

ISSN 1343-4292
CODEN : KISHFC

国立医薬品食品衛生研究所報告

平成 13 年

Bulletin of
National Institute of
Health Sciences

No.119

2001



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

平成 13 年

Bulletin of
National Institute of
Health Sciences

No.119 2001

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119号第一部

特論

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品質・安全性評価早川堯夫・豊島 聡・山口照英・川西 徹.....	1
生活環境中のアレルギー原因物質について—食品を中心に—.....手島玲子.....	27

総説

ヒト資料の研究利用に関する政府等ガイドラインの現状.....増井 徹・林 真・田辺秀之・水澤 博.....	40
---	----

研究論文

N-メチルフェニル-N'-メチルフェニル-p-フェニレンジアミン(MMPD)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.....	47
Isoquinoline alkaloid production by transformed cultures of <i>Papaver somniferum</i>吉松嘉代・下村講一郎.....	52

ノート

表面プラズモン共鳴(SPR)イムノアッセイによるフォリスタチンの迅速定量日向昌司・川崎ナナ・日向須美子・太田美矢子・伊藤さつき・早川堯夫.....	57
Change in the Particle Size Distribution of poly(L-lactide) Wear Debris by γ -Ray Irradiation伊佐間和郎・土屋利枝.....	61

研究に関する資料

糖鎖含有タンパク製剤の品質評価試験法に関する研究(Ⅲ)—エリスロポエチン製剤 その3伊藤さつき・川崎ナナ・太田美矢子・日向昌司・日向須美子・早川堯夫.....	65
平成12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・海野有紀子・天倉吉章・中村優美子・外海泰秀.....	70
食用黄色5号(サンセットイエローFCF)アルミニウムレーキの不当事例について辻 澄子・海野有紀子・中村優美子・外海泰秀.....	74

標準品に関する資料

国立医薬品食品衛生研究所リン酸ベタメタゾ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.....	78
国立医薬品食品衛生研究所リン酸ヒドロコルチゾ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.....	82
国立医薬品食品衛生研究所プロピオン酸ベクロメタゾン標準品(Control 011)岩田美保・小出達夫・前川京子・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史.....	86
国立医薬品食品衛生研究所リン酸デキサメタゾ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.....	89
国立医薬品食品衛生研究所グリチルリチン酸標準品(Control 001)小出達夫・岩田美保・前川京子・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史.....	93
国立医薬品食品衛生研究所塩化ベルベリン標準品(Control 001)小出達夫・岩田美保・前川京子・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史.....	97
国立医薬品食品衛生研究所エルゴカルシフェロール標準品(Control 001)前川京子・岩田美保・小出達夫・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史.....	101
国立医薬品食品衛生研究所アルプロスタジル標準品(Control 001)前川京子・岩田美保・小出達夫・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史.....	104
国立医薬品食品衛生研究所コレカルシフェロール標準品(Control 001)前川京子・岩田美保・小出達夫・斎藤博幸・谷本 剛・岡田敏史.....	107
国立医薬品食品衛生研究所エンドトキシン100標準品(Control 0101)中川ゆかり・前田秀子・村井敏美・堀内善信.....	110

国立医薬品食品衛生研究所報告第119号第二部

業務報告	113
平成12年度所外研究員等の受け入れ名簿	167
誌上発表（原著論文）	170
誌上発表（総説・解説等）	227
単行本	238
行政報告	241
学会発表	245
レギュラトリーサイエンス関連会議報告	279
衛研例会	290
平成12年度に行った主な研究課題	292
国家検定及び検査等の処理状況	301
国立医薬品食品衛生研究所標準品	306
国立医薬品食品衛生研究所報告第119号人名索引	315
国立医薬品食品衛生研究所報告第119号キーワード索引	320

CONTENTS
Bulletin of National Institute of Health Sciences, No.119, Part 1**Special Report**

- Studies on Quality and Safety Control of Drugs for Human Use from Transgenic Animals/Clone Animals
Takao Hayakawa, Satoshi Toyoshima, Teruhide Yamaguchi and Toru Kawanish1
- Hypersensitivity about Environmental Chemicals-Mainly about Food Allergy.....Reiko Teshim27

Reviews

- Japanese guidelines on reserch use of human materials and disease information
Tohru Masui, Makoto Hayashi, Hideyuki Tanabe, Hiroshi Mizusawa40

Originals

- Teratogenicity study of N-methylphenyl-N'-methylphenyl-p-phenylenediamine (MMPD) in rats by oral administration
Kazue Sakemi, Makoto Usami, Hideo Kurebayashi and Yasuo Ohno47
- Isoquinoline alkaloid production by transformed cultures of Papaver somniferum
Kayo Yoshimatsu and Koichiro Shimomura52

Notes

- Rapid quantitation of follistatin by surface plasmon resonance (SPR) immunoassay.
Masashi Hyuga, Nana Kawasaki, Sumiko Hyuga, Miyako Ohta, Satsuki Itoh, and Takao Hayakawa57
- Change in the Particle Size Distribution of poly(L-lactide) Wear Debris by γ -Ray Irradiation
Kazuo Isama, Toshie Tsuchiya61

Technical Data

- Study on evaluating methods for the quality control of glycoprotein products. (III) -Erythropoietin products. Part 3
Satsuki Itoh, Nana Kawasaki, Miyako Ohta, Masashi Hyuga, Sumiko Hyuga, Takao Hayakawa65
- Estimated Production by the Official Inspection of Tar Colors (Including Aluminum Lakes) in Fiscal Year 2000
Sumiko Tsuji, Yukiko Umino, Yoshiaki Amakura, Yumiko Nakamura, Yasuhide Tonogai70
- Studies on Rejected Food Yellow No. 5 (Sunset Yellow FCF) Aluminum Lake
Sumiko Tsuji, Yukiko Umino, Yumiko Nakamura and Yasuhide Tonogai74

Reference Standard Data

- Betamethasone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 001) of National Institute of Health Sciences
Miho Iwata, Tatsuo Koide, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto, Satoshi Okada78
- Hydrocortisone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 001) of National Institute of Health Sciences
Miho Iwata, Tatsuo Koide, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto, Satoshi Okada82
- Beclometasone Dipropionate Reference Standard (Control 011) of National Institute of Health Sciences
Miho Iwata, Tatsuo Koide, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto, Satoshi Okada86
- Dexamethasone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 001) of National Institute of Health Sciences
Miho Iwata, Tatsuo Koide, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto, Satoshi Okada89
- Glycyrrhizic Acid Reference Standard (Control 001) of National Institute of Health Sciences
Tatsuo Koide, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto, Satoshi Okada93

Berberine Hydrochloride Reference Standard (Control 001) of National Institute of Health Sciences	
.....Tatsuo Koide, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto, Satoshi Okada	97
Ergocalciferol Reference Standard (Control 001) of National Institute of Health Sciences	
.....Keiko Maekawa, Miho Iwata, Tatsuo Koide, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto, Satoshi Okada	101
Alprostadil Reference Standard (Control 001) of National Institute of Health Sciences	
.....Keiko Maekawa, Miho Iwata, Tatsuo Koide, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto, Satoshi Okada	104
Cholecalciferol Reference Standard (Control 001) of National Institute of Health Sciences	
.....Keiko Maekawa, Miho Iwata, Tatsuo Koide, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto, Satoshi Okada	107
The Endotoxin 100 Reference Standard of the National Institute of Health Sciences	
(the Japanese Pharmacopoeia Endotoxin 100 Reference Standard) (Control 0101)	
.....Yukari Nakagawa, Hideko Maeda, Toshimi Murai, Yoshinobu Horiuchi	110

Bulletin of National Institute of Health Sciences, No.119, Part 2

Annual Reports of Divisions	113
Researchers List in Fiscal Year 2000	167
Summaries of Papers Published in Other Journals (Original Papers)	170
Summaries of Papers Published in Other Journals (Review and Articles)	227
Title of Scientific Books	238
Scientific Reports to Governmental Agencies	241
Titles of Speeches at Scientific Meetings etc	245
Meeting Reports Related to Regulatory Science	279
NIHS Seminars	290
Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 2000	292
Survey of the Results of National Tests	301
Reference Standards Prepared by the National Institute of Health Sciences	306
Author Index	315
Subject Index	320

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品質・安全性評価

早川堯夫*, 豊島 聡, 山口照英, 川西 徹

Studies on Quality and Safety Control of Drugs for Human Use from Transgenic Animals/Clone Animals

Takao Hayakawa, Satoshi Toyoshima,
Teruhide Yamaguchi and Toru Kawanishi

Recently the pharmaceuticals, which were produced using transgenic animals, have been developed, and will be submitted for registration in nearly future in Japan as well as in USA and EU. In addition, clone animals are also thought to be useful for the productions of the pharmaceuticals. This study has been, therefore, undertaken to establish the technical requirement for registration of the pharmaceuticals. They should be evaluated from the following standpoints: 1) Transgene construct and its characterization; 2) Creation and characterization of the transgenic founder animal; 3) Establishment of a reliable and continuous source of transgenic founder animals; 4) Generation and selection of the production animals; 5) Maintenance of transgenic animals; 6) Recovery and purification of products from transgenic animals; 7) Characterization of products; 8) Process validation/evaluation and in-process test; 9) Specification of products; 10) Stability of products; 11) Preclinical safety evaluation and clinical evaluation. Cloning technology by nuclear transfer of a transformed somatic cell has been already applied to the creation of the transgenic founder animal for the production of pharmaceuticals. The pharmaceuticals produced using the clone animals could be evaluated from almost the same standpoints. However, the flexible evaluation will be also needed depending on the development of the technology.

Keywords: biotechnology-derived products, transgenic animals, clone animals, quality control, safety control

はじめに

近年のバイオテクノロジーの飛躍的な進歩により、1985年のヒトインスリンの承認を始めとして数多くのバイオテクノロジー応用医薬品が医療現場に供されている。これらは、微生物や動物細胞の組換え体由来の組換え医薬品あるいは動物細胞を大量培養する技術を用いた細胞培養医薬品である。

最近、欧米を中心にトランスジェニック技術を応用したヤギ、ウシ等の動物を用いて製造した医薬品が開発され、最も進んだものについては臨床試験が始まるなど、動物を医薬品工場として利用する技術が実用化段階に入ってきている。さらにはクローン動物の医薬品生産への利用の可能性も検討され始めている。こうした動向をうけて米国FDAにおいては、1995年に“Points to consider in the manufacture and testing of therapeutic products for human use derived from transgenic animals.”¹⁾、EU CPMPでも同年にガイドライン“Use of transgenic animals in the manufacture of biological medicinal products for human use.”²⁾を示し、トランスジェニック動物を利用して製造し

た医薬品の製造及び試験における留意事項を明らかにしている。

このトランスジェニック技術を応用した動物あるいはクローン動物による医薬品の製造は、遺伝子組換えと細胞培養を中心とした従来のバイオ技術による医薬品の製造よりはるかに効率的であるとされ、近い将来、当該技術を利用した医薬品が臨床に供されることが予想される。そこで、我が国でもトランスジェニック動物/クローン動物に製造させた製品について、医薬品製造の観点から品質、有効性、安全性を確保するために必要な試験方法や評価方法の検討が急務となっている。

そこで、日進月歩のトランスジェニック動物/クローン動物を利用した医薬品の製造技術の現状をまとめた。さらに医薬品製造の観点から、製造に利用される動物を作出、育成、維持する上での留意事項及び製品の品質や安全性確保に必要な評価技術に関して、トランスジェニック動物/クローン動物に関連する公表論文および医薬品製造の観点からの安全性に関する情報、上記米国FDA point to consider (PTC)¹⁾およびEU CPMPのガイドライン²⁾、また遺伝子組換え医薬品、細胞培養医薬品、遺伝子治療用医薬品、細胞治療用医薬品の品質、有効性、安全性確保を図る過程あるいは関連する評価技術の開発研究を行う過程で蓄積されてきた経験や知見、さらにICH文書の関連部分³⁻¹⁴⁾等を参考にして考察した。

*To whom correspondence should be addressed: Takao Hayakawa; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-9064

1. トランスジェニック動物を用いた医薬品開発の現状

1.1 トランスジェニック動物とは

トランスジェニック動物とは、人為的に組換えDNAを導入され形質が変化した動物と仮に定義される。トランスジェニック動物のタイプとしては1)生殖細胞系を含め動物を構成するすべての細胞にDNAが導入され遺伝性が獲得された動物、2)生殖細胞以外の体細胞に遺伝子が導入されるが遺伝性は獲得されていない動物、の2種類が考えられるが、医薬品生産用の動物工場として考えた場合、医薬品の恒常的生産という立場から、現在までに試みられているものは、主として前者のタイプである。

1.2 トランスジェニック動物によって生産される医薬品

外来遺伝子をマイクロインジェクション法により前核期受精卵に導入して動物個体を形質転換することによってトランスジェニック動物を作出する方法は1980年にマウスで初めて成功し¹⁵⁾、さらに1985年には家畜での形質転換の成功が報告された¹⁶⁾。その後1988年にこの技術を用いて乳汁中に医薬品を生産するトランスジェニック動物の作出が報告された^{17,18)}。以降、現在までに医薬品生産への応用が検討されているトランスジェニック動物由来製品の例¹⁹⁾をTable 1にあげた。このうちヒトアンチトロンビンIIIについては欧米で動脈血管バイパス手術時の血液凝固抑制薬として既に臨床第Ⅲ相試験がほぼ終了しており、またアルファー1プロテナーゼインヒビター(膵嚢胞性線維症治療薬)、アルファグルコシダーゼ(ボンベ病治療薬)等についても第Ⅱ相試験の段階にある。

Table 1 医薬品生産への応用が検討されているトランスジェニック動物由来製品の例

アルファグルコシダーゼ
アルファー1プロテナーゼインヒビター
アンジオテンシン
可溶性CD4HIVレセプター
グルタミン酸脱炭酸酵素
グルコセレブロシダーゼ
血液凝固第Ⅶ, 第Ⅷ, 第Ⅸ及び第Ⅹ因子
サイトカイン受容体
持続型組織プラスミノゲン活性化因子
囊(のう)胎性線維症トランスメンブラン制御因子
ヒトアンチトロンビンIII
ヒト型モノクローナル抗体(MAb)類
(MAb・融合タンパク質, MAb-腫瘍マーカー, 抗ルイスY抗原MAb, 抗ヒトトランスフェリンレセプターMAb, 抗ヒトトランスフェリンレセプター1本鎖MAb)
ヒト血清アルブミン
ヒト成長ホルモン
ヒトフィブリノーゲン
プロインスリン
プロテインC
プロラクチン
ベータインターフェロン
ミエリン塩基性タンパク

1.3 トランスジェニック動物による医薬品生産の方法と利点

医薬品生産のためのトランスジェニック動物の作出とその利用法に関してはさまざまな戦略や技術があり得る。現在医薬品の動物工場としてトランスジェニック動物の作出が試みられている動物種としては、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、ウサギ、マウス等があげられる。この中で、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、ウサギでは、乳腺特異的に発現するカゼイン等の乳タンパク質のプロモーター配列に目的遺伝子をコードする領域を連結させ、これを受精卵に導入し、個体として誕生・成熟させた後、乳腺に目的物質を発現させ、乳汁中に分泌させるという方法が一般的である(Fig.1)。実際の生産では、目的タンパク質の生産量が多い動物を初代トランスジェニック動物として選別、確立し、この初代動物を交配することによって生産用トランスジェニック動物を作出し、これら生産用トランスジェニック動物の乳汁を集めて目的タンパク質を抽出、精製(さらに場合によっては加工)して医薬品とする。この方法は、細胞培養系とくらべて目的物質の効率的生産が可能系として注目されている。また、乳タンパク質の発現やタイミングを調節する要素(塩基配列)もよく解明されており、目的タンパク質が外分泌されるという点も含めて、挿入された外来遺伝子発現が動物の健康に及ぼすリスクも低いという利点もある。さらに、目的タンパク質がきわめて高濃度に発現し、しかも共存するタンパク質類等が明らかであるところから精製法に関する戦略も立てやすい。また乳腺という天然のフィルターを通過して生産物が得られるという過程を経るので、生産動物由来のウイルス等微生物汚染の可能性が比較的low、安全性に関する対策を立てやすいという利点も考えられる。乳汁は、いわゆるプリオンに関しても比較的安全性の高い医薬品出発物質であると考えられている。その他、尿、精液、血液等が動物工場を用いた医薬品製造における目的タンパク質の分泌先として検討されているが、WHOは乳汁、尿、精液、血液はプリオンに関して非感染であろうとみなしている^{20,21)}。ここで生産しようとするタンパク質の多くは糖タンパク質であるが、生産動物として利用しようとしているのは主にヤギ、ヒツジ、ウシ、ブタであり、従来の細胞培養系による糖タンパク質生産に一般的に利用されているげっ歯類細胞に比べ、系統発生的にヒトにより近い動物系であるところから、付加される糖鎖もヒト型に近くなるのではないかと期待もある。

1.4 トランスジェニックマウスを用いたヒト型モノクローナル抗体の作製

トランスジェニックマウスでは、乳汁等への分泌を利用する医薬品の製造も考えられているが、生産効率は大動物に遠く及ばない。しかし、ヒト型モノクローナル抗体の生産についてはトランスジェニックマウスが唯一利用できる動物として作出に成功している²²⁾。この場合、①マウス自身の免疫グ

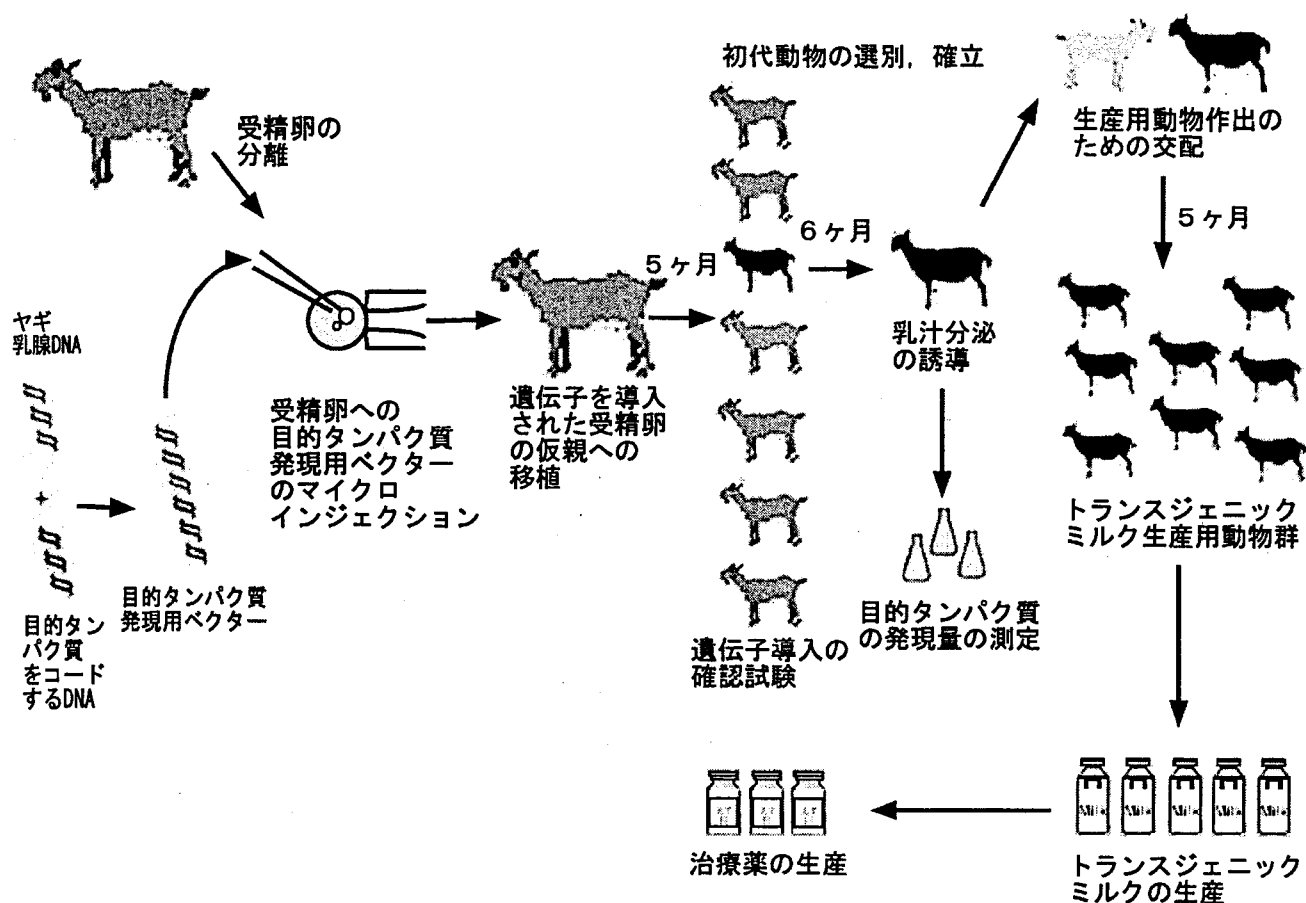


Fig. 1. トランスジェニックヤギを用いた医薬品の生産

はじめに生産する医薬品（目的タンパク質）をコードする DNA とヤギの乳腺由来タンパク質（例えばカゼイン）のプロモーター領域を結合させ、目的タンパク質を動物の乳腺で発現させ乳汁に分泌させるためのベクターを作製する。これをヤギから摘出した受精卵にマイクロインジェクションする。この遺伝子導入受精卵を仮親の子宮に移植する。生まれた子ヤギについて遺伝子導入を確認し、導入が確認された動物について乳汁分泌を誘導する。目的タンパク質の生産量が多い動物を初代動物とし、この初代動物を交配することによって生産用トランスジェニック動物を作出する。生産用トランスジェニック動物の乳汁を集め、医薬品を得る。ヒツジ、ブタ、ウシ、ウサギ、マウスなどについても同様の方法で医薬品の生産が試みられている。

