki (水口裕之) 253, 254, 294
 Mizusawa, Hiroshi (水沢 博) 286, 300
 Morimoto, Kazushige (森本和滋) 252
 Murai, Toshimi (村井敏美) 157, 290
 Murayama, Mitsunori (村山三徳) 260

N

Nagaishi, Keiko (永石恵子) 268

Nakagawa, Yukari (中川ゆかり) 157, 290
 Nakahara, Yuji (中原雄二) 251, 293
 Nakai, Yuji (中井雄治) 250
 Nakajima, Osamu (中島 治) 267
 Nakamura Yumiko (中村優美子) 288
 Nakamura, Akitada (中村晃忠) 256, 355, 356, 357
 Nakamura, Hideaki (中村英明) 278, 279
 Nakamura, Yumiko (中村優美子) 288
 Nakano, Tatsuya (中野達也) 107, 117
 Nakaoka, Ryusuke (中岡竜介) 256
 Nakata, Kotoko (中田琴子) 107, 117, 270
 Nakazawa, Ken (中澤憲一) 274
 Narita, Noriko (成田紀子) 261, 270
 Narukawa, Mamoru (成川 衛) 354
 Nemoto, Satoru (根本 了) 259
 Niho, Naoko (仁保直子) 55
 Niimi, Shingo (新見伸吾) 254, 294
 Nishikawa, Akiyoshi (西川秋佳) 278, 287
 Nishimura, Tetsuji (西村哲治) 258, 259
 Noguchi, Mamoru (能美健彦) 1, 284

O

Ogasawara, Hiromichi (小笠原弘道) 354
 Ogawa, Yukio (小川幸男) 272
 Ohno, Yasuo (大野泰雄) 45, 50, 272, 273, 300
 Ohta, Miyako (太田美矢子) 252
 Ohtake, Chiyoko (大竹千代子) 90, 129
 Okada, Mai (岡田 舞) 100, 131, 135
 Okada, Satoshi (岡田敏史) 140, 142, 145, 148, 152, 155, 287, 288, 303
 Ono, Shunsuke (小野俊介) 358
 Onodera, Hiroshi (小野寺博志) 63, 276, 278
 Onose, Jun-ichi (小野瀬淳一) 267
 Oshizawa, Tadashi (押沢 正) 294
 Oya, Yukie (大屋幸江) 270
 Ozaki, Yukihiko (尾崎幸紘) 254
 Ozawa, Shogo (小澤正吾) 275, 300

P

Petr, Gruz

S

Saga, Yumiko (相賀裕美子) 271, 299
 Sai, Kimie (佐井君江) 299
 Saisho, Kazuhiro (最所和宏) 307
 Saito, Hiroyuki (斎藤博幸) 140, 142, 145, 148, 152, 155, 288, 303
 Saito, Yoshiro (斎藤嘉朗) 262, 266, 267
 Saito, Yukio (齋藤行生) 262
 Saitoh, Minoru (斎藤 実) 272, 273
 Sakai, Ayako (酒井綾子) 269
 Sakai, Eiji (酒井英二) 290
 Sakamoto, Hiroko (坂本浩子) 338

Sakamoto-Sasaki, Shiho (佐々木(坂元)史歩) 71, 264
 Sakemi, Kazue (酒見和枝) 45, 50, 272, 276
 Sakushima, Junichiro (佐久嶋順一郎) 261
 Sasaki, Kumiko (佐々木久美子) 259
 Satake, Motoyoshi (佐竹元吉) 255, 290
 Sato, Kaoru (佐藤 薫) 310
 Sato, Kyoko (佐藤恭子) 264
 Sato, Michio (佐藤道夫) 296
 Sato, takeyuki (佐藤岳幸) 354, 357
 Sawada, Jun-ichi (澤田純一) 261, 266, 267, 298
 Sekine, Tsutomu (関根 勉) 71, 77
 Sekita, Hiroshi (関田 寛) 320
 Sekita, Setsuko (関田節子) 255
 Sekizawa, Jun (関沢 純) 123, 270, 299
 Shibata, Toshiro (柴田敏郎) 288, 290, 291, 303
 Shibayama, Rie (柴山理恵) 314
 Shibutani, Makoto (渋谷 淳) 55, 256
 Shikano, Mayumi (鹿野真弓) 354, 357
 Shimo, Takeo (下 武男) 276
 Shimomura, Koichiro (下村講一郎) 77, 291, 292
 Shintani, Hideharu (新谷英晴) 256, 296
 Shoda, Toshiyuki (正田俊之) 277, 281
 Sofuni, Toshio (祖父尼俊雄) 272, 273, 284, 302
 Sueyoshi, Shoko (末吉祥子) 21, 266
 Sugimoto, Naoki (杉本直樹) 264, 265
 Sugita, Takiko (杉田たき子) 263
 Suzuki, Meiko (鈴木明子) 261, 270
 Suzuki, Takashi (鈴木 隆) 260, 261
 Suzuki, Takayoshi (鈴木孝昌) 272

T

Tabata, Hirobumi (田畑洋文) 275
 Tagashira, Yoko (田頭洋子) 259, 287
 Takada, Kouichi (高田幸一) 354
 Takada, Yoko (高田容子) 301
 Takagi, Hisayoshi (高木久宜) 63, 276
 Takagi, Kayoko (高木加代子) 278
 Takahashi, Michihito (高橋道人) 266, 267
 Takahashi, Yu (高橋 雄) 276, 278
 Igarashi-Takai, Takako (高井(五十嵐)貴子) 81, 107, 117, 270, 299
 Takatori, Kosuke (高鳥浩介) 261, 269, 270, 299
 Takatsuki, Satoshi (高附 巧) 259
 Takeda, Yuiko (武田由比子) 263
 Takegawa, Kiyoshi (竹川 潔) 276
 Takizawa, Tamotsu (瀧澤 保) 63
 Tamiya, Kenichi (田宮憲一) 354
 Tamura, Toru (田村 啓) 63, 276
 Tanabe, Hideyuki (田辺秀之) 286, 300
 Tanaka, Toshikazu (田中寿一) 261
 Tanaka-Kagawa, Toshiko (香川(田中)聡子) 256, 258, 259
 Tanakamaru, Zen-yo (田中丸善洋) 278, 279
 Tanamoto, Ken-ichi (棚元憲一) 268
 Tanimoto, Tsuyosi (谷本 剛) 140, 142, 145, 148, 152, 155, 250, 288, 358

Tanno, Masayuki (丹野雅幸) 21
 Teshima, Reiko (手島玲子) 261, 266, 298
 Tokunaga, Hiroshi (徳永裕司) 103, 257, 258
 Tokuzumi, Maho (徳住真帆) 322
 Tonogai, Yasuhide (外海泰秀) 100, 131, 135, 288, 303, 358
 Toyoda, Kazuhiro (豊田和弘) 55, 277
 Toyoda, Masatake (豊田正武) 259, 260, 261, 262, 296
 Kanayasu-Toyoda, Toshie (豊田(金安)淑江) 253
 Tsuchiya, Toshie (土屋利江) 256
 Tsuda, Makoto (津田 誠) 272, 273
 Tsuda, Mitsuhiro (津田充宥) 276
 Tsuji, Sumiko (辻 澄子) 100, 131, 135
 Tsumura, Yukari (津村ゆかり) 288

U

Uchida, Eriko (内田恵理子) 253, 254
 Uchino, Tadashi (内野 正) 103, 257, 258
 Umemura, Takashi (梅村隆志) 272, 273
 Uneyama, Chikako (畝山智香子) 55, 277, 281
 Usami, Makoto (宇佐見 誠) 45, 50, 275

W

Wang, Xue (王 雪) 338

Y

Yagami, Takeshi (矢上 健) 295
 Yamada, Kazuya (山田和也) 71
 Yamada, Masami (山田雅巳) 284, 285
 Yamada, Noriyo (山田典代) 339
 Yamada, Takashi (山田 隆) 263, 264, 265, 297
 Yamaguchi, Takamasa (山口高正) 268
 Yamaguchi, Teruhide (山口照英) 253
 Yamakoshi, Yoko (山越葉子) 266, 269, 298
 Yamamoto, Miyako (山本 都) 37, 252
 Yamazaki, Takeshi (山崎 壮) 266
 Yasuhara, Kazuo (安原加壽雄) 63, 276, 278
 Yomota, Chikako (四方田千佳子) 259, 287, 303
 Yoshii, Kimihiko (吉井公彦) 288
 Yoshimatsu, Kayo (吉松嘉代) 77
 Yoshioka, Sumie (吉岡澄江) 250, 293