ロブリン遺伝子を破壊したノックアウトマウスを作出する。
 ②他方酵母人工染色体 (YAC) のような巨大ベクターを用いてヒト免疫グロブリンのH鎖及びL鎖 (κ鎖) の遺伝子を導入したトランスジェニックマウスをそれぞれ作出し、これらを交配することによりマウス型に加えヒト型の免疫グロブリンを産生するトランスジェニックマウスを作出する。
 ③①のマウス免疫グロブリンを産生しないマウスと ②のヒト免疫グロブリンを産生するマウスを交配することによりヒトの抗体を作る (マウスの抗体は作らない) トランスジェニックマウスを完成させる。こうして得られたトランスジェニックマウスを目的抗体に対する抗原で免疫し、リンパ球を取り出して、ミエローマ細胞とのハイブリドーマを調製後、目的抗体産生ハイブリドーマを選択する。医薬品としてのモノクローナル抗体はこのハイブリドーマの大量培養により得られる。

1.5 医薬品生産用の動物工場としてのトランスジェニック動物の問題点

1.5.1 初代トランスジェニック動物の作出効率の改善と体細胞クローン動物作出技術の利用

このようにトランスジェニック動物を利用する医薬品生産は細胞培養による生産と比べて、多くの利点を有しているが、残されている大きな技術的課題の一つに、初代トランスジェニック動物の作出効率の改善がある。

トランスジェニック動物の作出方法には、一般に用いられる ①受精卵へ直接組換え遺伝子をマイクロインジェクションする方法の他、②組換え遺伝子を導入したES細胞を用い、キメラ動物として個体発生させる方法、③レトロウイルスベクターを用いて初期発生胚に感染させる方法、などがある。マウスの場合は②のES細胞を用いてキメラ動物として個体発生させる方法も目的に応じて使われているが、動物

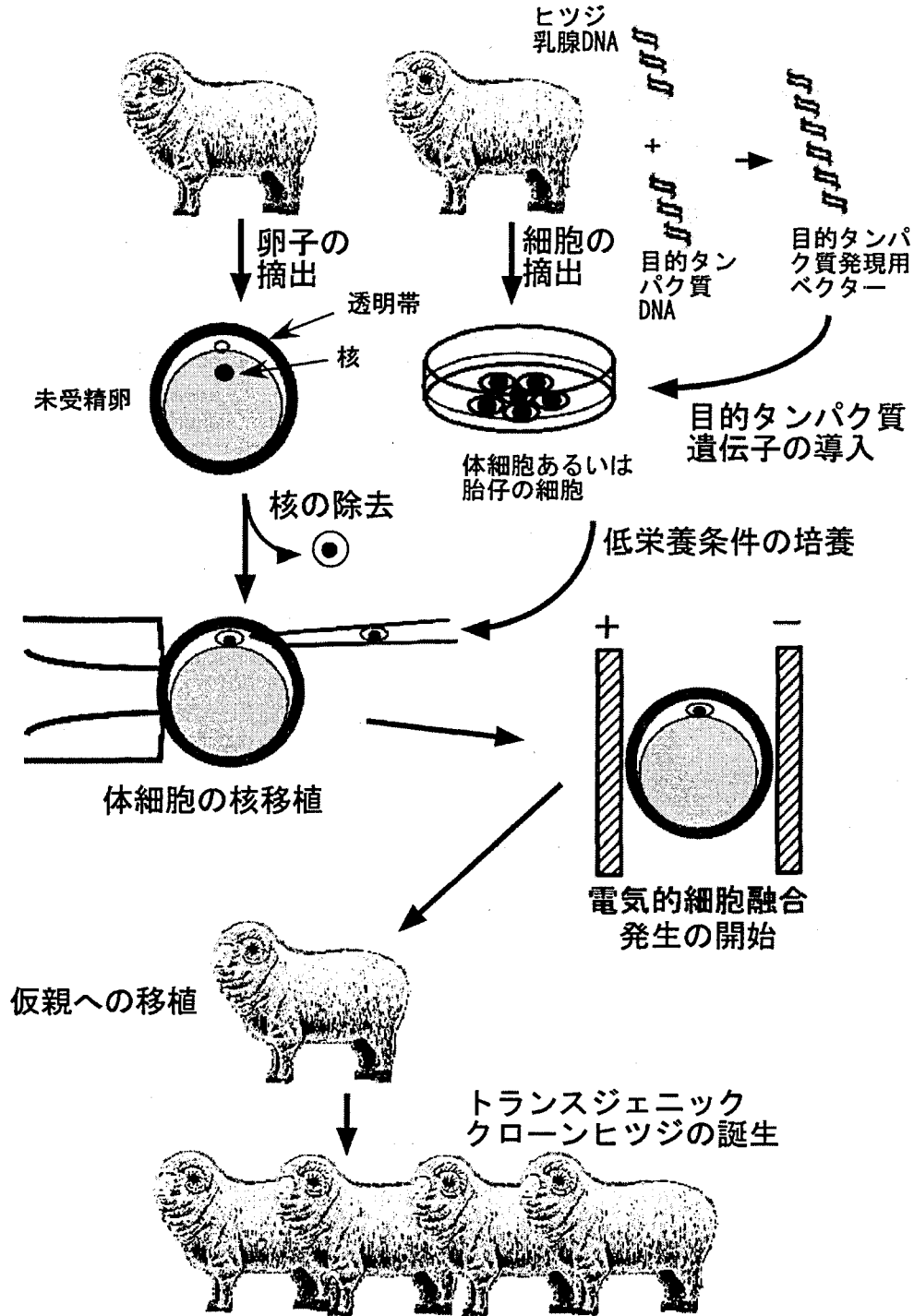


Fig.2 核移植によるトランスジェニッククローンヒツジの作出

Fig.1と同様に目的タンパク質を乳汁に分泌させるためのベクターを作製する。このベクターを用いて、ヒツジの乳腺細胞（体細胞）や胎子の細胞に目的タンパク質遺伝子を導入し、形質転換細胞をクローン化する。次にこの形質転換クローン細胞を、ヒツジから摘出し、更に核を除去した未受精卵に移植する。この際、移植前に栄養分の濃度を下げた培養液中で細胞を培養することにより細胞周期を休止期にあわせることが重要で、この飢餓培養というステップを入れたことが体細胞クローン動物細胞の作出にWilmutら²³⁾が初めて成功した鍵であった。核移植後の卵に電気刺激を与え、移植細胞と卵子との細胞融合を起こさせると同時に発生を開始させる。これを仮親の子宮へ移植し、トランスジェニッククローンヒツジを出産させる。

工場として主に用いられるヤギ, ヒツジ, ウシ等の家畜においてはES細胞の樹立は困難を極めている。またレトロウィルスベクターを用いる方法も動物工場としてのトランスジェニック動物の作出法としては一般化していない。一方, 現在までのところ, 最も一般的な受精卵へ組換え遺伝子をマイクロインジェクションする方法 (Fig. 1) によるトランスジェニック動物の作出効率は極めて低く (通常0.1~1%), その改善が望まれてきた。この点では, 1997年ロスリン研究所とPPL Therapeutics社の共同チームによる体細胞クローン動物の作出の成功²³⁾ (Fig. 2) は, トランスジェニック動物の作出においてブレークスルーとなる可能性があり, 注目を浴びている。彼らは乳腺由来の培養細胞を核を除去した未受精卵に核移植し, 電気刺激によって発生を開始させることによってクローン動物を得ることに成功した²⁴⁾。したがって, 予めジーンターゲット法により適切な部位へ遺伝子を導入した体細胞をクローン化し, 均一な細胞を用いて核移植を行えば, 医薬品の製造に適した初代トランスジェニック動物を確立することが容易になることが予想された。事実, ロスリン研究所とPPL Therapeutics社のグループは, 続いて乳汁にヒト血液凝固第IV因子を分泌するトランスジェニッククローンヒツジの作出に成功した²⁵⁾。さらにはヒトアンチトロンビンIIIを乳汁に分泌するトランスジェニッククローンヤギ²⁶⁾, あるいは組織利用を目的として $\alpha 1, 3$ ガラクトース転移酵素遺伝子をノックアウトしたクローンブタ²⁷⁾, あるいは $\alpha 1, 3$ ガラクトース転移酵素遺伝子やプリオン遺伝子を欠失したクローンヒツジ²⁸⁾の作出といった成功例の報告が続いている。

しかしこのように体細胞トランスジェニッククローン動物の作出は次々と報告されているものの²⁴⁻³⁰⁾, 実際にはこれら動物の作出効率は依然として改善する方向には向かっていない。即ちクローン胚を仮親に移植した後に, そのほぼ半数は着床前後で死滅し, その後分娩にいたる様々な過程で流産死するものが少なくない。さらに出生直後には, 胎児の過大化, 胎盤の肥大化, 呼吸不全 (肺機能の未成熟), 線維芽細胞の異常増殖, 胸腺の欠失などにより, ほぼ半数が1週間以内に死亡している。したがって, 成長する個体は移植したクローン胚の数%以下が普通である。その主な原因としてはインプリンティング遺伝子のリプログラミング異常が推定されているが^{31, 32)}, 直接的な証拠は得られていない。このように体細胞クローン動物の作出効率を改善させるまでには今後更なる技術的な改良が必要と考えられ, 医薬品生産用の初代トランスジェニック動物作出法として通常用いられているマイクロインジェクションによる遺伝子導入法に本格的に置き換わるまでには至っていない。しかしながら, 体細胞クローン動物の作出の歴史はまだ4年に過ぎず, 様々な可能性を求めてクローン動物の作出が世界各地で試みられていることからすれば, 近い将来作出効率が改善される可能性は十分考えられる。

その他初代トランスジェニック動物の作出効率を改善する試みとしては, レトロウィルスベクターを用いて卵母細胞への遺伝子導入効率を飛躍的に高めた報告³³⁾, またマウスクローン動物の作出においては, 体細胞ではなく胚性幹細胞 (ES細胞) の核移植を成功させた報告³⁴⁾もあり, 新しい遺伝子導入法に関する研究は多彩になってきており, 今後の技術革新に期待するところは大きい。

1.5.2 生産用トランスジェニック動物の不均一性とクローン動物の利用の可能性

トランスジェニック動物を利用した医薬品生産システムを開発する過程では, 目的物質を高収量かつ安定的に生産できる遺伝的性質をもった初代トランスジェニック動物を選別, 確立することがまず必要である。次に, これらの動物を他の動物と交配させ, 同様な遺伝的形質を有する生産用動物を作出することが必要となる。この過程においては, 通常の交配では初代トランスジェニック動物と同じ遺伝的形質を受け継ぐ動物は一定の確率以上は生まれず, また当然のことながら個体差は大きい。そこで, 今後の方向としては優良な初代トランスジェニック動物を得た後, この動物から遺伝的に同様なクローン動物を得て生産用動物として用いる方法が考えられる。しかし体細胞クローン動物においては, 1.5.1に記したように作出効率は極めて低く, 現状では経済的観点からもこの方法を採用しにくい状況にある。さらに初代動物から何世代にも渡って安定的にクローン動物の作出が可能かどうかについてもまだ未知である。例えばクローンヒツジ“ドリー”の場合には, 染色体末端のテロメア長はその元になった体細胞のそれと比べると短縮しており, クローン動物は生後直後でも生物学的にドナー細胞の年齢を引き継ぐ可能性が示唆された³⁵⁾。一方, 老化したウシ体細胞を用いてクローン動物を作出した場合には, テロメア長は同等か逆に伸長していることが報告されている^{36, 37)}。マウスでは6世代のクローンについてテロメア長の解析がなされているが, やはり伸長傾向が報告されており, 動物の寿命あるいは行動にも異常は生じていない³⁸⁾。しかし同じ報告の中で, 世代を経過するにつれ, 作出効率が減少するという結果が得られており, 5世代あるいは6世代では極めて低値となっている。一方ウシでも少なくとも2世代のクローンを繰り返し作出することは可能であることが確認されているが, それ以降については検討途上にある。このように現在までに得られている情報は断片的である。特に家畜動物では複数世代にわたる遺伝的安定性の確認には長時間を要することもあり, これら体細胞クローン動物の安定性について結論が得られるまでには, 今後のデータの蓄積と解析が必要である。

個体差のない生産用動物を得る手段としては, 初代トランスジェニック動物から得た体細胞を用いて生産用トランスジェニッククローン動物を作出するという方法以外にも, 胎

仔を含めた成体から採取した体細胞に目的物質の遺伝子を導入しクローン化した細胞を用いて生産用体細胞クローン動物を作出するという方法も考えられる。この方法を用いれば、理論的にはほぼ無限数のクローン動物の作出が可能である。しかし 1.5.1に記したような作出効率の問題以外にも、現状ではクローン動物間の類似性を示す系統だったデータは得られていない。一般には、1個の受精卵を分割して得られるウシの双子について成長、肉質、乳量などを検討した結果を見ても、必ずしも同一ではないことから、個体の発生は胎児期あるいは出生後の外的環境に影響を強く受けるものと考えられている。体細胞クローン動物間では、未受精卵に細胞を移植し発生を開始させるという人工的な操作が必要であることから、同一卵子に由来する双子以上に動物間に相同性があるとは考えにくく、このクローン技術を生産用トランスジェニック動物の作出に応用したとしても、同じ動物が得られるとは考えにくい。このような体細胞クローン動物の個体差を生む要因としてはさらに以下のような原因が考えられる。

- a. 卵子と精子の受精によって開始される通常の個体の発生では、卵子あるいは精子形成の過程で月単位から年単位という長い時間をかけて遺伝子発現がプログラミングされるが、体細胞クローン動物では核移植の過程における分単位から時間単位という極めて短時間のうちにリプログラミングがなされる必要がある。そのため、このリプログラミングに狂いが生じやすいものと思われる。このことが 1.5.1に記した作出効率の低さの原因ともなるし、たとえ正常動物として成長しても個体差を生む要因となりうる。
- b. 核移植では、一般に核を取り除いた未受精卵にドナー細胞を移植後融合させるため、融合直後にはミトコンドリアはレシピエント細胞である卵子由来のものと導入されたドナー細胞由来のものが混在する。その後ドナー細胞由来のミトコンドリアは順次消失してレシピエント細胞由来のミトコンドリアに置き代わることが観察されている³⁹⁾。ミトコンドリアはリボソームRNAやトランスファーRNAおよびタンパク質（呼吸酵素とATP合成酵素の一部）をコードする遺伝子を有することが知られており、この遺伝子は個体ごとに微妙に異なる。このことは、核移植によって得られたクローン動物の遺伝子すべてがドナー細胞に由来するものでないことを示しており、異なった動物から得られた卵子を用いた場合、同じドナー細胞を移植してもミトコンドリア遺伝子は異なる。医薬品生産の動物工場として考えた場合、これら動物によって生産される生理活性タンパク質の特性の変化にミトコンドリア遺伝子が直接関わるとは考えにくいものの、作出されたクローン動物において生理活性タンパク質の生産量に動物個体差を生じさせる可能性は否定できない。
- c. 核移植によるクローン動物の作出においては、核移植された卵子はインキュベータ中で一定時間培養された後

(ヒツジは体外での培養を行わない場合もある)、仮親に移植される。したがって仮親が異なれば、その後の卵子がおかれる環境が異なり、クローン動物とはいえ個体差を生じさせる要因となる。

このように生産用動物へのクローン動物の利用については潜在的には極めて大きなメリットが考えられるが、現状の体細胞クローン動物作出法では経済的メリットを含めて未解決、あるいは結論の出ていない問題が多く、医薬品生産にこの方法が導入されるまでにはさらに知識や技術の蓄積が必要と思われる。

1.5.3 ヒトと動物との種差による目的タンパク質の違い —翻訳後修飾—

目的タンパク質の遺伝子を動物に導入してタンパク質性医薬品を生産する場合、タンパク質の一次構造は導入遺伝子レベルで規定できる。しかし、これらタンパク質の多くは通常、動物体内で遺伝子翻訳後にプロセッシングを受け、ポリペプチドの切断、アミノ酸残基の修飾や糖付加などの各種修飾を伴いながら、機能発現に必要な高次構造を獲得(フォールディング)するといわれている。このような翻訳後修飾のプロセスには動物間の種差が報告されている。例えば、ブタで生産したヒトprotein Cは不完全なプロセッシングの結果、異なるN末端のバリエーションが生産されることが報告されている⁴⁰⁾。またヒトprotein Cの生産においてグルタミン酸が γ -カルボキシル化される割合はトランスジェニックマウスで生産した場合極めて低く⁴¹⁾、トランスジェニックブタで生産した場合でも30~60%にとどまる⁴²⁾ことが報告されている。さらに動物種によってタンパク質リン酸化の効率が異なるという結果も報告されている⁴³⁾。タンパク質への糖の付加については、N-結合糖鎖ではトランスジェニック動物によって生産されたタンパク質でも正常な付加が報告されているが、O-結合糖鎖においてはヒト型と異なる例が報告されている⁴⁴⁾。このようにトランスジェニック動物において、ヒト細胞内と異なるプロセッシングが行われた場合には、目的タンパク質にヒト型とは異なった抗原性が付与される可能性がある。さらに付加された糖鎖の末端シアル酸量は生体内での半減期に深くかかわり、*in vivo*生物活性を変化させる大きな要因となる可能性もある。

このように翻訳後修飾の種差により、トランスジェニック動物に生産させたヒト型目的タンパク質は、ヒトの体内で合成された目的タンパク質と特性・機能に違いが生じる可能性があるが、現在までに得られている情報のほとんどは事例報告にとどまっており、系統的な情報の蓄積は不十分である。したがって、現状では製品の品質・安全性等への影響を事前に予測することは困難であり、ヒト型タンパク質遺伝子を哺乳類動物へ導入して合成された医薬品であっても、組換え細胞を用いて製造された医薬品と同様に、目的タンパク質