訂正記事

国立衛生試験所エルカトニン標準品 (Control 921)

衛生試験所報告, 112号 161-166 (1994)

本文中の p.161 右下から1行目および p.162 左下から12行目に記載のエルカトニン国際標準品の力価「11 IU/Amp.」を「15 IU/Amp.」へ訂正します。

さらに, p.162 左上から2行目および p.162 左下から12行目に記載の旭化成工業社内標準品の力価の単位「IU/Amp.」を「エルカトニン単位/Amp.」へ訂正します。

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、研究論文、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掲載する。
 - 特 論：国立医薬品食品衛生研究所の研究業務に関連する主題について、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。
 - 研究論文：新知見を含むか、あるいは独創的な内容の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、新知見を含むか、あるいは独創的な内容の研究成果をまとめたもので、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（ダブルスペースで日本語；26字×24行英語；55字程度×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（日本語及び英語の本文は、刷り上り1ページはA4用紙約4枚に相当する。また、表、図、写真は、約2枚が刷り上り1ページに相当する）。
 - 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。
 - 研究論文：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：一題目についてダブルスペースで、日本語；26字×24行以内、英語；55字程度×24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、研究論文、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、研究論文、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、研究論文については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。
 - また、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，研究論文については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。ただし，英文表現が不明瞭な場合には受理しないこともある。
原稿の語句の統一をはかるため，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，必ず半角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），示差熱分析法ー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 *Papaver somniferum* L.
スモールキャピタル ===== 例：L-ascorbic acid
8. 特論，総説，研究論文，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に*印（複数のときは*1，*2...）を記して脚注とする。
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*1・東 京子*2
Studies on the Identification of Drugs II
Chromatographic Methods for the Analgesics
Mamoru Yoga[#], Ichiro Seta^{*1} and Kyoko Azuma^{*2}
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
158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext.200;
Fax: 03-3700-6950; 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，単数形とする。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。

- 8.4 引用文献：本文の引用箇所の右肩に¹⁾，^{2,3)}，^{4,6)}のように記し，本文末尾に文献として引用順に出来る限り英文で記載する。なお，和文雑誌・単行本の場合は，ローマ字書きで記載する（ローマ字書きにすると意味が分かりづらい場合には，日本語で記載する）。雑誌名はChemical Abstracts及び日本化学総覧の略記法による。雑誌名はイタリック体（日本語記載の場合を除く），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**, 2345-2356 (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) Eiken, T. and Kousei, K.: *Eiken Zasshi*, 234 456-467 (1998)

- 8.7 図：図 (Fig.) は提出された原稿を70%縮小して，そのまま版下に用いるので，本文とは別に各々一つずつをA4用紙の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84 mm）か二段（幅175 mm）かを考慮し，刷り上がり一段の場合には原図幅120 mm，二段の場合には原図幅250 mmに収まるようにする。図には通し番号を付ける (Fig.1., Fig.2.,...). 図番号，表題，説明をまとめて別のA4用紙に，原則として英語で書く（表題は大文字ではじめ最後に「.」を付けない。また，説明は本文を参照しなくても理解できるよう詳細に記載する）。

例：Fig.1. Influence of enzyme concentration on reductive suger production

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（カラー写真可）を用いる場合には，鮮明なものを使用する。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84 mm）か二段（幅175 mm）かを考慮する。表には通し番号を付ける (Table 1., Table 2.,...). 表番号，表題，説明をまとめて別のA4用紙に，原則として英語で書く（表題は大文字ではじめ最後に「.」を付けない。また，説明は本文を参照しなくても理解できるよう詳細に記載する）。

例：Table 1. Classical transgenic mice and carcinogenicity

表中の文章は，原則として英語で書き，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。

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，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）を用い，刷り上がり一段の場合には原表幅120 mm，二段の場合には原表幅250 mmに収まるように作成し，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120回レギュラトリーサイエンス討論会（2000.3,岐阜）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12年5月1日