等の構造、特性、機能の解析を十分に行う必要がある。

2 トランスジェニック動物を利用して生産される医薬品の品質、安全性等確保に必要な諸要素及び評価にあたって考慮すべき要件

以上のように、トランスジェニック動物あるいはクローン動物を動物工場として用いた医薬品生産には、今後さらに改善が必要と思われるいくつかの課題があるものの、細胞培養系と比べてそれに勝る大きなメリットがあるため、タンパク質性医薬品の新しい生産方法として、研究が盛んに行われているばかりでなく、欧米ではすでに医薬品としての承認申請も近い。我が国においてもトランスジェニック動物を利用して生産される製品が医薬品候補として出現するのは時間の問題といえる。しかしトランスジェニック動物を利用したタンパク質性医薬品の生産において用いられる製造方法は従来にない全く新しいものであり、生産物の品質、安全性、有効性評価に関しても未知、未経験の要素があることは否めない。したがって、この新たな創薬技術による医薬品創製を推進する立場を基本としながらも、製品の医薬品としての品質、安全性、有効性を確保するためにどのような試験とデータが必要であり、どのような評価方法が適正であるかについて慎重に検討する必要がある。

トランスジェニック動物を応用して製造した製品の医薬品としての品質、安全性等の確保を図るためには、特徴ある製造方法の詳細を明確にし、その妥当性と恒常性の検証を行う必要がある。また、併せて製品における適切な試験を実施する必要がある。そこで、トランスジェニック動物由来医薬品の製造及び試験においてどのような事項が一般的に留意されるべきかについて検討した。また、その評価に際してポイントとなる事項について考察した。

製造面で留意すべき主な事項としては、1) 遺伝子導入構成体の構築と特性解析、2) 初代トランスジェニック動物の作出と特性解析、3) トランスジェニック動物系の保存、継続的維持・供給体制の確立、4) 生産用トランスジェニック動物の作出と選別、5) トランスジェニック動物の飼育管理施設、日常的維持・管理および微生物統御、6) トランスジェニック動物から目的物質の採取、精製、製品化などが挙げられる。製品の試験、評価などで留意すべき主な事項としては、1) 製品の特性・品質解析、2) プロセス評価/検証、工程内管理試験、3) 規格の設定、4) 製品の安定性評価、5) 非臨床安全性等試験および臨床試験などが挙げられる。

2.1 遺伝子導入構成体の構築と特性解析

トランスジェニック動物を作出するために動物に導入された組換え遺伝子（遺伝子導入構成体）に関する情報は、最終目的物質の構造や特性が期待されたものであり、安全であることを立証するための最も基本になる情報として重要である。この基本概念は、従来の遺伝子組換え技術を応用した

医薬品、細胞培養技術を応用した医薬品の場合⁴⁵⁻⁴⁷⁾と同じである。また、遺伝子治療用医薬品や細胞治療用医薬品の品質、安全性等の確保に関する考え方⁴⁸⁾のスタートポイントでもある。したがって、どのような情報が必要かという点に関しては、上記のバイオテクノロジー応用医薬品に関する指針等で述べられている事項を参考に検討することが適切であると考えられる。

以下には、トランスジェニック動物を作出するために用いられた遺伝子導入構成体の構築と特性解析に関してその詳細を明確にすべき項目を挙げた。

- (1) 目的遺伝子の由来、入手方法、クローニング方法、セルバンク情報
- (2) 目的遺伝子の構造
- (3) 導入遺伝子の性質
- (4) 目的遺伝子産物の構造、生物活性及び性質
- (5) ベクターの由来、性質、入手方法を始め、遺伝子導入構成体を作製するために必要なすべての原材料、性質、手順
- (6) 遺伝子導入構成体の構造や特性
- (7) ベクターや遺伝子導入構成体を作製するための細胞やウィルスのバンク化、バンクの管理方法

以上の各項目の詳細な内容については組換え医薬品、細胞培養医薬品、遺伝子治療用医薬品、細胞治療用医薬品等の医薬品の申請の要件に関する文書、および関連研究報告等^{5, 6, 49-52)}を参照するとよい。

2.2 初代トランスジェニック動物の作出と特性解析

2.2.1 トランスジェニック動物の作出に使われる動物

トランスジェニック動物の作出に用いられる動物は血清学的によく解明された動物で、その動物種およびヒトに感染する物質を可能な限り排除した閉鎖集団またはコロニーを使用すべきである。初代トランスジェニック動物の作出に使われる配偶子あるいはES細胞を取り出す動物、および仮親となる動物の履歴については詳細が明らかにされている必要があり、例えば種、系統、起源となる国、健康状態、その他血統に関する情報を示す。種特有の疾病あるいは血液関連の疾病などに関する獣医学的検査結果も示すべきである。プリオン関連の疾病が同じ動物種で発生していることが報告されている国から輸入した動物の使用は避けるべきである。有害感染物質に関する管理については、生産用動物と同様の要件が必要とされる。

2.2.2 遺伝子の導入方法

組換えDNAを動物に導入する方法について詳細を明らかにする必要がある。例えば卵子の単離、インビトロ受精、マイクロインジェクション、核移植等に用いられた方法については、既存の方法、新たに開発した方法に関わらず詳細を示す必要がある。また体細胞変異を生じさせた動物についても、その方法の詳細を示す必要がある。

2.2.3 初代トランスジェニック動物の確認

初代トランスジェニック動物の確認法および選別法を定める必要がある。初代動物に導入された遺伝子の存在をテストする方法の感度も明確にする必要がある。外来遺伝子を取り込んでいるにもかかわらず、生成物を発現していない動物と、外来遺伝子を取り込んでいない動物との区別も明確にすべきである。

初代動物が目的物質を生産していることを確認する方法の詳細を明らかにする必要がある。目的物質の収量については、季節変動、年齢差も含めて明確にされるべきであろう。導入遺伝子が、予定された臓器で、適切なタイミングで発現しているか確認しておく必要がある。また、当該組織において、その他の機能が正常に働いていることも確認する必要がある。遺伝子導入により目的物質を発現、生産するようになった組織では、もともとそのような物質は生産されていない。そのためその動物組織での翻訳後修飾の仕方は、目的物質が本来生産されている、例えばヒト組織のそれとは異なる可能性がある。その結果、天然のものと違った生成物が生産される可能性があるため、トランスジェニック動物由来製品の生物学的、免疫学的活性は適切に評価されるべきである。さらに、大量に生成された導入遺伝子生成物が生体に悪影響を及ぼしたり、内在性物質の発現レベルに影響する恐れがあるので、注意する必要がある。

マウス免疫グロブリンを産生せずヒト免疫グロブリンを産生する初代トランスジェニックマウスの作出には、マウス免疫グロブリンのH鎖及びL鎖遺伝子それぞれのノックアウトマウスに加え、ヒト免疫グロブリンのH鎖及びL鎖遺伝子それぞれについてトランスジェニックマウスの調製が必要である。従って、トランスジェニック動物の確認はそれぞれのマウスについて必要である。すなわち、ノックアウトマウスについてはターゲティングした遺伝子が発現していないことを、遺伝子導入したマウスについては目的遺伝子が発現していることを確認する必要がある。なお、作出されたヒト免疫グロブリン産生トランスジェニックマウスは、定常部がマウス型で可変部がヒト型の抗体(キメラ抗体)を産生することができるのでターゲティング遺伝子の非発現とトランスジェニック遺伝子の発現を注意深く調べる必要がある。

2.2.4 目的物質の生産の安定性の確認

目的物質の継続的な生産は、導入遺伝子の安定性、および導入遺伝子の発現の安定性に依存している。

1) 導入遺伝子の安定性

導入された遺伝子は通常染色体の一つの部位にDNAの複数のコピーが挿入される。しかし挿入部位が複数箇所ある場合や、あるいは導入遺伝子の転移、欠失が生じる場合も考えられる。したがって動物を交配する間の遺伝子の安定性を、サザンブロット、塩基配列の解析、その他の方法でモニターする必要がある。一つの染色体に導入された遺伝子の数は、数

世代にわたり安定している必要がある。できれば初代動物において、単一部位に挿入されていることを直接的方法で確認すべきである。それが不可能な場合は、複数世代にわたってDNAを制限酵素を用いて解析することにより、導入遺伝子の単一部位での挿入を確認するという方策があり得る。同様な方法は導入遺伝子のコピー数の安定性の確認、あるいは転移や欠失の確認の際にも応用できる。

2) 遺伝子発現の安定性

導入遺伝子産物の発現は、初代トランスジェニック動物の遺伝的特性と、父性遺伝あるいは母性遺伝によるインプリンティング効果との相互作用によって、様々に影響される。継代するにつれ、発現が減少することもしばしば観察される。したがって、初代トランスジェニック動物の個々、および生まれた子孫に関して、同一世代内および世代間の発現の安定性を確認する必要がある。発現の安定性は、生産に用いられる期間以上にわたって確認すべきである。遺伝子発現の安定性については、生産動物としての許容範囲を定める必要がある。また、できればノーザンブロット、RT-PCR、DNase protection assay等を用いて、転写によるRNA発現についても確認をとるべきである。目的物質の収量、さらに可能ならばその発現量を複数世代にわたってモニターし、許容最低量を定めるべきである。

2.3 トランスジェニック動物系の保存、継続的維持・供給体制の確立

動物は細胞と違って無制限に保存しておくことはできない。したがって、トランスジェニック動物による医薬品生産を継続的に可能にしてゆくためのシステムを確立する必要がある。そのための方法としては、細胞バンクの概念が役立つものと思われる(ICHガイドラインQ5D⁶参照)。すなわちマスターセルバンク(MCB)とワーキングセルバンク(WCB)の二段階方式に類似した方法を取り、マスタートランスジェニックバンク(MTB)およびワーキングトランスジェニックバンク(WTB)からなるバンクを作ることが適切である。それぞれのバンクは十分に特性解析された限られた数のトランスジェニック動物からなる。さらに信頼性のおける方法を選択すれば、一頭(一匹)の起源動物およびその動物の直系の子供から得た凍結精子あるいは凍結胚をバンクに利用することも可能である。

ところで、トランスジェニック動物は様々な方法で繁殖させることができる。したがって、製造業者が初代トランスジェニック動物を活用して同一目的物質の生産を可能にするような方策は、上記のようなやり方以外にも考えられる。この場合、初代トランスジェニック動物については、目的物質の発現および安全性などに特に関連する特性を徹底して明らかにすることを最大の眼目とした努力を傾注しておく必要がある。そうしておけば、この一頭の有用な初代動物から次々生まれる動物は、目的物質の発現および安全性の面か

らみて初代動物と同等である、と特性づけられると期待できる。こうしたアプローチにより、目的物質の生産に用いられる動物が厳密にその特性を明らかにされた動物であることが保証されることになる。

ヒト免疫グロブリン産生トランスジェニックマウスの保存、維持については他のトランスジェニック動物と異なり、マウス免疫グロブリン遺伝子ノックアウトマウス及びヒト免疫グロブリン遺伝子導入マウスの保存、維持をも考慮する必要がある。

2.4 生産用トランスジェニック動物の作出

特性解析が終わった初代動物は、生産用動物の繁殖に使用される。導入された遺伝子は非トランスジェニック動物、あるいはトランスジェニック動物との交配により、次世代に受け継がれる。製造者は生産用動物として用いるトランスジェニック動物を選別するにあたっての基準を示す必要がある。医薬品生産用トランスジェニック動物個々について、起源となった初代トランスジェニック動物個体に遡れるような記録が必要である。また生産用動物個々について、出生場所、出生日、医薬品生産への使用、病気の頻度および経過、処分についての記録が必要である。

繁殖方法についての詳細な記録も必要である。人工授精、胚移入、精子の収集・貯蔵の方法について記述し、適切な基準を設ける必要がある。インビトロ受精法が用いられた場合は、精子および卵子の収集法に関する基準について明らかにする必要がある。接合体の単離および仮親への移植の経過も明らかにすべきである。トランスジェニック精子あるいは卵子と接合する相手方となる動物が健康であり、感染物質による汚染がないことを示す必要がある。さらに妊娠の確認、分娩の過程を明らかにする必要がある。

2.5 トランスジェニック動物の飼育管理施設、日常的維持・管理、および微生物統御

2.5.1 動物施設の原則

医薬品生産の対象となるトランスジェニック動物種としては、マウス、ラット、ウサギなどの実験小動物とウシ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、ミニブタなどの家畜が考えられる。両者は、動物とての特性からトランスジェニック個体の維持・管理について区別して考えることができる。すなわち、前者は逃亡の可能性が高く、個体識別も煩雑になりやすいことから、飼育管理はより厳密に行う必要がある。一方、家畜は個体識別が容易であり、逃亡の可能性も極めて低いことから、飼育エリアをフェンスなどで外的環境と隔離することによって、トランスジェニック個体の維持は可能であろう。医薬品製造のための動物工場としてのトランスジェニック動物の利用は主に後者の家畜が用いられているので、本稿では以下に家畜用動物施設について述べる。

トランスジェニック動物の品質管理は飼育する動物施設

に依存する。したがって①初代トランスジェニック動物の作出、②生産用トランスジェニック動物の作出、維持、及び、③生産用トランスジェニック動物からの目的物質を含む生体材料の採取は、特に理由のある場合を除いて、最低限度所定の飼育管理基準を満たした施設(例えば、AAALAC International (<http://www.aaalac.org/>)のような認証システムによる認定施設相当)で行われなければならない。

これらの基準はいずれも実験動物の品質管理について有効であるが、医薬品製造のための動物においてはより一層厳しい基準も考慮すべきである。とりわけ病原体の動物施設内への侵入は厳重に防止すべきで、施設内への搬入動物はすべて同等以上のレベルの管理基準を有する施設からのものとし、搬入動物の臨床診断、及びその後の定期的な微生物モニタリングの実施とその結果の公開を義務づける。

2.5.2 動物の維持・管理

トランスジェニック動物の維持・管理は目的物質の品質保証のため動物個体のみでなく飼育管理方式を含め吟味する必要がある。また医薬品の製造工場として利用するため、従来の家畜以上のレベルの微生物管理が要求される。

この管理のためには動物に直接関わる環境の統御、投与される飼料、飲水、飼育装置の品質管理も要求される。また動物管理施設への新たな動物の搬入時にも十分な検疫を行う必要がある。原則的には、当該の生産コロニーへの動物の搬入は禁止すべきである。複数種の動物を一つの施設で飼育する場合は、他種の動物からの汚染の可能性に配慮しなければならない。また外部からの動物の侵入、あるいはトランスジェニック動物が逃亡して繁殖することがないように細心の注意が必要である。

ヒトおよび搬入物品からの微生物混入にも注意を払う必要がある。関係者は動物に微生物を移すことのないような服装をすることなど現行の実験動物施設での飼育管理方法を遵守するだけでなく、管理者は関係者の健康管理を適切に行う必要がある。健康であれば特に問題とはならないような微生物も、健康を害することによりそのヒトの体内で増殖し動物に伝播させることも考えられるので、関係者の良好な労働環境を構築することも重要である。

また動物に与える飼料成分も明らかにし、特にプリオン関連疾患の危険因子を排除するため、飼料には反芻動物を原料とした肉骨粉を含んではならない。さらに飼料中に残留する農薬成分をモニタリングし、飼育期間中に与えた飼料の内容および摂取量を記録する必要がある。

衛生状態のモニタリングは、動物の健康状態を維持するためばかりでなく、製品を動物薬等による汚染から防ぐ意味でも重要である。したがって、トランスジェニック動物の飼育計画、および動物および飼育施設の衛生状態をモニタリングする方法を詳細に述べる必要がある。医薬品生産に用いられるすべての動物について、投与された動物薬やワクチンを含

めて、誕生から死亡までの記録を行い、疾病記録はできる限り詳細に残す。疾病にかかった動物は医薬品生産から外すべきである。バリアー動物施設で飼育できない動物の場合は、感染についてより詳細に試験を行う必要がある。

医薬品製造に各トランスジェニック動物を用いることを一時的、あるいは恒久的に中止する詳細な基準を設ける必要がある。生産から外す理由としては病気、生産量の減少、感染物質の発見等があげられる。もし病気が一時的なものであれば、生産から外して治療期間中に施された治療法とその結果を記す。

2.5.3 既知感染物質のスクリーニング

トランスジェニック動物種が感染されている可能性のある微生物の統御にあたって重要なものとしては、1) 従来から家畜で知られている人獣共通感染症原因微生物、2) 清浄化によっても統御が困難な微生物、および 3) 新たに発見された、あるいは今後発見される新興感染症の原因となる微生物等に分類できる。1) としては炭疽、ブルセラ、サルモネラ、ブタ丹毒、結核、コクシエラブルネチー(Q熱原因菌)、トキソプラズマ、各種寄生虫などがある。これらのほとんどは食品衛生上の問題から多くの家畜では駆除されている。2) としてはレトロウイルス、トキソプラズマ等が問題となる。3) としてはスクレーパーなど伝達性海綿状脳症(プリオン病)の原因物質がとくに注目される。これは2)にも分類すべきものであるが、その発症が地域限定であることから、正常域由来の動物を使用することで防止は可能とされる。しかし新興の感染症はその発生、病原性を特定するには時日を要する事から、関連情報の収集が最大の予防法とならざるを得ない。

以上の観点を加味しながら、トランスジェニック動物種、特にトランスジェニック動物由来医薬品製造に主に用いられるヒツジ、ヤギ、ウシ、ブタ等に感染している可能性のあるウイルス、とりわけ人獣共通感染ウイルス (Table 2) については、トランスジェニック動物作出に用いた動物をどのような地域から得たのか、トランスジェニック動物を飼育している地域に流行しているウイルスにはどのようなものがあるか、さらにはヒトで発病した場合の病状の重さなどを総合的に勘案してウイルス検査を行い、可能な限り感染を否定しておく必要がある。その際、宿主に感染後、発症まで長期間かかるレトロウイルスやウイルスの組換えの可能性については注意が必要である。以下に主な人獣共通感染ウイルスの特徴を記す。

— Cowpox virus (牛痘ウイルス): 主として、西ヨーロッパ、東ヨーロッパにみられる。ウシでは、乳房、乳頭に発痘。ヒトでは、指、手などに発痘。ウイルスの分離には発育鶏卵の漿尿膜接種、培養細胞への接種が用いられ、血清診断には赤血球凝集阻止反応が用いられる。

— Paravaccinia virus (偽牛痘ウイルス): 世界中に分布する。日本でも希ではない。動物では、口唇、鼻鏡、乳房、乳頭、ヒトでは、手、指などに発痘が生じる。確認は電子顕微鏡検査による。ただし発育鶏卵で増殖しない。ウイルスの分離には初代培養細胞を用いる。血清診断法は実用化されていない。

— Murray Valley encephalitis virus (マレーバレー脳炎ウイルス): 主としてオーストラリア南部のMurray-Darling川流域に多発する。感染動物は無症状である。ヒトでは日本脳炎に似た症状を示す。致死率は日本脳炎と同様といわれている。診断は血清中の抗体検査による。

— Louping-ill virus (羊跳躍病ウイルス): スコットランド、アイルランド、ウエールズ、イングランド北部にみられる。ウシでは脳脊髄炎、ヒトでは、インフルエンザ様症状がおこる。重症例では髄膜脳炎がみられる。麻痺がおきるとポリオ同様の症状を示す。ウイルスの分離には、マウス、発育鶏卵、ヒツジ培養細胞が用いられる。血清診断には、中和試験、赤血球凝集阻止反応を用いる。

— Foot-and-mouth disease virus (口蹄疫ウイルス): オセアニア、北米、スカンジナビアでみられる。ウシでは突然の発熱、流涎、舌、口、乳頭、乳房の水疱、ヒトでは、発熱頭痛、感染部位の水疱、口、手足の水疱が生じる。1-2週間回復する。ウイルスの分離には乳のみマウス(授乳期のマウス)への接種が用いられる。血清診断にはゲル内沈降反応、中和試験などを用いる。