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	明 ^る い	明い	カ	おそらく	恐らく	恐れ、畏れ	
	あきらかに	明 ^ら かに	明かに		おそれ	おそれ	おだやかに	
	あげる	上 ^げ る	上る		おだやかに	穏やかに	落とし	落とし
	あたためる	一 ^加 温する			おとし	落 ^と し	各々	おのおの
	あたる	当 ^た る	当る		おのおの	各々	おのずから	自ら
	あたらしい	新 ^し い	新 ^し い		おのずから	おのずから	おびる	帯びる
	あてる	当 ^て る	当る		おびる	帯びる	おもな	おもな
	あつかう	扱 ^う	扱 ^う		おもな	主 ^な	およそ	凡そ
	あつめる	集 ^め る	集 ^め る		およそ	およそ	および	及び
	あらかじめ	あらかじめ	予 ^め		および	および	終わる	終る
あらたに	新たに	新 ^た に	終わる	終わる				
あらためる	改 ^め る			かえす	返 ^す	返 ^す		
あらわす	表 ^(現) す	表 ^(現) わす	表 ^(現) に出し	かえて	かえて	却 ^て		
			示す。着わす	かかわらず	かかわらず	拘 ^ら ず		
			現 ^(現) →かくさずに	かける	欠 ^け る	欠 ^る		
			示す	かさねる	重 ^ね る			
	あらゆる	あらゆる	全 ^る	かつ	かつ	且 ^つ		
	ある	ある	在 ^る 、有 ^る	かつしよく	褐色	かつ色		
	あるいは	あるいは	或 ^は	かならず	必ず	必 ^ず		
	あわ	あわ	泡	かねる	兼ねる	兼 ^る		
	あわす	合 ^わ す	合 ^す	～から	〇〇から作る。△△から再結晶			
イ	いう	いう	言 ^う	がらす	ガラス	硝子		
	いくぶん	いくぶん	幾 ^分	かわる	代 ^わ る	代 ^る		
	いずれ	いずれ	何 ^れ			(代理・代人など)		
	いちじるしい	著 ^し い	著 ^し い	かわる	変 ^わ る	変 ^る (うつりかわる、変化)		
	いっかねん	一 ^カ 年	1箇 ^年 、一 ^ケ 年					
	いっそう	一 ^層	いっ ^そ う	カ月	カ月	箇 ^月		
	いったん	一 ^端	いっ ^た ん	10カ所	10カ所	10ヶ ^所 、10箇 ^所		
	いって	いっ ^て	行 ^っ て					
	いる	い ^る	居 ^る	キ	きしゃく	希 ^釈		
	いる	入 ^る	入 ^る	きめる	決 ^め る	決 ^る		
いれる	入 ^れ る	入 ^る	きりあげ	切 ^り あげ	切 ^り あげ			
いわゆる	い ^わ ゆる	所 ^請	きわめて	極 ^め て	き ^わ めて			
ウ	うしなう	失 ^う		ク	くふう	工 ^夫	く ^ふ う	
	うすい(物)	薄 ^い	薄 ^い	くらい(助詞)	く ^ら い	位		
	うすい(色)	う ^す い		くらべる	比 ^べ る	比 ^る		
	うすめる	一 ^希 釈する	薄 ^め る	くりかえす	繰 ^り 返 ^す	繰 ^り 返 ^す		
	うちに	う ^ち に	内 ^に 、中 ^に	くみあわせ	組 ^み 合 ^せ (名詞)			
	うながす	促 ^す	促 ^か す		組 ^み 合 ^せ (動詞)			
うる	う ^る	得 ^る (can or may)	ケ	けんたく	懸 ^濁	け ^ん たく		
うるおす	潤 ^す	一 ^え る	コ	こえる	超 ^え る	越 ^え る		
		潤 ^お す	こげる	こ ^げ る	焦 ^げ る	焦 ^る		
エ	えがく	描 ^く	画 ^く	ここ	こ ^こ	此 ^処		
	えらぶ	選 ^ぶ		こころみる	試 ^み る	試 ^み る		
	える	得 ^る	(get)→う ^る	こたえ	答 ^え	答 ^(表) 中)		
オ	おいて	お ^い て	於 ^い て	こたえる	こ ^た える	応 ^え る		
	おおう	覆 ^う	被 ^う	こと	こ ^と	事 [*]		
	おおきい	大 ^き い	大 ^い	こと	こ ^と	毎 ^日		
	おおむね	お ^お むね	概 ^ね	ことなる	異 ^な る	異 ^る		
	おこなう	行 ^う	行 ^な う	ことに	殊 ^に			
	おこる	起 ^こ る	起 ^る	この	こ ^の	此 ^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
コ	こまかい (洗い)こむ これ これら	細かい (洗い)込む これ これら	細い 之 此等, これ等	タ	たとえば ために	例えば ために	たとえば 為に
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	チ	ちいさい ちかづく ちようど ちよつと	小さい 近づく ちようど ちよつと	小さい 近づく, 近づく 丁度 一寸
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 じょうりゆう じよじよに 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 一終点 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 屢々 しぶい 終う, 了う 湿める しゃ光 し易い, 仕易い 終末点 じゅうぶん 生ずる 蒸溜 調る	ツ	ついて ついで づつ つぎに つくる つける 詰める つねに	ついて 次いで ずつ 次に 作る 付ける 詰める 常に	就いて, 付いて 宛 つぎに
ス	すくない ずつ すてる 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	テ	ていする できる	呈する できる	出来る
セ	せん せんじょう	栓 洗浄	せん, セン 洗滌	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 時々 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 伴う
ソ	そう そうにゆう そこ その そのほか それぞれ	沿う 挿入 そこ その そのほか それぞれ	そう入 其処 其の 其他 夫々	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 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 成べく, 成る可く
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	大体 大抵 絶えず 互いに 確かめる だす ただ ただし 直ちに	だいたい たいてい 絶ず たがいに 確める 出す 唯, 只 直に	ニ	にかわじょう にごる にそう にゆうばち	にかわ状 濁る 二層 乳鉢	膠状 2層 乳ばち
				ヌ	ぬぐう ぬらす	ぬぐう ぬらす	拭う 濡らす
				ネ	ねんちゆう	粘稠	
				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
				ハ	はかり はかる はじめて はじめの はじめる	はかり 量る 初めて 初めの 始める	秤 測る, 計る→当用 漢字 初て