— Japanese encephalitis virus (日本脳炎ウイルス): アジア、東南アジアでみられる。妊娠ブタに感染すると死産を引き起こすことが多い。ヒトでは、不顕性感染が多いが、発症すると、発熱、脳炎が起こり、致死率は35%と高い。ウイルスの分離には乳のみマウスへの接種、培養細胞への接種などが用いられる。間接蛍光抗体法、ELISA法、中和試験、赤血球凝集阻止反応などによる血清反応が診断に用いられる。

— Vesicular stomatitis virus (水泡性口炎ウイルス): 主としてアメリカ大陸に分布する。動物では、発熱、口腔粘膜、蹄等の水泡、びらんが起こる。ヒトでは、インフルエンザ様の症状を呈し、口腔、喉に水泡ができることもある。

— Orf virus (オルフウイルス): 動物では、口唇、鼻鏡、乳頭、乳房などに発痘。死亡することは希である。ヒトでは、手、指などに発痘がみられる。確認は電子顕微鏡検査で行う。発育鶏卵で増殖しない。ウイルスの分離には初代培養細胞を用いる。血清診断法は実用化されていない。

— Borna disease virus (ボルナウイルス): 主として中央ヨーロッパに分布する。動物では脳炎が生じ、典型的な症状として、興奮、けいれん、麻痺などがみられる。ヒトで脳内に持続感染することが知られているが、発症については不明である。長い潜伏期間や病気の進行状態からスローウイルス感染の一つとみなされている。最近、精神病との関連が

Table 2. 各々の動物に感染することが知られている人畜共通感染ウイルス

	ウシ	ブタ	ヒツジ	ヤギ	ウマ
牛痘ウイルス (Cowpox virus)	◎				
偽牛痘ウイルス (Paravaccinia virus)	◎	◎	◎	◎	
マレーバレー脳炎ウイルス (Murphy valley encephalitis virus)	◎	◎			
羊跳躍病ウイルス (Louping-ill virus)	◎	◎	◎	◎	
口蹄疫ウイルス (Foot-and-mouth disease virus)	◎	◎			
日本脳炎ウイルス (Japanese encephalitis virus)		◎			
水疱性口炎ウイルス (Vesicular stomatitis virus)		◎			
オルフウイルス (Orf virus)			◎		
ボルナ病ウイルス (Borna disease virus)			◎		◎
狂犬病ウイルス (Rabies virus)	◎	◎	◎	◎	◎
インフルエンザウイルス (Influenza virus)		◎			
ブタE型肝炎ウイルス (Porcine hepatitis E virus)		◎			
脳心筋炎ウイルス (Encephalomyocarditis virus)	◎	◎			
ロタウイルス (Rota virus)	◎				
東部ウマ脳炎ウイルス (Eastern equine encephalitis virus)					◎
西部ウマ脳炎ウイルス (Western equine encephalitis virus)					◎
ベネズエラウマ脳炎ウイルス (Venezuelan equine encephalitis virus)					◎
伝染病性胃腸炎ウイルス (Transmissible gastroenteritis virus)		◎			
ブタ呼吸器コロナウイルス (Porcine respiratory coronavirus)		◎			
ブタ流行性下痢症ウイルス (Porcine epidemic diarrhea)		◎			
血球凝集性脳髄炎ウイルス (Hemagglutinating encephalomyelitis virus)		◎			
ブタ繁殖呼吸器病候群ウイルス (Porcine respiratory and reproductive complex virus)		◎			
ブタコレラウイルス (Hog cholera virus)		◎			
パラインフルエンザ3型ウイルス (Parainfluenza 3 virus)		◎			
エンテロウイルス1型 (Talfan/Teschen disease virus)		◎			
レオウイルス (Reoviruses)		◎			
内在性レトロウイルス (Endogenous virus)		◎			
ブタアデノウイルス1-4型 (Porcine adenovirus)		◎			
ブタサーコウイルス (Porcine circovirus)		◎			
ブタパルボウイルス (Porcine parvovirus)		◎			
スイボックスウイルス (Swinpox virus)		◎			
ブタサイトメガロウイルス (Porcine cytomegalovirus)		◎			
アルファヘルペスウイルス (Pseudorabies virus)		◎			
ロシア春夏脳炎ウイルス (Russian spring summer encephalitis virus)			◎	◎	
リフトバレー熱ウイルス (Rift Valley fever virus)			◎	◎	
クリミア・コンゴ出血熱ウイルス (Crimean-Congo hemorrhagic fever virus) (ナイロウイルス (Nairovirus))			◎	◎	
トロウイルス (Torovirus)	◎				

指摘されている。ヒトや種々の動物の細胞で増殖するが細胞変性効果は無い。診断には血清中の抗体検査を行なう。PCR反応も用いる。

— Rabies virus (狂犬病ウイルス)：中枢神経の興奮による痙攣に続いて麻痺期に入り、嚥下筋、呼吸筋などの麻痺を起こして急死する。pH 6.2, 低温でガチョウ赤血球の凝集反応を起こす。また、ニワトリ、ミドリザル、アカゲザルの赤血球の凝集も起こす。ニワトリ胚 (HEP-Flury 株)、子イヌ、ハムスター、ブタ腎の初代細胞で培養可能である。

トランスジェニック動物及び細胞、組織、臓器に対する既知感染物質のスクリーニングは目的物質の回収および精製方法に応じて規定する。なお、スクリーニングに用いる検査法は特異性、感受性、有効性が示されているものでなければならない。

トランスジェニック動物の細胞、組織、臓器試料は、例えばヒト末梢血単核細胞などの適切な指標細胞との共培養などにより試験する。すなわち、無作為継代培養を行い、細胞障害性の影響や病巣形成の観察、逆転写酵素分析、電子顕微鏡検査などの適切な方法を用いて感染物質の有無を明らかにすることが必要と考えられる。培養によりウイルスまたはウイルス様物質の存在が示唆された場合は免疫学的手法、分子生物学的手法によりさらに検討する。潜伏性ウイルスは化学的方法や照射法により誘発・活性化させることで検出が容易となる。予想される細菌やウイルスの検出にはPCRを適用できる。

なおトランスジェニック動物由来医薬品のウイルス安全性の確保にあたっては、局方生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための留意事項⁵³⁾やウイルス安全性にかかわるICH合意文書に基づく通知⁴⁾が適切に適用できる場合には参照するとよい。

2.5.4 トランスジェニック動物の生産ラインへの供給と処分方法

現時点では、特に家畜のトランスジェニック動物の作出効率は低いために、その作出過程で遺伝子導入の有無や医薬品生産能力の異なる様々な個体ができる。実験動物とは異なり、これらの動物を維持管理することは経費的にも限られた施設の規模では困難をとまう。必要に応じて体細胞、生殖細胞 (精子・卵子) の凍結保存によってラインを維持すると同時に、不要な個体は屠殺処分する必要がある。家畜の場合は、食肉に供する可能性があるために、その方法は特に注意する必要がある。トランスジェニック家畜の食肉としての安全性が確認されていない現時点では、導入遺伝子の存在の有無に関わらず、トランスジェニック個体を作成する過程あるいは医薬品生産に供した後に廃棄処分する個体はすべて焼却処分とする必要がある。ウシの場合は、成体で1000kgを超える場合も想定され、その屠殺や解体のための施設を

必要とする。ブタ、ヤギ、ヒツジなどについては、焼却処分は可能である。いずれにしても、適当な規模の屠体焼却処理施設が必要である。

2.6 トランスジェニック動物からの目的物質の採取、精製、製品化

2.6.1 トランスジェニック動物からの目的物質の採取

トランスジェニック動物から目的物質を採取する方法は様々ある。現状では通常乳汁、血液あるいは尿から採取するが、摘出した組織からの抽出も考えられる。採取方法については一般的には、目的物質の力価や生物学的純度を保つことなど、品質や安全性に留意しながら無菌的に行う必要があるが、動物種や材料などによってそれぞれ注意すべき点は異なる。以下に考慮にいれるポイントを列記する。

1) ホスト動物について

用いる動物種によって、混入する可能性のある有害物質あるいは微生物は異なる。目的物質の採取および精製の段階におけるこれら汚染物質のモニタリングにおいては、それぞれの物質に応じた適切な測定法を選択する必要がある。さらに、有害な感染性物質の除去あるいはその不活性化が保証される製造工程を採用することは極めて重要である。

2) 目的物質を得るための材料について

トランスジェニック動物を応用して医薬品を生産する場合、通常、乳汁、血液、尿へ分泌される目的物質を採取して用いる。これら製造材料への分泌量は変動しやすく、有害物質による汚染の程度も一定とはいえない。したがって、このようなばらつきがあっても安全かつ安定に製品が得られるような製法を選ぶ必要がある。

目的物質を得るために動物から材料を採取するにあたって、個々の動物の適格性の判定は品種、系列系譜、ワクチン接種歴等を含む健康記録に基づいて行う。動物については使用前に隔離し、使用する個々の動物ごとに適切な血清学的検査、培養、血球数測定、末梢血スメアの検査、糞中の寄生虫検査等を行い、細菌、寄生虫、ウイルス等の有無を検査することが必要である。特に動物に存在することが予想されるウイルスに着目した検討を行い、合理的理由がある場合を除きその存在を否定することが必要である。ヒト、およびヒト以外の霊長類に感染することが証明されているウイルス又はウイルス様物質の検査は慎重に行うべきである。また組換え、相補性、疑似化の可能性のあるウイルスには注意が必要である。ヒトに病原性を示す可能性のあるウイルスが存在する動物由来組織から得た製品は原則として使用すべきではない。スクリーニング、適格性の判定は材料採取の直前に実施すべきであり、判定から時間が経った場合、および検疫期間中や乳汁、血液、尿やその他の細胞、組織、臓器採取時に他の非検疫動物と接触した場合は再度スクリーニングを行うことが必要である。

トランスジェニックマウスを応用してヒト型抗体を採取

するためには、まず抗原による免疫、免疫リンパ球とミエローマ細胞とのハイブリドーマの調製、目的抗体産生ハイブリドーマの選択を行う。この際、選択されたハイブリドーマが確かにヒト型抗体を産生していることを遺伝子及びタンパク質レベルで厳密に確認する必要がある。このようにして選択されたハイブリドーマが目的抗体を得るためのホスト細胞となる。これらの評価については、通常の細胞培養医薬品の生産に準じる。

2.6.2 トランスジェニック動物からの目的物質の精製、製品化

目的物質の精製に関しては、1) 原材料からの分離と精製手順、2) 各精製段階での精製状況、3) 不純物の除去状況と除去効率、4) 一次産物を加工して目的物質に変換する場合はその手順と、目的物質の精製手順などについてその妥当性を証明し、そののちはこの妥当性が証明された分離精製工程を一定にしておく必要がある。分離精製工程の変更は、しばしば、目的物質の品質を変えたり、また特に望ましくない有害因子や不純物を製品に混入させる原因になるからである。

トランスジェニック動物由来製品の安全性を確保する上で、精製工程あるいは不活化過程の評価はきわめて重要な意味をもっている。医薬品の製造工程中に仮になんらかの外来性微生物等が迷入したとしても、プロセスがこうした未知の思いもよらない有害因子をも除去する能力を有することを証明するとともに、こうした確信をもつための一つの目安にもなるとの意味あいがある。不純物については、原材料由来、製法由来、製品が変化したものなどが考えられる。これら不純物の除去状況については、あるステップで精製された目的物質中の含量あるいは精製工程での除去効率などより評価する。これらプロセス評価/検証をめぐる問題については後に再度述べることにする。

要約すれば望ましい分離・精製方法とは、目的物質がその生物学的特性（免疫学的特性等）を損なうことなく効率よく純化されることであり、また、有害因子や不純物が最終産物に混入し、安全性上問題となることがないように十分配慮された工程を巧みに組み合わせていることである。

以下には、精製法に関して特に留意すべき事項を列挙した。

- ① フローチャート等を利用して目的物質の採取（抽出）・分離、精製方法等の詳細を示すこと。
- ② 各精製段階における目的物質の精製の状況（例えばタンパク質収量、活性収率、比活性、電気泳動パターン等）を明らかにすること。
- ③ トランスジェニック動物あるいは原材料に由来する可能性のあるエンドトキシン等有害因子、主な不純タンパク質、糖質、脂質、核酸等及び分離・精製工程に由来する不純物（例えば抗体カラムにおける遊離した抗体等）並び

に製品関連不純物について、精製工程での除去効率、試験方法、検出限界等について明らかにすること。

- ④ 遺伝子発現タンパク質を適当な処理（化学処理、酵素処理等）を施して最終目的物に導く場合には、その手順と使用した試薬及び前駆体や雑種融合タンパク質から切り離れたペプチド等の最終目的物との分離方法を明らかにすること。

2.7 製品の構造、特性・品質解析

前項までに述べた目的物質の製造工程の明確化、妥当性の検証と表裏一体の関係で重要なことは、最終目的物質の構造解析、物理的・化学的性質、生物学的性質などを含む特性解析と有害因子や不純物の混入問題も含めた品質評価である。

トランスジェニック動物由来製品にあつては、まず第一に当初のシナリオどおり、目的遺伝子構造から意図した目的タンパク質の化学構造を有する製品が得られたかどうかを確認、同定する必要がある。糖タンパク質では糖の部分の解析を詳細に行う必要がある。また、高次構造が形成され、目的とする生物活性を示すかどうかを確かめる必要がある。さらに各種の理化学的、免疫化学的あるいは生物学的試験を徹底的に行って、生産物の均一性や純度その他の性質に関するデータを集める必要がある。

トランスジェニック動物由来製品における構造決定、同一性の確認、純度の検討、各種特性・品質等に関する解析の重要性は、これが本質的には人工的な技術に基づいて、しかも従来にない技術で生産される高分子タンパク質であることを考えれば自ずと明らかである。製品の構造や特性・品質解析結果が、逆に当該製品の製造過程のシナリオや製造技術の妥当性を最も確実に立証することになる。

幸いなことに、タンパク質や糖鎖の構造解析技術や同定法、不純物の分離検出法などが、バイオ医薬品の開発と期を一にして発達し、生産物の特性解析や品質評価に大きな威力を発揮しているので、実施可能でかつ適切な最新技術を駆使してトランスジェニック動物由来製品の構造、特性・品質解析を徹底的に行うべきである。

天然の物質あるいは遺伝子組換え細胞や培養細胞系等で製造した同一あるいは非常に類似した物質を入手できる場合には、それらとの比較を行うことが望まれる。

以上のような解析を行うにあたって検討すべき項目としては、一般的には、従来の組換え医薬品、細胞培養医薬品などにおいて必要とされてきたような以下に列記する項目が考えられる。しかし、これらの項目はあくまで例示である。個々のトランスジェニック動物由来製品の製造工程や個別製品の特徴を加味した科学的合理性に基づく試験の省略あるいは試験の追加がなされることがむしろ望ましい。

2.7.1 構造決定・組成分析

1) 構造・組成

例えば次の項目についての検討を行い、目的有効成分の構造・組成を可能な範囲で明らかにする。

①アミノ酸組成

種々の加水分解と適切な分析法を用いて全アミノ酸の組成を測定し、塩基配列より推定されるアミノ酸組成との比較を行う。

②末端アミノ酸及び末端域アミノ酸配列

N末端及びC末端アミノ酸の種類を明らかにすること。末端アミノ酸が複数の場合はその存在比を適切な方法を用いて明らかにすること。N末端アミノ酸配列はEdman法や質量分析法等を用い、C末端アミノ酸配列はカルボキシペプチダーゼ法や質量分析法等を用いて決定し、塩基配列より推定される末端配列との比較を行う。

③スルフヒドリル基、ジスルフィド結合の数と位置

スルフヒドリル基、ジスルフィド結合の存在が塩基配列より推定される場合には、その数やその位置を適切なスルフヒドリル基検出法や加水分解と液体クロマトグラフ法を組み合わせた方法、あるいはその他適切な分析手段(例えば質量分析法)等を用い可能な範囲で決定する。

④ペプチド分析

酵素的又は化学的な加水分解を用い、次いで液体クロマトグラフ法等を用いて分析すること。適切な標準物質や類似物質が入手できる場合にはそれとのペプチドマップを比較することは有用である。必要に応じて適切なペプチド断片のアミノ酸組成分析、アミノ酸配列分析をアミノ酸自動分析法、Edman法、質量分析法等を用いて行う。

⑤アミノ酸配列

上記①～④項等の結果に基づいてアミノ酸配列を導き、塩基配列より推定されるアミノ酸配列との比較を行う。

⑥糖鎖

トランスジェニック動物由来糖タンパク質製品における糖鎖がいかなるものであるかは構造、特性面からみて重大な関心事である。その糖鎖付加の様相は、従来の組換え医薬品や細胞培養医薬品のそれとは異なることが予測され、また糖鎖構造がヒトにより近いとの期待もあるからである。糖タンパク質における糖鎖が、例えば、標的細胞におけるレセプターとの結合性を含む生物活性の発現や調節、生体寿命、輸送のための血漿タンパク質との結合性増強、免疫学的性質、物性、安定性、溶解性などに大きな影響を与えていることが次第に明らかになってきている。したがって、トランスジェニック動物由来糖タンパク質製品における糖鎖の分析目標としては、1)中性糖、アミノ糖、シアル酸等の糖組成分析、2)結合型解析、3)シアル酸分子種分析、4)分岐鎖型、サイズ、分布、5)糖鎖構造解析(主要糖鎖については単糖間の結合様式に至るまで解析)、6)糖鎖結合位置、7)結合位置毎の糖鎖分布、構造解析などが分析目標となる。糖鎖の生物学的活性における役割等を考慮し、これらについて可能な範囲で解析することが望まし

い。

糖鎖部分の構造解析に必要な要素と代表的な解析方法を以下に示した：1)各種単糖分析(化学分析、ガスクロマトグラフィー、蛍光標識-HPLC、強アニオン交換HPLCなど)；2)糖鎖マッピングや2次元又は3次元糖鎖マッピング(例えば蛍光体支援糖鎖電気泳動法(FACE法)、キャピラリー電気泳動法(CE)、ピリジルアミノ(PA)標識糖鎖のHPLCなどによる)；3)糖鎖構造解析：(1)各種修飾・分解(逐次酵素分解、メチル化、アセトリシス)、(2)分離(GC、HPLC)と各種解析法(MS：FAB-MS、ESI-MS、MALDI-TOF-MS；NMRなど)の組み合わせ。

2.7.2 物理的・化学的性質、免疫学的性質、生物学的性質について

1) 物理的・化学的性質

例えば次の項目について検討する。

①分光学的性質

紫外外部吸収スペクトル、可視吸収スペクトル、吸光係数等を示す。

②等電点

ゲル等電点電気泳動等により測定する。

③分子量

ゲルろ過クロマトグラフィー、SDS-ゲル電気泳動(還元、非還元)等により測定する。

④電気泳動パターン

ポリアクリルアミドゲル電気泳動、ゲル等電点電気泳動、SDS-ゲル電気泳動、キャピラリー電気泳動等における泳動パターン、同一性、均一性、純度等に関する情報を提供する。

⑤液体クロマトグラフパターン

ゲルろ過、逆相、イオン交換、疎水性カラムクロマトグラフィー等におけるクロマトパターン、同一性、均一性、純度等に関する情報を提供する。

⑥高次構造

円二色性、旋光分散、核磁気共鳴スペクトル等を適宜用いて検討する。

2) 免疫学的性質

トランスジェニック動物由来製品において、目的物質がモノクローナル抗体である場合は、特性解析手段として免疫化学的手法の活用は必須である。精製抗原と抗原の特定領域に対する抗体の結合試験を行い、可能な限りアフィニティー(1価の抗原結合部位と1価の抗原決定基との間での結合の強さ)、アビディティー(多価抗体と多価抗原との結合の強さ)及び免疫反応性(交差反応性を含む)を決定する。更に関連するエピトープを有する標的分子を生化学的に明らかにし、可能な範囲でエピトープ自身も明確にする。モノクローナル抗体以外が目的物質の場合でも、当該タンパク質上

にあるエピトープを認識する適切な抗体（類）が入手できれば、免疫化学的方法（例えば、ELISA、ウェスタン・ブロット）は、目的物質の同定や均一性、純度あるいは含量を試験するのに有用である。抗原抗体反応ではタンパク質の高次構造もある程度反応性に影響するので、目的物質の高次構造に関する情報がある程度得ることも可能である。しかし、抗原抗体反応に係わるポリペプチド鎖中の領域と生物活性に係わる領域とは必ずしも同一とは限らないので、免疫化学的試験の結果から目的物質の生物活性に言及することは慎重でなければならない。ただし特異的中和抗体による生物活性の抑制や、レセプターなどへの結合性の阻害を検討することは同一性確認の精度を一層高めることになる。

目的物質の免疫化学的性質が、精製、確認試験、純度試験、定量法、体内動態試験などに利用されている場合には、目的物質と抗体に関するすべての関連情報を提供する必要がある。例えば、(1)イムノアッセイ、免疫電気泳動、抗体中和法などの適切な方法を用いて検討した目的物質とこれに特異的な抗体との反応性、(2)類似物質に対する抗体又は類似物質が比較的容易に入手できる場合に、目的物質又は目的物質に対する特異抗体との反応性、などがあげられる。

3) 生物学的性質

トランスジェニック動物由来製品にあつては、まず何よりも目的タンパク質を特徴づける目的の生物学的あるいは生化学的性質を確認することが必須である。例えば、酵素の場合には酵素化学的性質、モノクローナル抗体の場合には標的抗原に対する特異性や組織学的結合性、ワクチンの場合には免疫原性、ホルモンの場合には目的とするホルモン活性、サイトカインの場合には目的とするサイトカイン活性などである。一方、多くの場合、目的とする性質以外にも多彩な生物学的作用を有することが知られており、ケース毎に適宜、適切な検討あるいは文献からの情報の提供が必要である。

こうして明らかになった製品の生物学的あるいは生化学的機能は、これを指標とする確認・同定法や比活性を指標とする純度検定法、力価測定のための定量法などに活用される。さらには活性高次構造形成あるいは保持の確認や、活性を指標とする安定性評価にも有用である。

生物学的性質を検討する手法には、動物を使用する *in vivo*法と、細胞などを用いる *in vitro*法がある。基礎研究の段階、開発段階では、両法を駆使した詳細な検討が必要である。しかし、品質管理を目的とするような試験などでは、動物愛護、細胞生物学の発展をふまえたより簡便で正確な *in vitro*法の開発、あるいは生物活性との相関性が検証された理化学的試験法を適宜利用することが望ましい。

2.8 プロセス評価/検証、工程内管理試験

トランスジェニック動物由来製品の特性・品質確保の最も基礎となるのは、前項で述べた製品の特性・品質解析結果

であることはいうまでもない。この結果は、同時に製造工程全体の妥当性に関する最も重要なデータでもある。同時に、医薬品としての承認後、将来にわたって継続的に同一の特性・品質を有する医薬品を供給していくための規格及び試験方法を設定する際に最も基礎となるデータを提供する。

しかし、トランスジェニック動物由来医薬品が複雑な製造工程の産物であり、かつ製造工程には望ましくない有害因子が迷入する可能性があること、製品が複雑な構造や性質を有し安定性にも乏しいものであることなどを考え合わせると、開発ステージでの製品の特性・品質解析結果や承認条件として設定される製品の規格及び試験方法のみに依存して品質の恒常性確保を望むことができないことは明らかである。そこにプロセス評価/検証の概念の導入と実施の必然性が生じてくる。いったん確立して製品の特性・品質等が評価された製造工程は、あらゆる角度から検証されることや、その継続性を保証することを通して、医薬品の品質の恒常性の確保にさらに確実に寄与する不可欠な要素となる。

2.8.1 各段階でのプロセス評価/検証、工程内管理試験

わが国の現行の制度で中々考えると、プロセス評価/検証には開発段階で実施するものと、承認後に実生産スケールで実施するものがある。

組換え医薬品あるいは細胞培養医薬品の場合、開発段階ではまず製造過程の主要部分、例えば目的物質に対応する構造遺伝子の入手方法、発現ベクターの構築、宿主の選択、種細胞株の樹立方法、培養方法などの妥当性を、遺伝子安定性ガイドライン⁶⁾、細胞基材ガイドライン¹⁰⁾などを参照しながら評価/検証する。一方トランスジェニック動物由来医薬品では目的タンパク質の合成過程は動物に委ねられる。したがって開発段階では、導入遺伝子および動物について上記2.1から2.4及び2.5の一部の要件について評価/検証することになる。次に、トランスジェニック動物から目的物質の採取、精製過程を含め設定された製法が全体として当初の意図どおりであったかどうか、妥当であったかどうかを最終的に得られた産物の特性、品質の解析結果から評価/検証する。さらに、有害因子や不純物が最終産物に迷入し、安全性上問題となることがない製造・精製工程であることを立証するために製造・精製工程の評価/検証を行う。すなわち最終目的物質への混入が予想される不純物や、工程中で迷入の可能性のある有害因子が当該製造・精製工程により許容できるレベルにまで除去されているか、およびこれら物質が混入あるいは迷入しても当該工程が除去する能力を有しているかを評価/検証する。不純物などについては、適当な製造段階における製品を直接測定することにより除去状況を知り、各精製工程が持つ除去効率や除去能力などを検証することができる。なお、別途、実生産を反映しながらスケールダウンした系での添加回収実験などにより工程がもつ特定の不純物に対するクリアランス能力を評価するという方

策もある。こうした評価/検証の過程で、製品の品質確保面からみて評価/検証された工程が将来にわたって恒常性を維持するために必要なプロセスコントロールの方策を構築していくことになる。このプロセスコントロールの中には、製造工程のある段階において工程内管理試験や規格を設定するという方策もある。これらの結果やその他後に述べる規格及び試験方法の設定に際して考慮すべき諸要素をふまえて、最終製品（原薬や製剤）段階での規格及び試験方法が暫定的に定められる。この製品段階での規格及び試験方法や工程内管理試験の妥当性は、非臨床安全性試験や臨床試験に用いたロットを含む適当なロット数の製品についてのロット分析により評価される。場合によっては、規格及び試験方法を再検討する必要、ひいては製造工程の一部を再構築する必要がある。工程内管理試験及び規格及び試験方法はきわめて重要な評価対象であり、承認事項である。

一連のロット分析は言うまでもなく製造工程の妥当性、恒常性の検証をも重要な目的の一つとしている。こうして製造工程の妥当性、恒常性が製品の分析によって評価/検証されることにもなるが、以降の製品における望ましい品質やその恒常性の確保が妥当性と恒常性を評価/検証された製造工程によって保証されることにもなる。製造工程と製品とは常に双方向的に、あるいは相補的に妥当性や恒常性が評価/検証される関係にあるといえる。

このように、承認時には、①プロセス評価/検証、②製造工程の適切な段階における工程内管理試験や規格の設定、③原薬及び製剤における適切な規格及び試験方法設定の3つのアプローチを相互補完的に合わせて、全体として目的タンパク質性医薬品の品質を保証するという方策を示す必要があることが、ICHでも国際的合意事項として明確にされたところである^{11,12)}。この方策によれば、工程内管理試験で設定した規格・試験に関しては、最終製品での規格及び試験方法で設定する必要はなく、重複を避けることが可能となる。トランスジェニック動物由来医薬品においても、他のバイオテクノロジー応用医薬品と同様に、プロセス評価/検証や工程内での管理試験と規格のような上流の製造工程での品質管理と、原薬及び製剤レベルでの規格及び試験方法を合わせて考えるという、科学的にも、経済的にも合理的なアプローチの導入が図られるべきであろう。

承認後には、実生産スケールで必要なプロセスバリデーションを実施し、製造工程の恒常性を検証する。また、製品レベルでの品質の恒常性の確保に関する確認は、承認された工程内管理試験や原薬及び製剤での規格及び試験方法によって行われる。

2.8.2 不純物および有害因子の除去のプロセス評価/検証

不純物および有害因子の除去のプロセス評価/検証はトランスジェニック動物由来医薬品の品質・安全性を担保する

上で、非常に重要なステップであるので、以下に詳述する。

不純物については、原材料由来、製法由来、製品が変化したものなどが考えられる。これら不純物の除去については、製造工程中のあるステップと次のステップにおける製品中の不純物含量あるいは精製工程での除去効率などより評価/検証する。精製工程中での除去効率は、実際の工程を再現できるスケールダウンしたカラム等に対象物質を添加（スパイク）し、各工程単位毎に求められた除去率を積算することにより、予測することもできる。

不純物の問題とは別に、外来性有害因子の不活化、除去という観点からプロセス評価/検証と工程内管理試験がきわめて重要であることはすでに述べたとおりである。予測できる外来性有害因子としては、各種微生物、エンドトキシンなどがまず挙げられる。無菌試験、マイコプラズマ試験、エンドトキシン試験などを工程内の適切な段階における管理試験として設定することは、製品の安全性確保上の重要なポイントである。エンドトキシンについては精製工程における除去状況をモニターすることが望ましいこともある。

安全性確保の観点から最も大きな関心が払われるべきはウイルス汚染及びウイルスの不活化、除去に関するプロセス評価である。

一般にトランスジェニック動物由来製品におけるウイルス汚染の可能性を制御する方策としては、1)生産用動物系をはじめとする製造関連物質の選択と試験、2)製造過程がどの程度ウイルス除去、不活化能力を有するかに関する評価（試験）、3)製造工程の適切な段階における製品のウイルス否定試験の3つのアプローチを採用し、相互補完的に活用、実施する必要がある。

迷入ウイルス否定試験を製品のいずれの段階で実施すべきかは慎重に検討する必要がある。しかし、実施を考慮する際にまず選択すべき製品段階は、トランスジェニック動物から目的物質を採取し、精製工程へ受け入れる段階である。この未精製バルクは、最終製品への外来性微生物汚染の可能性を高確率で測定することができる最も効果的なレベルの一つであること、また、動物レベルでの一回の試験は、動物の適格性についてであって、試験時の動物に外来性ウイルスが存在しなかったからといって、次々生産されるバルク各ロットにもウイルスがないことを必ずしも常に保証するものではないからである。どのような頻度で、どの程度のウイルス試験を実施するかは、ケース・バイ・ケースであるが、いずれにしても製造者が各製造バッチ中の外来性ウイルスの存在の有無を継続的に評価するための計画を作成することが望ましい。

次に目的物質の精製プロセスにおけるウイルスクリアランス評価試験等のあり方が問題となる。

ウイルスクリアランス試験の目的は、ウイルスの不活化や除去に有効と考えられるあるプロセスについて評価すること、それらの各プロセスを併せて全体としてウイルスがどの

程度減少したかを定量的に測定することにある。

このウイルスクリアランス評価試験には2つのアプローチが考えられる。その一つは、未精製バルク等に現に存在が知られているウイルスそのもののクリアランスを評価するためのプロセス評価試験（ウイルスクリアランス評価試験）、もう一つは、ある特定のウイルスの不活化や除去目的を達成しようとするよりむしろ、そのプロセスがもつウイルスを排除する能力の特性を解析するための、プロセス特性解析試験（ウイルスクリアランス特性解析試験）である。

前者は、実際例としてはほとんど考えられないケースである。しかし、目的物質がある重篤な疾患を治療するのにきわめて有用な医薬品で、混在するウイルスあるいはウイルス様粒子がヒトに対する病原性を持たず、また精製プロセスにおいて不活化、除去できるようなケースについては、予めウイルスの混在のみを理由に製品を排除することは必ずしも合理的ではないところから考慮に入れることとした。

ウイルスクリアランスに関するプロセス評価試験あるいはプロセス特性解析試験に際して重要なことの一つは、どのようなウイルス類を実験に使用するかということである。このようなウイルス類を仮に3つのカテゴリー、すなわち“関連ウイルス”、“特異的モデルウイルス”、“非特異的モデルウイルス”に分けることとする。これはICHガイドライン³⁾およびその通知⁴⁾で細胞株由来のバイオテクノロジー製品について採用されている考え方である。

“関連ウイルス”とは、製造過程で使用される動物、飼料、その他の試薬類や各種物質に混在することが知られているか、あるいは存在の可能性があるウイルス類と同一かあるいは同種のウイルスで、ウイルスクリアランスに関するプロセス評価に用いられるものである。これらのウイルス類は、実際に存在するものなので不活化過程あるいは精製過程がこれらを不活化・除去する能力があることを示す必要がある。

一方、この“関連ウイルス”の入手が困難であったり、ウイルスクリアランスに関するプロセス評価にうまく適用出来ないといった場合には、代替として“特異的モデルウイルス”を用いることになる。適切な“特異的モデルウイルス”とは、存在が知られているかあるいは存在が疑われるウイルスに密接に関連しているウイルス、すなわち同一の属もしくは科のもので、検出されたウイルスあるいは存在が疑われるウイルスと類似した物理的・化学的性質を有するものである。

これら2つのカテゴリーのウイルス類は、実際に存在するウイルスのクリアランスに関するプロセス評価に用いられるものであるが、それとは別の観点のアプローチであるプロセス特性解析試験、つまり、一般にあるプロセスがウイルスの除去や不活化に関してどの程度の能力を有するかが目的である場合、すなわちプロセスがもつウイルス排除能力の特性を解析するために用いられるのが“非特異性モデルウイルス”である。

非特異的モデルウイルスとしては、目的からしてさまざま

な異なる性質を持つものが用いられるべきである。例えば、DNAウイルスとRNAウイルス、外殻（エンベロップ）を有するウイルスと有さないもの、サイズの異なるものなどの全てが包含しているようにウイルスのあるセットを選択する必要がある。このような実験目的には、現在、少なくとも3種類以上の非特異的ウイルスを使用することが望ましいとされている。どのようなウイルスを何種類選択するかは、製造に用いた動物種や製造過程の内容とどう解析したかにもよる。この非特異的モデルウイルスを用いたプロセス特性解析試験は未精製バルク等におけるウイルスの存在の有無にかかわらず実施する必要がある。

ウイルスクリアランス手順の評価と特性解析に関連する主な事項としては、上に述べたA)ウイルスクリアランス評価試験及び特性解析試験に用いるウイルスの選択以外に、B)ウイルスクリアランス試験のデザインと実施要領、C)ウイルスクリアランス試験の解釈、D)ウイルスクリアランス試験の限界、E)統計、F)ウイルスクリアランスの再評価などがある。詳細についてはウイルス安全性評価に関するICHガイドラインQ5A³⁾および通知⁴⁾を参照されたい。

2.9 規格及び試験方法について

トランスジェニック動物由来医薬品の品質の保証及び恒常性の確保を図る直接の方策あるいはその基盤には、さまざまなものが挙げられる。開発段階においては、①製造工程の確な設定、②製品の特性や品質の十分な特性解析、③製造工程の評価/検証、承認時においては、④適切な規格及び試験方法の設定、⑤工程内管理試験の設定、⑥安定性試験の評価、承認後においては、⑦設定された規格及び試験方法の履行、⑧設定された工程内管理試験の履行、⑨最終的に定められた製造工程の評価/検証とGMPの遵守、⑩原材料その他医薬品製造に用いられる試薬類や資材の品質管理などが挙げられる。これらの要素をすべて適正に充たすことによって医薬品の適切な品質が保証されるが、規格及び試験方法が承認後の医薬品の品質とそれを基盤とした有効性、安全性の維持、保証に中心的役割を演ずることは言うまでもない。すなわち製造ロット毎に、承認時に定められた方法により試験を行い、定められた規格の適合性についてチェックを行うことは品質の恒常性を図る上で基本的な方策である。

規格及び試験方法の本来の目的は、原薬や製剤の特性を徹底的に解析することではない。目的は品質の確認やその恒常性のチェックにある。試験項目、試験方法及び規格値/適否の判定基準はこのような観点をふまえて選択する。しかし、開発段階で明らかになったトランスジェニック動物由来タンパク質性医薬品の品質上の特性を的確に反映した規格及び試験方法を設定し、ロット毎の品質保証試験に役立たせることはきわめて重要である。特に、医薬品の安全性及び有効性を確保するために有用な分子特性及び生物学的な特性に焦点を当てる必要がある。

トランスジェニック動物由来タンパク質性医薬品の特徴を考慮すると、一般的には少なくとも、①有効成分の同一性・構造確認に関する試験法の設定、②有効成分の均一性、もしくは有効成分が複数の分子種からなる場合はそれらの構成比がほぼ一定であることの保証に関する試験法の設定、③有効成分のタンパク質化学的純度の保証に関する試験法の設定、④製法に付随して混入が予想される不純物や目的物関連の類縁物質に特に配慮した純度試験の設定、⑤生物活性や生物学的純度(比活性)の保証に係わる試験法の設定、などに大きな関心が払われる必要がある。

さらに、規格及び試験方法を適切に設定するためには、1)製造の一定性を示すために使用したロットから得られたデータ、及び製造方法に依存して派生する種類や存在量が異なる目的物質関連物質、目的物質由来不純物及び製造工程由来不純物について十分な考慮を払うこと、2)安定性試験データを勘案すること、3)非臨床試験及び臨床試験に使用したロットから得られたデータに基づくこと、4)データは分析法に依存する場合もあるので、参考にするデータが規格及び試験方法で設定したデータと分析法の面からみて相関していることを確認しておくこと、及び適切な分析法を設定すること、などが重要な要素である。

ここで留意すべきことは、高度に精製されたタンパク性医薬品にあつては、生物活性の保証に加え、タンパク化学的性質の保証を重要な柱にすることが必然的な流れとなつていくということである。

また、品質確保のための方策全体における原薬及び製剤の規格及び試験方法の位置づけについては既に述べたとおり、プロセス評価/検証と工程内管理試験と合わせて相互補完的に考える方向を明確に目指すべきである。

以下にトランスジェニック動物由来医薬品の原薬あるいは製剤の規格及び試験方法(ロット毎の品質試験)における主要項目とその設定上の留意点について簡単に述べておく。

- (1) 規格及び試験方法に採用する項目及び試験法の選択は、製品により異なる。また、合理的な理由がある場合は、必ずしも一律に通知¹²⁾の適用が求められている訳ではない。また、項目によってはその設定に、弾力的な考え方で対処しても差し支えないものもある。
- (2) 規格及び試験方法は全体として目的とする医薬品の品質を確認し、その恒常性を図るためのものであるから、全体のバランスを考えて項目及び試験方法を過不足なく、適切に設定することが望ましい。また、同一原理の、同一趣旨の試験をそれぞれ別の項目で重複させる必要はない。
- (3) 試験項目及び試験方法の選択理由、規格値/適否の判定基準の適合範囲の設定根拠を明らかにする必要がある。規格値/適否の判定基準は、非臨床試験や臨床試験に用いたロットから得られたデータ、製造の一定性を示すために用いたロットから得られたデータ、及び安定性試験データ、並びに製品の開発段階で得られた適切なデータに基づい