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
ハ	はやい	速い		ヨ	よい	よい	好い, 良い
ヒ	ひとしい ひとつ ひとつづつ	等しい 一つ 一つずつ			よいいに ようす ようだ(に) ようやく ようゆう よほど よる より	容易に 様子 ようだ(に) ようやく →融解 よほど よる より 比較するとき用いる。 例: ○○より△△が大きい	ようす 様だ(に) 漸く 熔融 余程 依る, 因る
フ	ふきん ふくざつ ふたたび ふりまぜる ふれる	付近 複雑 再び 振り混ぜる 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, 略ぼ	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 まぜる 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 迄 俛	ロ	ろう ろうと ろかする	ろう 漏斗 ろ過する	蠟(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 互って
ム	むしろ むずかしい むすぶ	むしろ 難しい 結ぶ	率ろ 六ヶ敷しい 結すぶ				
メ	めずらしい	珍しい	珍しい				
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 もつとも もつぱら もどす もとに もとづく もの もる	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 最も 専ら 戻す(もどす) 下に 基づく もの 漏る	燃る 若し 用る 勿論 以て もつぱら 許に 基く 物*, 者*				
ヤ	やすい やはり やむをえず 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 止むを得ず 稍々 柔い, 軟かい				
ユ	ゆえ ゆく	ゆえ 行く	故				

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 (deca)	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10³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	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	°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	ルクス	lx	光束	ルーメン	lm
吸収線量	グレイ	Gy	放射能線量当量	ベクレル	Bq
				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	m^3, cm^3, l, ml	速さ	m/s
加速度	m/s^2	波数	cm^{-1}	密度	$kg/m^3, g/cm^3, g/ml$
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	$Pa \cdot s$	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	K_m	標準偏差値	S.D.
分解点	mp(dec.)	Rf値	R_f	標準誤差	S.E.
沸点	bp	保持時間	t_r	紫外吸収	UV
凝固点	fp	50%致死量	LD_{50}	赤外吸収	IR
比重	d	50%有効量	ED_{50}	核磁気共鳴	NMR
屈折率	n	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	A	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.	マスペクトル	MS
pK値	pK	筋肉投与	i.m.		

平成12年度図書委員

三瀬勝利 神沼二真 *広瀬雅雄 青柳伸男
*日向昌司 小野景義 *五十嵐良明 *神野秀人
*宮原誠 佐藤恭子 福原潔 *手島玲子
*佐藤陽治 *宮原美知子 *関田清司 簾内桃子
*渋谷淳 増村健一 廣瀬明彦 中本庸司
*辻澄子 下村講一郎 *矢澤達哉

(*印は編集委員)

国立医薬品食品衛生研究所報告書 第118号

平成13年2月20日 印刷

平成13年2月28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 ショウワドウ・イープレス株式会社