て設定し、その根拠を示す必要がある。

- (4) 原薬又は製剤の段階で試験を実施するより、むしろ製造工程のある段階で試験を実施する方が適切な場合もある。これを工程内管理試験と称しているが、その試験方法及び規格値/判定基準はわが国では規制対象であり、承認事項になる。この場合、原薬又は製剤の段階で試験を重ねて実施する必要はない。
- (5) 全ての原薬に適用されると思われる規格及び試験方法の項目として、①外観・性状、②確認試験、③純度及び不純物、④力価、⑤タンパク質量などがある。また、適宜、薬局方の試験(例えば、エンドトキシンの検出)を行う。さらに個別の原薬ごとに必要な試験と規格値/判定基準が設定されることになる。一方、製剤の規格及び試験方法として全ての製剤に適用される項目には、通例、原薬のそれと同様に、①外観・性状、②確認試験、③純度及び不純物、④力価、⑤タンパク質量などが挙げられる。さらに剤形の種類に応じて薬局方上の規定が適用される。薬局方に記載されている代表的な試験法には、無菌試験、エンドトキシン、微生物限度試験、実容量試験、不溶性微粒子試験、重量偏差/含量均一性試験及び凍結乾燥製剤の含湿度があるが、これら以外の試験も適用できる。重量偏差/含量均一性試験については、工程管理試験として実施し、相応する規格値を設定するという方策でもよい。
- (6) 確認試験では、その原薬や製剤に極めて特異的である必要がある。また、分子構造上の特徴やその他の特有の性質に基づいて設定する必要がある。分子全体としての同一性の確認や、構成成分あるいは部分構造の確認が行われることになる。もし適当な標準物質があれば、HPLC法、ポリアクリルアミド電気泳動法(PAGE)、SDS-PAGE、等電点電気泳動法(IEF)などの理化学試験法が分子全体としての簡便な確認同定法になり得る。特にHPLC法では、成長ホルモンの例のように分子量2万程度のタンパク質中のアミノ酸1個の違いが識別可能な場合もある。IEFでN末端メチオニン1個の有無のみが異なる分子種を相互に識別できた例もある。免疫学的手法や生物学的手法も有力な同定手段である。これらの手法を電気泳動法などと組み合わせれば確認手段としては一層確実なものとなる。

原薬の確認試験には、2種類以上の試験(理化学試験、生物学的試験、免疫化学試験)を実施することが推奨されている。製剤の確認試験では、ほとんどの場合、1種類の試験で十分であると考えられるが、製品によっては同一性を確認するためには2種類以上の試験が必要となる場合もある。

確認試験の実施にあたって適切な標準物質がない場合でも、SDS-PAGEによる分子量、IEFによる等電点の測定などは、一つの確認手段となり得る。これらは示性値的な扱いで別項目として設定することもある。また、予めその抗原特異性が判明している抗体を用いた免疫化学的試験や

力価測定法（定量法）のそれとは異なる特異的なバイオアッセイも活用できる場合がある。

最終製品が複数の活性成分からなる場合には、その種類の確認やおおよその存在比の確認を行うことも必要かも知れない。

一方、構成成分等の確認としては、構成アミノ酸や糖含量などがあるが、これらの項目は一般に確認試験とは別の独立項目として設定されることが多い。タンパク質や糖の比色反応は意義に乏しい。ただし、脂肪などが構成成分として含まれる場合は、それらを適切に確認することは必要である。また、末端アミノ酸分析が重要な意味を持つ場合もある。

- (7) 構成アミノ酸あるいはペプチドマップは各ロットの一次構造における正当性を裏付ける上できわめて重要である。タンパク質性医薬品の場合、同一の生物活性が必ずしも同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドを意味しない。意図の変換はもとより、意図しない変異、プロセッシングの可能性をチェックするために、目的の一次構造保持に関する試験は必要である。構成アミノ酸分析は、試験対象のタンパク質を加水分解してその構成アミノ酸比を標準アミノ酸を基に分析することになるので標準タンパク質を必ずしも必要としない。構成アミノ酸の分析精度は、被験タンパク質の分子量が数万以上であるときや、糖タンパク質の場合は低下する。分析条件により個々のアミノ酸の回収率なども変わってくるので、規格値は、実測値に則して個々に設定する方がよい。ペプチドマップは、標準物質（標準タンパク質）を必要とする。標準物質と試料とを同一条件で加水分解処理して得たペプチド断片の同一性を比較試験することになるが、分析手段としてはHPLC法が優れている。ポイントの一つは適切な加水分解条件の選択であるが、分子量の比較的高いタンパク質や糖タンパク質でも利用できる。

なお、他の試験法なども含めて、構造確認が十分可能であると判断される場合には、構成アミノ酸、ペプチドマップいずれかを省略することは差し支えないとされている。

- (8) 糖タンパク質における糖部分については、規格及び試験方法でどの程度の試験を行うべきかは、糖鎖の役割と日常的に用いられている分析法との兼ね合いで考慮する問題である。ちなみに、構造・組成の解析の項では、糖含量（中性糖、アミノ糖、シアル酸）を決定する他、糖鎖構造、オリゴ糖パターン（枝分かれ構造の全体像）及びポリペプチド鎖の糖鎖結合部位を可能な範囲で分析することとなっている。最近の糖タンパク質に関する解析法の急速な発達と知見の集積状況からすれば、例えば、質量分析法を用いれば、ポリペプチド鎖の糖鎖結合部位毎に結合している糖鎖の不均一性、すなわち、数十種類程度の糖鎖の構造程度までは、比較的簡単に分析することが可能になっている。オリゴ糖パターン程度ならさらに簡便な日常的分析法

で測定可能である。したがって、規格及び試験方法において、例えばフェノール-硫酸法といった一般的な糖の比色定量法で測定して、単にトータルとして糖が何%〜何%にあると規格化することでよいとするのは、いまや必ずしも一般に妥当であるとは思えない。特に、目的有効成分の糖部分のもつ生物活性発現への関与、体内動態への関与、免疫原性との関連などなんらかの生物学的役割が明らかにされている場合は、少なくともその背景となる糖構造を端的に反映できるような規格試験法を設定することが望ましいであろう。また、タンパク質部分の構造は基本的に同じであるが糖部分において差異があるような同種同効医薬品で、その差異により当該医薬品の有効性、安全性上の特長に独自性があると主張するような場合には、規格の設定をその主張の裏付けとなるよう連動させておく必要がある。技術開発の進み具合からすれば、単に糖の含量や個々の構成糖の組成比の規格化というレベルにとどまらず、糖鎖部分の不均一性や一定の糖鎖組成比の規格化、すなわち一種の糖鎖マッピングの設定も品質の恒常性という観点から必要になると思われる。

- (9) タンパク質性医薬品の場合、絶対的な純度を決定するのはむずかしく、また、その結果は試験方法に依存する。原薬の純度を評価する際には、一般に、各種の分析方法を組み合わせるにより行う。ところで、「原薬」は「目的物質」、「目的物質関連物質」並びに「目的物質由来不純物」及び「製造工程由来不純物」から構成される。また、緩衝液のような他の構成成分を含めた添加剤を含有する場合もある。「目的物質」とは、①予期した構造を有するタンパク質、②DNA塩基配列から期待されるタンパク質、③しかるべき翻訳後修飾（グリコフォームの生成も含む）から期待されるタンパク質、及び④生物活性分子を生産するのに必要な、意図的な加工・修飾から期待されるタンパク質を指す。「目的物質関連物質」とは、製造中や保存中に生成する目的産物の分子変化体で、生物活性があり、製品の安全性及び有効性に関して悪影響を及ぼさないもので、目的物質に匹敵する特性を備えており、不純物とは考えないものである。「目的物質由来不純物」とは、目的物質の分子変化体で、生物活性、有効性及び安全性の点で目的物質に匹敵する特性を持たないものである。「製造工程由来不純物」とは、文字通り、製造工程に由来する不純物である。

原薬の純度を規格及び試験方法として設定しようとする場合、目的物質、目的物質関連物質及び不純物を相互に分離することに重点をおいた分析方法の選択、最適化に留意する必要がある。

「目的物質関連物質」の代表的なものとしては、インスリンやヒト成長ホルモンの脱アミド体、ヒト成長ホルモンのメチオニンスルホキシド体などがある。HPLC法でこれらの変化体が識別分析できるようになっている。目的物質関

連物質については、それぞれ個別の若しくは総量での規格値を適切に設定する必要がある。

「目的物質由来不純物」には、例えば、前駆体、製造中や保存中に生成する分解物・変化物がある。後者には、目的物質のペプチド結合が加水分解酵素や化学物質により開裂して生じた切断体、異性体、ジスルフィド結合ミスマッチ体、目的物質の二量体や多量体が含まれる。「目的物質由来不純物」を規格及び試験方法として設定しようとする場合、目的物質及び目的物質関連物質と分離分析できる方法の選択、最適化に留意する必要がある。HPLC法や電気泳動法が一般に有用である。「目的物質由来不純物」に関する規格値は、それぞれ個別に若しくは総量で適切に設定する必要がある。不純物のうち、あるものについては、効果的なプロセスコントロールにより許容できるレベル内に収まっているか、あるいは容認できるレベル以下まで効率的に除去できることを適切な検討によって実証していれば、原薬や製剤を対象とする試験は必ずしも必要ではなく、かつ規格及び試験方法に含めなくてもよい場合がある。本件に関する検討については実生産規模での確認が必要なこともある。

「製造工程由来不純物」には、動物に由来するもの、動物からの採取材料（乳汁、血液、尿、その他の組織）に由来するもの、あるいは採取以降の工程である目的物質の抽出、分離、加工、精製工程に由来するものがある。

採取材料に由来する不純物には、例えば、採取材料由来タンパク質、核酸などがある。採取材料由来タンパク質に対しては、広範なタンパク質性不純物を検出することができる高感度な分析法、例えばイムノアッセイが一般に用いられる。イムノアッセイの場合、試験に用いるポリクローナル抗体の調製に工夫が必要である。考えられる方法は、遺伝子を導入していない動物の採取材料を医薬品製造時と同様の分離、精製操作を行い、部分精製段階における試料を抗原として抗体を得るという方法である。採取材料由来タンパク質に対する特異抗体試料の作製方法のもう一つの工夫として、採取材料由来タンパク質の部分精製品を免疫して作製した抗血清を、部分精製品で作製したアフィニティカラムにかけて精製し、その特異性並びにタイターを高める方法などもある。採取材料由来のタンパク質などの混入が問題となるのは、それ自体がヒトに対し抗原性物質となる可能性があるからである。

採取材料由来のDNAは、（ハイブリダイゼーション法などにより）製品を直接測定することにより検出される。

採取以降の工程である目的物質の抽出、分離、加工、精製工程に由来する不純物には、例えば、酵素、化学的・生化学的試薬（例えば、臭化シアン、グアニジン、酸化剤及び還元剤）、無機塩（例えば、重金属、ヒ素、非金属イオン）、溶媒、クロマトグラフ用担体、アフィニティクロマトグラフ用担体のリガンド（例えば、モノクローナル抗

体）、その他の漏出物などがある。製造工程の適切な管理により、これらの不純物は最小限にする必要がある。

精製過程で用いる試薬類などの原薬への混入の可能性等については、プロセス評価/検証で予め適切な検討がなされ、可能性が否定されていれば、ロット毎の規格項目として必ずしも設定する必要はない。しかし、これにはあくまで一度はきちんとしたプロセス評価/検証を行って、当該成分の除去状況、あるいはその除去効率などについての合理的なデータ、根拠が示されることが前提となっている。したがって、同一目的有効成分を最終産物とする場合でも、製法、精製法などが変更されれば、こうしたプロセス評価/検証に依拠した純度試験の項目の取捨選択基準が変わるので、改めてその基準の見直しをしなければならない。工程内管理試験を設定するなど適切なプロセスコントロールを行うことが示される場合には、原薬で繰り返し規格値を設定する必要はない。

製剤については、製剤化中あるいは製剤の保存中に特異的に生成する分解物・変化物があることが判明していたり、原薬に元々存在する目的物質由来不純物が量的に増加する場合には、これらの不純物のレベルを測定し、規格値を設定する必要がある。

なお、不純物とは別のカテゴリーとして「混入汚染物質」がある。医薬品中の「混入汚染物質」とは、製造工程には本来存在しないはずのもので、外来性の化学物質や生化学的な物質（例えば、微生物由来プロテアーゼ）あるいは微生物類のようなものすべてを指す。汚染物質の混入は厳に避けるべきであり、適切な工程内管理試験の規格値/適否の判定基準や処置基準値あるいは原薬及び製剤の規格及び試験方法により適正に管理する必要がある。製造工程に迷入する可能性のあるウイルスについては、製造工程のウイルス除去/不活化の能力を示す必要がある。その方策については 2.8.2 項及び「ヒト又は動物起源細胞株を用いたバイオテクノロジー応用製品のウイルス安全性評価」⁴⁾を参照されたい。

- (10) トランスジェニック動物由来タンパク質性医薬品の原薬の規格及び試験方法には、適切な、バリデーションされた力価試験が必要である。しかし、適切な力価試験を製剤について設定していれば、原薬の段階での定量的な評価には、代替試験法（理化学的試験法や生物学的試験法）でも十分な場合がある。また、比活性の測定により、更に有用な情報が得られる場合もある。一方、製剤の場合、適切な力価試験を原薬について設定していれば、製剤の段階での定量的な評価には、代替試験法（理化学的試験法や生物学的試験法）でも十分な場合がある。ただし、そのような設定を行う場合には、製剤化の過程で生物活性の低下は生じないなど、その妥当性を示す必要がある。

生物学的試験は、タンパク質性医薬品が目的とする活性高次構造を形成し、特徴的な生物活性を保持していること

を立証する上で重要な試験である。また、臨床上の効果を直接反映する場合も多い。しかし、臨床上の効果を直接反映するような試験は一般に動物を用いた *in vivo* 試験であり、動物愛護の観点からはできることなら回避したい。また、煩雑で多大の労力と時間がかかる割にはきわめてばらつきの多い結果しかもたらさないこともしばしばある。その結果として、有効成分自体はきわめて純度も高く、均質であるにもかかわらず、実態とかけ離れた非常に広い規格巾を設定せざるを得ないという不合理に遭遇することも少なくない。そこで、臨床上の効果とは必ずしも相関しないが、より高精度で簡便な *in vitro* 試験法で定量するという方策も考えられる。この場合、*in vivo* 試験を半定量的な試験法として別に設定するのか、あるいは原薬、製剤いずれかで設定するのか、あるいはルーチンの試験方法としては設定しないのか、いろいろなケースが考えられる。いずれにしても、設定された方策の妥当性が示される必要がある。ちなみに、エリスロポエチンの例にみられるように、*in vivo* 活性に必須な糖鎖構造が *in vitro* 活性には制御的に機能し、糖鎖構造如何では、*in vivo* 活性と *in vitro* 活性が逆相関の関係になる場合もある⁵⁴⁾ので慎重なアプローチが必要である。エリスロポエチンの場合は、現状で *in vitro* 試験のみでコントロールすることの合理性を見出すのは難しい。同種同効の有効成分でありながら、わずかに構造の異なるさまざまな分子種が生産されているのがタンパク質性医薬品の特徴の一つであるが、これらは採用されたパイオアッセイ系それぞれに依存して互いに相関しない力価を示す例も多い。しかし、一般的な解決策はなく、一つ一つ吟味しながら合理的な規格及び試験方法の設定を模索していくしかない。

トランスジェニック動物由来タンパク質性医薬品では、なによりも有効成分が物質的にほとんど純粋なものとして得られることを考慮し、適切で目的にかなうならば、理化学的試験法を定量法とすることは、差し支えない。ただし、これらの方法によるときは、その特異性において、生物活性との相関が確認されている必要がある。すなわち、HPLC法を採用するとしても、定量しようとするピークに帰属される物質は、少なくとも完全に生物活性のあるもの、すなわち目的物質か目的物質関連物質であり、不純物はもとより、活性構造の変化などで活性を失ったもの、あるいは本来のものと同等の活性を示さなくなったものは、当該ピークとは分離されたピークとして現れること、ピーク面積（高さ）と活性との関係が予め明らかにされていることなどの前提条件が必要である。また、十分に確立された製造実績が必要である。ただし、現時点では、一般に生物学的試験による定量によらないでHPLC法で試験することの妥当性が立証されているのは、インスリンとヒト成長ホルモンのみである。理化学的試験法を物質量からの観測の定量法とし、信頼区間が比較的広い生物学的試験を別

に設定するという組み合わせもあるかも知れない。

- (ii) 新たなトランスジェニック動物由来タンパク質性医薬品を承認申請する際に、国際標準品又は国内標準品が利用できる場合はほとんどない。したがって一般には承認申請時まで、製造業者は自ら、代表的な製造ロットでかつ臨床試験に用いた検体を代表するロットから調製し適切に特性解析した「自家一次標準物質」を確立しておく必要がある。一般的にはさらに、一次標準物質を基に検定した「自家用標準物質」を設定する。自家用標準物質は、自家一次標準物質と同様に調製され、ある特定の製品特性について、各生産ロットを評価、管理するために、確立されたものである。

国際標準品又は国内標準品が利用でき、かつ適切であれば、これを基に標準物質を検定する必要がある。生物学的試験及び理化学試験の両方に同一の標準物質を使用することが望ましいが、別々の標準物質が必要な場合もある。標準物質とは、あくまで試験目的に則した形でその規格、基準などが定められるべきものである。例えば力価測定用の標準物質の場合には、その標準物質について、同一性と正確な力価が定まっていることが重要で、厳密なHPLCの純度は必ずしも要求されない。標準物質の力価に関しては、範囲で定めることはしない。一方、ペプチドマップ用やHPLC用の標準物質の場合には、目的に応じた構造、組成、諸性質などについての徹底的な解析結果と厳密な純度が要求される。また、目的物質関連物質、目的物質由来不純物及び製造工程由来不純物に対して、それぞれの標準物質を個別に確立する必要がある場合もある。適宜、承認申請書中に、標準物質の調製や精製に関する記述を入れておく必要がある。標準物質の特性解析、保存条件、及び安定化のための製剤設計についても、資料を作成し、提出する必要がある。

なお、パイオ医薬品はタンパク質製剤であるのでその安定性に問題があるが、標準物質はその保存期間中なんらの変化もしないことが絶対の前提条件である。

2.10 安定性試験

一般に医薬品の安定性試験の目的は、(1)品質保証可能な保存条件、保存期間の設定、(2)医薬品が経時的にどのような変化をうける可能性があるかについて検討することにある。

トランスジェニック動物由来医薬品においてもこの目的そのものは変わらない。しかし、その本質が通常の化学物質とは異なる特性を有しているため、これらの医薬品が安定に維持できる保存条件及び期間を定めるために行われる安定性試験の実施要領は、その特性に十分配慮したものである必要がある。トランスジェニック動物由来医薬品の場合、その有効成分は、一般にはタンパク質やポリペプチドであり、分子の高次構造（コンホメーション）の維持や、それを基盤とする生物学的活性の維持には、共有結合はもとより非共有結

合が関与している。また、温度変化、酸化、光、イオン強度、せん断のような環境因子に特に敏感である。生物学的活性を維持し、分解などを回避するには、一般に厳密な保存条件を必要とする。

原薬又は製剤のいずれの貯法を申請する際にも、その根拠となる第一義的なデータは、実保存期間、実保存条件での長期保存試験により得られるデータである。したがって、適切な長期保存試験計画の立案は、製品開発の成否にきわめて重要である。

2.10.1 バッチの選定

1) 原薬 (バルク)

原薬が製造後、製剤化工程又は最終工程の前の段階で保存される場合には、実生産スケールを反映する3バッチ以上の試料について安定性試験成績を提出する必要がある。6カ月以上の有効期間を予定しているものについては承認申請時に最低6カ月の試験データを提出する。6カ月未満の有効期間を予定しているもの場合、当初の申請に最低限どの程度のデータが必要かについてはケースバイケースで決定されるであろう。

原薬の安定性試験に使用する容器は、実生産の製造工程で実際に用いられる容器を適切に体现できるものを用いる必要がある。実際の製造に通常使用されるものと同じ材質及び同じタイプの容器/栓であればサイズの小さな容器を用いて安定性試験を実施しても差し支えない。

2) 中間製品

トランスジェニック動物由来医薬品の製造において、ある特定の間接製品の品質とその管理が最終製品の製造に重要となる場合がある。その場合、製造業者は開発された製造工程中において、該当する中間製品を定め、自家試験データを取得し、その安定性を保証する工程管理限度値を設定することが一般的に求められる。

3) 製剤 (最終包装製品)

実生産スケールを反映する3バッチ以上の製剤 (最終包装製品) について安定性試験成績を提出する。安定性試験に用いる製剤 (最終包装製品) の各バッチは、可能な範囲で異なる原薬バッチを使用して製造したものとする。予定される有効期間と提出すべき実験データの関係は原薬の場合と同様である。

2.10.2 安定性評価

一般的に、トランスジェニック動物由来医薬品の安定性面での特性は、数種類の安定性評価試験法あるいはいろいろなパラメーターを組み合わせることで評価できる。したがって、当該医薬品の同一性、純度及び力価の変化を捉えることができる総合的な安定性評価法を考案する必要がある。

この安定性評価法に含まれる試験方法はバリデートされたものであって、これに関する資料は申請時点において提出

できる状態にしておくべきである。どのような試験項目を採用するかは製品の特徴に応じて定められる。以下に、安定性評価に関連する事項のうち主なものを示す。

1) 安定性試験実施計画書 / 結果報告書

原薬及び製剤について、貯法及び有効期間の妥当性を示す試験実施間隔などを含め、有効期間中をとおしてトランスジェニック動物由来医薬品が安定であることを示す情報がすべて記載された安定性試験実施計画書/結果報告書を作成する必要がある。統計学的手法は安定性に関するICHガイドラインに記載されている方法を用いる。

2) 力価

製品の臨床効果と生物学的活性とが関連性を有している場合には、力価試験は安定性評価の一部であるべきである。

力価の経時的変化に関する検討は、安定性試験実施計画書にしたがって適切な間隔で実施される必要がある。またその結果は、可能な限り、国内又は国際的に認定された標準品を基準として検定された生物学的活性単位で報告される必要がある。国内標準品又は国際標準品がない場合、試験結果を、適切な特性解析がなされた自家標準物質を用いて得られた自家単位でのデータにより報告してもよい。

トランスジェニック動物由来医薬品の中には、力価が有効成分と第二の成分とのコンジュゲーションあるいはアジュバントとの結合に依存しているものがある。コンジュゲートあるいはアジュバントとして用いられたキャリアーからの有効成分の離脱については、流通過程で遭遇する条件も含め、実保存期間、実保存温度で検討する必要がある。この種の製品にあつては、*in vitro*の生物学的活性試験や物理的・化学的特性分析が実施不可能かあるいは正確性に欠く結果を与えるため、安定性評価が困難な場合がある。このような *in vitro* 試験における不十分さを補完するために、適切な方策 (例えば、コンジュゲーションや結合前の製品についての試験、第二成分から有効成分の離脱の評価、*in vivo*による力価試験) を考えたり、又は適切な代替試験の活用を考慮する必要がある。

3) 純度及び分子特性の解析

安定性試験に供されたトランスジェニック動物由来医薬品に関しては、純度はもとより、その分解物・変化物について、個々の量及び総量を可能な限り測定する必要がある。分解物・変化物の許容限界量は、非臨床及び臨床試験に用いた原薬及び製剤の分析結果に基づくべきである。

適切な理化学的分析手法、生化学的手法及び免疫化学的分析手法を用いれば、原薬及び (又は) 製剤について広範囲な特性解析 (例えば、分子量、荷電、親水性) を行うことができ、保存中の脱アミド化、酸化、スルホキシド化、凝集又は断片化などによる物質変化を的確に検出することが可能となる。有用な分析方法の例としては、電気泳動法 (SDS-PAGE)、免疫電気泳動法、ウェスタンブロット、等電点電気泳動法など、高分離能クロマトグラフ法 (例えば逆相クロマトグラ

フ法, ゲル濾過クロマトグラフ法, イオン交換クロマトグラフ法, アフィニティクロマトグラフ法) 及びペプチドマッピングがある。

長期保存試験, 加速試験及び(又は)苛酷試験において, 分解物・変化物の生成を示す有意な質的又は量的変化が検出された場合には, 計画に沿って実施された長期保存試験中に生成する分解物・変化物が安全性上問題となる可能性につき検討・考察する必要がある。また, それらの特性解析と定量的把握が必要かどうかにつき検討・考察するべきである。許容限度値については, 非臨床及び臨床試験に用いた原薬及び(又は)製剤で検出された水準を勘案して設定し, その妥当性の根拠を示す必要がある。

2.10.3 保存条件

1) 温度

トランスジェニック動物由来医薬品の多くは保存温度を厳密に限定する必要があるため, 実保存温度, 実保存期間で実施される安定性試験の保存条件は, 通常, 申請する保存温度に限定される。

2) 湿度

申請しようとする容器(及び申請しようとする保存条件)が, 高湿度及び低湿度に対して十分な防湿効果を有することを証明できる場合, 各種の相対湿度条件下での安定性試験は一般に省略することができる。防湿性の容器を使用しない場合には, 適切な安定性のデータを提出する。

3) 加速及び苛酷条件

加速試験は, ①有効期間の設定上有用な補足情報を提供する; ②将来の製品開発(例えば, 製剤処方変更, スケールアップなどのような製法変更を申請する際の予備的評価)に資する当該物質の安定性面での情報を提供する; ③安定性試験に用いられる分析方法のバリデーションを行う際に役立つ; ④原薬又は製剤の変化の様相(分解特性)の解明に役立つ情報をもたらす, などの可能性がある。

苛酷試験は, ①製品が申請する保存条件以外の条件に偶発的に曝された場合(例えば, 輸送中), 製品に悪影響があるかどうかを判断する; ②どのような特異的試験パラメーターが製品の安定性指標として最適かを評価する, ことなどに有用である可能性がある。また, ③極端な条件下に原薬又は製剤を曝すことで, 変化・分解のパターンを明らかにするのに役立つ可能性がある。仮に変化・分解のパターンが明らかとなるのであれば, 同様な変化が申請しようとしている保存条件下で起きるかどうかをモニターする必要がある。条件については個々のトランスジェニック製品の特性を考え, ケースバイケースで慎重に選択する必要がある。

4) 容器/栓

トランスジェニック動物由来医薬品において, 製剤と容器や栓との相互作用によって製品の品質変化が起こる可能性がある。アンプル製品以外の液体の製品で, 使用される容器

や栓との相互作用が明らかになっていない場合については, 正立の状態だけでなく容器を倒立又は横倒しさせた状態も含めた(すなわち栓と接触した状態で)安定性試験を実施し, 栓が製品の品質に影響を及ぼさないか検討する必要がある。市販予定のすべての容器/栓の組み合わせについてのデータが必要である。

また, 通常の単回使用バイアルに必要な標準的なデータに加えて, 注射針などを何度も栓から入れて繰り返し抜き取り使用するマルチプルドーズバイアルの場合は, 容器, 包装, 添付文書などに記載する使用手引に規定された最長使用期間中, 栓がそうした条件に耐え, 製品の力価, 純度, 品質が保持されていることを示す必要がある。

5) 凍結乾燥品の溶解後の安定性

凍結乾燥品の溶解後の安定性については, 容器, 包装, 添付文書などに記載された条件及び最長保存期間での安定性を検討する必要がある。

2.10.4 試験頻度/期間

1年以下の有効期間を申請する場合には, 長期保存試験は最初の3カ月は1カ月ごと, その後は3カ月ごとに試験する。1年を超える有効期間を申請する場合は, 最初の1年目は3カ月ごと, 2年目は6カ月ごと, それ以降は1年ごとに試験することとする。

2.11 非臨床安全性等試験, 臨床試験

組換え医薬品等に対するアプローチ(ICH S6 国際調和ガイドライン「バイオテクノロジー応用医薬品の前臨床安全性評価」^{13,14)}に準じ, ヒトで起こりうる安全性, 有効性上の問題を, 適切に評価できる非臨床試験によって十分検討し, その危険性と有益性の科学的妥当性を考察する。

妥当性が認められた場合には第I相, 第II相及び第III相と臨床試験を段階的に慎重に行い, 有効性及び安全性について, 精密かつ客観的な考察を行う。その際動物由来微生物の迷入による人獣共通感染症が発生する可能性について絶えず高い関心を払い, 適切なデータや情報の収集に努める必要がある。

特に次の項目について, 詳細に検討する。

- 1 局所的及び全身のアレルギー
- 2 抗体産生(有効成分に対する抗体など)
- 3 投与部位の局所反応
- 4 抗体との相互作用による薬物動態の変化及び有効性に対する影響
- 5 発熱性

なお, 既に生体由来等の同一有効成分のものが市販されている場合には, 当該同一有効成分医薬品を用いている患者とトランスジェニック動物を利用して製造される医薬品を用いている患者について, 抗体の推移, 作用の変動などを観察し, 比較考察するほか, 予測される治療期間, 患者数などを

考慮し、必要に応じて精密かつ客観的な比較試験を行う。

2.1.2 クローン動物を利用して生産される医薬品の品質、安全性等確保に必要な諸要素及び評価にあたって考慮すべき要件

1.5 に記したように、動物工場としてのトランスジェニック動物の問題点を改善するために、体細胞クローン動物作出技術は二つの視点から動物工場の作出に利用が可能と考えられる。即ち初代トランスジェニック動物の作出効率を改善する手段としての利用、もう一つは均一な生産用動物を作出する手段としての利用である。現時点では、体細胞クローン動物の作出効率は依然として低く、さらに作出した動物の安定性、動物の均一性とも確認されていないため、生産用動物の作出への応用への具体的な動きはみられない。一方初代トランスジェニック動物作出のための利用についても、体細胞クローン動物作出効率はまだ低い、マイクロマニピュレーション法から本格的にシフトするには至っていない。しかし、ターゲット特異的な遺伝子導入が可能である特性を生かし、今後応用例が増えてゆくものと考えられる。

そこで以下に体細胞クローン動物を利用して生産された医薬品の品質・安全性の確保の方策についても考察を加える。

即ち、初代トランスジェニッククローン動物を作出する場合、核移植されるドナー細胞に目的遺伝子を導入しクローン化するまでの過程は、生物薬品製造のための細胞基材に関するガイドライン⁹⁾を適用して評価することができる。体細胞やES細胞を含んだドナー細胞の核移植、および移植後の細胞の融合法については、その方法の詳細と妥当性を明らかにする。次のステップである仮親への卵子の移植、および妊娠、さらには初代トランスジェニッククローン動物の作出とその特性解析については、基本的には通常の「初代トランスジェニック動物の作出と特性解析」と同様のアプローチが適用できる。ただし、クローン動物の生物学的特性については未だ解明されていない問題も多く、今後の科学的知見の集積に応じた対応が必要とされるであろう。

生産用動物の作出に体細胞クローン動物を利用する場合においては、初代トランスジェニック動物からの細胞の分離、さらには核移植から生産用クローン動物の作出に至る操作の詳細と妥当性を明らかにする必要がある。また通常の交配による生産用動物の作出同様に、生産用クローン動物の選別の方法およびその基準を定める必要がある。一方、クローン化した形質転換細胞から核移植によって直接生産用トランスジェニッククローン動物を作出するケースにおいては、上記初代トランスジェニッククローン動物の作出の場合と同様のアプローチが適用できる。体細胞クローン動物の特性についてはまだ未知な部分が少なくないので、生産用トランスジェニッククローン動物の評価においては、特に同一性と安定性について、遺伝子レベル、目的タンパク質の構造、特

性、機能、生産量等、多方面からの慎重な検討が望まれる。その他の留意事項は、通常のトランスジェニック動物の作出、および動物の維持・管理と同様の原則を適用することができる。また、体細胞クローン動物からの目的物質の採取以降の工程については、今後クローン動物作出上の特別な技術が開発されない限り、従来のトランスジェニック動物を利用した医薬品の製造と同様の原則をあてはめることが可能と考えられる。

おわりに

以上、本稿では医薬品としての申請が間近に迫っているトランスジェニック動物を用いて製造された医薬品の現状をまとめるとともに、その品質・安全性等の評価法について考察した。トランスジェニック動物を動物工場として用いるこの製造方法は、従来の組換え細胞による医薬品の生産と比較して生産コストの大きな引き下げが可能という大きなメリットゆえに、急速な普及が予想された時期があった。しかし、当初の予想に比較すると、今現在、動物工場による医薬品製造への急速なシフトは生じていない。その主な理由としては、医薬品生産動物の効率的作出と実用への応用が十分でなかったことが挙げられる。しかし、20世紀中には困難と思われていた核移植による体細胞クローン動物の作出が1997年に成功し、動物工場による医薬品生産は、生産コスト、製品の品質の一定性の確保という点でメリットが増す可能性も考えられるようになった。また、医薬品製造技術として、トランスジェニック動物やクローン動物作出技術に秀でたベンチャー企業と医薬品開発に長けた製薬企業との協力体制が次第に整いつつある。さらに発牛工学は日進月歩の状況にあり、現在問題となっているトランスジェニック動物/クローン動物の動物作出効率の低さ、あるいは動物の均一性、遺伝的安定性という点でも改良が重ねられるものと思われる。したがって、21世紀において、動物工場による医薬品生産は、バイオテクノロジー応用医薬品の製造方法として、重要な位置を占める可能性が高い。その時のためにも、我が国において、これら医薬品の品質・安全性等の評価のためのガイドライン作成を急ぐ必要がある。そのための基礎資料として本稿が役立つことができれば幸いである。

謝 辞

本稿の内容は、大阪大学大学院薬学系研究科 真弓忠範教授、大阪大学医学部附属動物実験施設 黒澤努助教授、京都大学大学院農学系研究科 今井裕教授、米国FDA-CBER Steven R. Bauer 博士、Genzyme Transgenics社 Michael W. Young 氏、Frederick D. Reinhart博士、Merry L. Harvey 氏、Timothy J. Maines 氏、PPL Therapeutics社 Ron James 博士、Fraser J. Leslie氏、Marilyn Moore氏との討議、あ

るいは情報提供の結果得られたものである。ここに心よりの感謝の意を表す。また、本稿は「医薬品研究」に掲載された論文⁵⁹⁾を加筆、再構成したものである。同論文の内容の一部の転載をご許可くださいました寺尾允男日本公定書協会会長に心よりの感謝の意を表す。なお、本研究の一部は厚生科学研究費補助金医薬安全総合研究事業 (H10- 医薬-042) として実施されたものである。

文 献

- 1) US Food and Drug Administration: Center for Biologicals Evaluation and Research: Points to consider in the manufacture and testing of therapeutic products for human use derived from transgenic animals. (1995)
- 2) EU CPMP: Use of transgenic animals in the manufacture of biological medicinal products for human use. Ad hoc working party on biotechnology/pharmacy, Directorate-general III/3612/93 Final (1995)
- 3) ICH Harmonized Tripartite Guideline: "Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin" (1997)
- 4) ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価について (厚生省医薬安全局審査管理課長 医薬審第329号 平成12年2月22日)
- 5) ICH Harmonized Tripartite Guideline: "Quality of Biotechnological Products: Analysis of the Expression Construct in Cells Used for Production of r-DNA Derived Protein Products" (1995)
- 6) 組換えDNA技術を用いたタンパク質生産に用いる細胞中の遺伝子発現構成体の分析について (厚生省医薬安全局審査管理課長 医薬審第3号 平成10年1月6日)
- 7) ICH Harmonized Tripartite Guideline: "Quality of Biotechnological Products: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products" (1995)
- 8) 生物薬品 (バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品) の安定性試験について (厚生省医薬安全局審査管理課長 医薬審第6号 平成10年1月6日)
- 9) ICH Harmonized Tripartite Guideline: "Derivation and Characterization of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products" (1997)
- 10) 生物薬品 (バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品) 製造用細胞基材の由来, 調製及び特性解析について (厚生省医薬安全局審査管理課長 医薬審第873号 平成12年7月14日)
- 11) ICH Harmonized Tripartite guideline: "Specifications: Test Procedure and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products" (1999)
- 12) 生物薬品 (バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品) の規格及び試験方法の設定について (厚生省医薬安全局審査管理課長 医薬審第571号 平成13年5月1日)
- 13) ICH Harmonized Tripartite guideline: "Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals" (1997)
- 14) バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価について (厚生省医薬安全局審査管理課長 医薬審第326号 平成12年2月22日)
- 15) Gordon, J.W., Scangos, G.A., Plotkin, D.J., Barbosa, J.A., and Ruddle, F.H.: *Proc Natl Acad Sci USA* **77**, 7380-7384 (1980)
- 16) Hammer, R.E., Pursel, V.G., Rexroad, C.E., Jr., Wall, R.J., Bolt, D.J., Ebert, K.M., Palmiter, R. D., and Brinster, R.L.: *Nature* **315**, 680-683 (1985)
- 17) Simons, J.P., Wilmut, I., Clark, A.J., Archibald, A.L., Bishop, J.O., and Lathe, R.: *Bio/Technology* **6**, 179-183 (1988)
- 18) Wilmut, I., Archibald, A.L., McClenaghan, M., Simons, J.P., Whitelaw, C.B., and Clark, A.J.: *Experientia* **47**, 905-912 (1991)
- 19) 上田正次: "トランスジェニック動物を用いた医薬品の品質・安全性の確保" バイオ医薬品の品質・安全性評価, 早川堯夫, 山崎修道, 延原正弘編, エル・アイ・シー, 東京, pp. 443-452 (2001)
- 20) World Health Organization (WHO): Report of WHO Consultation on Public Health Issues related to Human and Animal Transmissible Spongiform Encephalopathies, WHO, Geneva (1996)
- 21) World Health Organization (WHO): Infection Control Guidelines for Transmissible Spongiform Encephalopathies, Report on a WHO Consultation, WHO, Geneva (1999)
- 22) 西義介: ヒトの抗体をつくるトランスジェニックマウス, 日経サイエンス, **25**, 40-50 (1995)
- 23) Wilmut, I., Schnieke, A.E., McWhir, J., Kind, A. J., and Campbell, K.H.: *Nature* **385**, 810-813 (1997)
- 24) Wilmut, I.: *Sci Am* **279**, 58-63 (1998)
- 25) Schnieke, A.E., Kind, A.J., Ritchie, W.A., Mycock, K., Scott, A.R., Ritchie, M., Wilmut, I., Colman, A., and Campbell, K.H.: *Science* **278**, 2130-2133 (1997)
- 26) Baguisi, A., Behboodi, E., Melican, D.T., Pollock, J.S., Destrempe, M.M., Cammuso, C., Williams, J.L., Nims, S.D., Porter, C.A., Midura, P., Palacios, M.J., Ayres, S.L., Denniston, R.S., Hayes, M.L., Ziomek, C.A., Meade, H.M., Godke, R.A., Gavin, W.G., Overstrom, E.W., and Echelard, Y.: *Nat Biotechnol* **17**, 456-461 (1999)
- 27) Polejaeva, I.A., Chen, S.H., Vaught, T.D., Page, R.L., Mullins,

- J., Ball, S., Dai, Y., Boone, J., Walker, S., Ayares, D.L., Colman, A., and Campbell, K. H.: *Nature* **407**, 86-90 (2000)
- 28) Denning, C., Burl, S., Ainslie, A., Bracken, J., Dinnyes, A., Fletcher, J., King, T., Ritchie, M., Ritchie, W.A., Rollo, M., de Sousa, P., Travers, A., Wilmut, I., and Clark, A.J.: *Nat Biotechnol* **19**, 559-562 (2001)
- 29) Kato, Y., Tani, T., Sotomaru, Y., Kurokawa, K., Kato, J., Doguchi, H., Yasue, H., and Tsunoda, Y.: *Science* **282**, 2095-2098 (1998)
- 30) Onishi, A., Iwamoto, M., Akita, T., Mikawa, S., Takeda, K., Awata, T., Hanada, H., and Perry, A. C.: *Science* **289**, 1188-1190 (2000)
- 31) Young, L. E., Fernandes, K., McEvoy, T. G., Butterwith, S. C., Gutierrez, C. G., Carolan, C., Broadbent, P. J., Robinson, J. J., Wilmut, I., and Sinclair, K. D.: *Nat Genet* **27**, 153-154 (2001)
- 32) Ohgane, J., Wakayama, T., Kogo, Y., Senda, S., Hattori, N., Tanaka, S., Yanagimachi, R., and Shiota, K.: *Genesis* **30**, 45-50 (2001)
- 33) Chan, A. W., Homan, E. J., Ballou, L. U., Burns, J. C., and Bremel, R. D.: *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**, 14028-14033 (1998)
- 34) Wakayama, T., Rodriguez, I., Perry, A. C., Yanagimachi, R., and Mombaerts, P.: *Proc Natl Acad Sci U S A* **96**, 14984-14989 (1999)
- 35) Shiels, P. G., Kind, A. J., Campbell, K. H., Waddington, D., Wilmut, I., Colman, A., and Schnieke, A. E.: *Nature* **399**, 316-317 (1999)
- 36) Tian, X. C., Xu, J., and Yang, X.: *Nat Genet* **26**, 272-273 (2000)
- 37) Lanza, R. P., Cibelli, J. B., Blackwell, C., Cristofalo, V. J., Francis, M. K., Baerlocher, G. M., Mak, J., Schertzer, M., Chavez, E. A., Sawyer, N., Lansdorp, P. M., and West, M. D.: *Science* **288**, 665-669 (2000)
- 38) Wakayama, T., Shinkai, Y., Tamashiro, K. L., Niida, H., Blanchard, D. C., Blanchard, R. J., Ogura, A., Tanemura, K., Tachibana, M., Perry, A. C., Colgan, D. F., Mombaerts, P., and Yanagimachi, R.: *Nature* **407**, 318-319 (2000)
- 39) Evans, M. J., Gurer, C., Loike, J. D., Wilmut, I., Schnieke, A. E., and Schon, E. A.: *Nat Genet* **23**, 90-93 (1999)
- 40) Lee, T. K., Drohan, W. N., and Lubon, H.: *J Biochem (Tokyo)* **118**, 81-87 (1995)
- 41) Droham, W., Zhang, D.W., Paleyanda, R., Chang, R., Wrobe, M., Velander, W., and Lubon, H.: *Transgenic Res.*, **3**, 355-364 (1994)
- 42) Valender, W.H., Johnson, J.L., Page, R.L., Russel, C.G., Subramanian, A., Wilkins, T.D., Gwazdauskas, F.C. Pittius, C., and Drohan, W.N.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 12003-12007 (1992)
- 43) McKee, C., Gibson, A., Dalrymple, M., Emslie, L., Garner, I., and Cottingham, I.: *Nat Biotechnol* **16**, 647-651. (1998)
- 44) Korhonen, V. P., Tolvanen, M., Hyttinen, J. M., Uusi-Oukari, M., Sinervirta, R., Alhonen, L., Jauhiainen, M., Janne, O. A., and Janne, J.: *Eur J Biochem* **245**, 482-489 (1997)
- 45) 早川堯夫：バイオテクノロジーを応用した医薬品の特性解析，品質及び安全性確保の評価科学—組換え医薬品，細胞培養医薬品，遺伝子治療用医薬品，細胞治療用医薬品，トランスジェニック動物由来医薬品，トランスジェニック動物由来細胞治療用医薬品— 衛研報告 **117**, 1-38 (1999)
- 46) 早川堯夫：細胞培養医薬品生産に用いられる動物細胞及び生産工程の管理方法（その1），細胞の特性試験，管理方法，安定性評価，培養について，医薬品研究，**23**, 137-148 (1992)
- 47) 早川堯夫：細胞培養医薬品生産に用いられる動物細胞及び生産工程の管理方法（その2），細胞の無菌試験，ウイルス試験，目的産物の分離・精製方法について，医薬品研究，**23**, 519-532 (1992)
- 48) 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，**45**, 18-33 (1999)
- 49) 組換えDNA技術を応用し，微生物を用いて製造される医薬品の承認申請に必要な添付資料の作成について（薬審第243号改訂案，平成4年8月内示）
- 50) 細胞培養技術を応用して製造される医薬品の承認申請に必要な添付資料の作成について（昭和63年6月6日，薬審1第10号）
- 51) 遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について（薬務局長通知 薬発第1062号，平成7年11月15日）
- 52) 細胞治療の安全性評価に関する研究（早川堯夫：平成8年度厚生科学研究報告）
- 53) 早川堯夫：日局生物薬品の品質・安全性確保に関する研究 ウィルス安全性確保の基本要件 医薬品研究 **30**, 602-617 (1999)
- 54) Morimoto, K., Tsuda, E., Said, A.A., Uchida, E., Hatakeyama, S., Ueda, M., Hayakawa, T.: *Glycoconjugate, J.*, **13**, 1013-1020 (1996)
- 55) 早川堯夫，真弓忠範，黒澤努，豊島聰，山口照英，川西徹：トランスジェニック動物由来医薬品の品質・安全性確保に関する基礎的検討 医薬品研究 **32**, 223-246 (2001)

生活環境中のアレルギー原因物質について - 食品を中心に

手島玲子

Hypersensitivity about Environmental Chemicals
-Mainly about Food Allergy-

Reiko Teshima*

The hypersensitivity of environmental chemicals and natural products has been reviewed. Among environmental chemicals, small molecular weight molecules work as hapten and cause immediate-type and delayed-type hypersensitivity. Among natural products, relatively lower molecular weight protein or glycoprotein (MW 10,000 - 70,000kDa) work as allergen and cause mainly immediate-type hypersensitivity. In recent years, amino acid sequence of important natural allergens have been determined, and three-dimensional structure and IgE epitopes of some of these allergens have also been determined. The characteristics of both inhalation and food allergens have been summarized. As for food allergens, the stability of these proteins in simulated gastric fluid(SGF) was one of most important characteristics. In the last parts, the approach to the assessment of allergenic potential of genetically modified foods has been summarized.

Keywords:hypersensitivity, food allergy, IgE, genetically-modified food, environmental chemicals.

1. はじめに

アレルギーは、免疫反応に基づく全身性、あるいは局所性の生体にとって有害に作用する反応である。世の中に存在する物質で、アレルギーの起因物質となりえるものは、おそらく莫大な数にのぼるものと思われる。生活環境中のアレルギー原因物質としては、化学薬品等の低分子物質と主に高分子よりなる天然由来のアレルゲンがある。本稿では、環境中の低分子物質並びに天然由来のアレルゲンについて概観した後、食物由来のアレルギー原因物質について紹介し、最近開発されてきた遺伝子組換え食品のアレルゲン性試験についても紹介を行う。

2. 化学薬品等の低分子物質とアレルギー反応

化学物質のアレルギー反応への関与は、表1に示すように、3つに分類して考えることができる¹⁾。第一に化学物質そのものが抗原性を持つ場合がある。これら低分子化合物は、単独では免疫原性を持たず、キャリアタンパク質との結合により免疫反応を惹起すると考えられている。その機序としては2つが想定されている。すなわち、①ハプテン-キャリアの形成、②新たな抗原決定基(new antigenic determinant=neo-antigen)の生成である²⁾。タンパク質との

結合能を有する低分子化合物でも、IgE抗体産生を伴う即時型アレルギーを惹起する場合と、感作リンパ球による遅延型アレルギーを主に惹起する場合がある。即時型を誘発するか、遅延型を誘発するかは、化合物とタンパク質の複合体が活性化するTリンパ球の種類に依存すると思われる。

即時型アレルギー反応を惹起する化合物としては、工業製品に使われており職業性喘息の原因とされているイソシアネート類および無水酸(acid anhydride)、ならびに医薬品であるペニシリンGなどがよく知られている。Toluene diisocyanate(TDI)³⁾はポリウレタンなどの原料として用いられており、TDIそのもの、これを用いたポリマーの製造に従事する人、あるいはポリウレタン製品を取り扱う人にアレルギー疾患を起こすことがよく知られている⁴⁾。TDI感作を受けた人の血液中の特異的IgE抗体を調べてみると、陽性率は十数%程度になるといわれている。エポキシ樹脂のactivatorであるtrimellitic anhydride(TMA)^{5,6)}なども強力なアレルゲンであることが知られている。この物質に対して感受性のヒトの血清中にはTMAに特異的IgE抗体が存在する例が報告されている⁵⁾。ペニシリンGによるアレルギー反応は、分解産物のD-benzylpenicillenic acid(BPE)とタンパク質との結合が報告されている⁷⁾。

次に、遅延型アレルギー反応を惹起する典型的な例について紹介する。遅延型アレルギー反応の典型的な症状は、接触皮膚炎であるが、皮膚炎を起こす物質としては、dinitrochlorobenzene(DNCB)、oxazolone、ゴム加硫促進剤として用いられているメルカプトベンゾチアゾール系化合物、さらに

*To whom correspondence should be addressed: Reiko Teshima; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo, 158-8501, Japan; Tel:03-3700-9437 FAX:03-3707-6950
E-mail address:rteshima@nihs.go.jp

表 1 化学物質によるアレルギー反応

(1)化学物質そのものが抗原性を持つ場合
(a)即時型アレルギー反応を惹起するもの(抗体の産生のみられるもの)
Trimellitic anhydride(TMA), Toluenediisocyanate(TDI), Penicillin G(PCG)他
(b)遅延型アレルギー反応を惹起するもの(感作リンパ球との間の免疫反応)
Dinitrochlorobenzene(DNCB), Oxazolone, 2-mercaptobenzothiazole, Cr, Ni 他
(2)偽アレルギー反応を惹起する場合
(初期反応が、即時型アレルギー反応に類似しているもの)
アスピリン、ポリミキシンB, ヨード造影剤, Vanadium compounds等
(3)アレルギー反応を促進する場合
Diesel engine particle (DEP), オゾン

老化防止剤として用いられるフェニレンジアミン系化合物(特に, N-isopropyl-N'-phenyl-p-phenylene diamine)による接触皮膚炎がよく知られている⁹⁾. 金属製品ではニッケル, コバルト, ときには金による接触皮膚炎が起こることが報告されている⁹⁾.

第二に初期反応が、即時型アレルギー反応に類似している, いわゆる偽アレルギー反応を起こす例について記述する. 表 1 にも示しているが, 偽アレルギー反応で最もよく知られているのは, 医薬品のアスピリンで, 特異抗体の産生がないにもかかわらず, 喘息症状を引き起こすが, これはアラキドン酸代謝系変調を引き起こすことによるものと考えられている¹⁰⁾. また, 同じく医薬品のポリミキシンB, およびヨード造影剤では, アナフィラキシー様反応を誘導する例が知られているが¹¹⁾, これは, 肥満細胞からのヒスタミン遊離を促すためと考えられている. 食品添加物の tartrazine も, 感受性を示す人の血液中に特異抗体は証明されないこと, アラキドン酸カスケードに作用するという実験結果も報告されていることより, 偽アレルギー反応によるものと考えられる^{12, 13)}.

表 1 の最後には第三の分類で, アレルギー反応を促進する例として, diesel exhaust particle (DEP), オゾンを示してあるが^{14, 15)}, 最近大気中の SPM (small particle materials (空气中浮遊物質), 直径 10 μ 以下)の中で, 特に PM2.5 (直径 2.5 μ 以下, DEP 等の化学物質が主成分)と健康被害の関係を調べる調査が始まっており, アレルギー発症の低減を図るうえで重要な動きと考えられる. また, 家屋内空気汚染物質のホルムアルデヒドが, 即時型アレルギー反応を促進するとの報告もある¹⁶⁾.

3. 天然由来のアレルゲン

天然由来の植物や動物成分の中にはアレルゲンになるものがあり, 環境中のアレルゲンの大部分を占めており, その大部分は即時型アレルギー反応を誘起する. アレルゲン性疾

患の原因となる花粉, ダニ, 真菌, 食物, 動物の表皮などはいずれも, 極めて多様な成分から構成されている. これらの成分も含めて, われわれの周囲には無数といってよいほどの外来抗原が存在するが, その中でアレルゲンとなるものは限られたもののみである. このことから以前には, アレルゲンは普通の抗原とは異なった特殊な構造をもち, その構造によってアレルゲンとしての機能を発揮するという考えがあったが, 数多くの精製アレルゲンの物理化学的, 免疫化学的性質の解析からも, 最近の cDNA クローニングの結果からも, 他の抗原と明確に区別されるアレルゲンたるべき特殊な構造というものは見い出されていない. しかし, 抗原性を有するすべての物質がアレルゲンとなりうるわけではない. 表 2 に, これまでに精製された食物由来を除く代表的なアレルゲンを示すが¹⁷⁾, これらのアレルゲンには共通した性質が見い出される. これらのアレルゲンはすべてタンパク質, もしくは糖タンパク質であり, 分子量はおよそ 5 千~6 万の間に分布している. このことは, アレルゲンの侵入経路にあたる気道, 消化管の粘膜の透過性と関係があると思われる. 上記分子量より高分子量のタンパク質は粘膜を透過することができず, 免疫担当細胞に到達しえないためにアレルゲンはなりにくく, 逆に, 低分子物質は, そのままの形では十分な免疫原性をもたないため, アレルゲンはなりにくいと考えられる. アレルゲンの IgE 抗体の産生の程度は, 投与経路, 投与量, 適当なアジュバンドの使用に左右されると考えられる. IgE 抗体はアレルゲン分子の高次構造 conformational structure を認識することが多い. アレルゲン分子の高次構造を加熱や酸, アルカリ, あるいは変成剤処理で破壊するか, タンパク質分解酵素で分解するとアレルゲン活性の低下が見られるが, 種々の処理に対する抵抗性は個々のアレルゲン分子によって異なっている.

また, IgE 抗体の結合部位が明らかとなり, アレルゲンとしての三次構造の判明している例を表 3 に示す¹⁸⁾. アレルギーの原因となる物質の中には 1 種類のアレルゲンのみでは

なく、複数のアレルゲンが含まれている場合が多い。これらの多種類のアレルゲンに対してアレルギー患者は一樣に感作されているわけではなく、大多数の患者が感作されている major allergen と、一部の患者が感作されている minor allergen に大別できる。同じものに含まれるアレルゲンでも、あるものは major allergen となり、あるものは minor

allergen となるのは、個々のアレルゲンの免疫原性の強さ、遺伝的に支配されたヒト免疫応答性⁵⁵⁾とともに、個々のアレルゲンの含量、すなわち感作量もその要因として考えられる。通常は最も量の多い成分が major allergen となる。

さて、表 2 に示しているような精製アレルゲンに関しては、1986年に IUIS(International Union of Immunologi-

表 2 代表的な精製アレルゲン

由来	統一名	従来名	分子量	文献
花粉				
ブタクサ	Amb a1	AgE	37,800	18
	Amb a2	AgK	38,000	19
	Amb a3	Ra3	12,100	20
	Amb a4	Ra4	28,000	
	Amb a5	Ra5	5,000	21
	Amb a6	Ra6	11,500	22
イネ科 (ホソムギ)	Lol p1	Group I	27,000	23
	Lol p2	Group II	11,000	24
	Lol p3	Group III	11,000	25
スギ	Cry j1	SBP	40,000	26
カンバ	Bet v1	Ag23	17,000	27
ダニ				
ヤケヒョウヒダニ	Der p1	P1, Dpt12, Dp42, DP1	25,000	28
	Der p2	DpX, DP2	15,000	29
コナヒョウヒダニ	Der f1	Ag11, Df6, DF1, Me2	25,000	30
	Der f2	Me1, DF2, Ag19/20	15,000	31
	Der f3		29,000	32
動物表皮				
ネコ	Fel d1	Cat-1	17,000	33
真菌				
アルテルナリア	Alt a1	Alt-1	31,000	34
アスペルギルス	Asp f1	-	18,000	35
クラドスポリウム	Cla h1	Ag32	13,000	36
昆虫				
ユスリカ	Chi t1	hemoglobin	16,000	37
ミツバチ	Api m1	phospholipase A2	15,800	38
スズメバチ	Ves g5	Ag5	25,000	39

表 3 三次元構造の判明しているアレルゲン

アレルゲン名	由来	生理的機能	折り畳み構造	IgE結合トポ	文献
Parvalbumin	コイの筋肉	カルシウム結合蛋白	α/β	不連続	41, 42
Albumin	ほ乳類	血清蛋白	α	連続及び不連続	43, 44
Bos d2	牛	lipocalin	α/β	不連続	45
Equ c1	馬	lipocalin	α/β	不連続	46
Amb t5	ブタクサ花粉		α/β		47
Bet v1	カバの木花粉	PR蛋白類似体	α/β	不連続	48
Bet v2(profilin)	カバの木花粉	actin-, PIP2結合	α/β	連続及び不連続	49
Arabidopsis profilin	Arabidopsis	actin-, PIP2結合	α/β	連続及び不連続	50
Phl p5	材アガリ草花粉	RNase?	α	連続及び不連続	51
Phl p2	材アガリ草花粉		β	連続及び不連続	52
Der p2	ダニ		β	不連続	53
Der f2	ダニ		β	不連続	54

α:α-helix, β:β-sheet

Immunol.Rev, 179, 119(2001)より抜粋

cal Societies)に設けられた Allergen Nomenclature Sub-Committeeによって統一的なアレルギー命名法が提唱され、現在ではこの命名法がほぼ定着している。この命名法によれば、アレルギーの名前をその由来の学名(属名3文字と種小名1文字、イタリック体で表す)と、精製された順のローマ数字で表す(ただし, major allergen は原則的に I とする)。例えば, スギ *Cryptomeria japonica* の major allergen, SBP は Cry jI となり, ブタクサ *Ambrosia artemisiifolia* の第5番めに精製されたアレルギー Ra5 は Amb aV となり, この命名法の導入により, 従来報告者ごとに異なった名前をつけたことによる混乱が回避されてきている。

4. 食物由来のアレルギー

今まで, 食物以外の主要アレルギーについて述べてきたが, 次に, 本論文の主要なテーマである食物アレルギーについて記述する。食物アレルギーの特徴を表4に⁵⁶⁾, 主なアレルギーを表5⁵⁷⁾に示す。表4に示す食物アレルギーの臨床症状について, 順次説明を加える。

(I) アナフィラキシー: 多くの食物は, 主に消化管(gastro-intestinal(GI) tract)を通して暴露されるため, 患者の多くが消化管の免疫機能の未熟な小児で, 症状も重篤であることが, 他のアレルギー疾患とは相違した特徴である。現在までに, その発生機序として, 消化吸收機能や経口免疫寛容誘導の未熟性や異常が指摘されてきたが, まだ解明されていない点が多い。食物によるアナフィラキシー反応としては, 抗原の再暴露により, 蕁麻疹, 血管浮腫, 気管支収縮, 血圧低

下, 吐き気, 下痢, 嘔吐, 腹部の痙攣等全身性の反応を呈する⁵⁸⁾。これら症状は, 再暴露からほぼ30分以内に引き起こされ, 症状は, 数時間で消える場合と, 8~32時間程度続く場合がある。これらの反応は, 口内粘膜, あるいは, 炎症を起こしている皮膚からの抗原の暴露でも引き起こされることがある。食物アレルギーの即時型反応を示すものとして, ピーナッツ, えび等の甲殻類, ナッツ, 牛乳, 卵があげられるが, 国内で, 厚生科学研究費により食物アレルギー対策検討委員会が, 平成11年度に行った食物アレルギーの即時型反応の実態調査結果では, 卵, 牛乳, 小麦が上位3を占め, ついでそば, えび, ピーナッツが続いており, 従来3大アレルギーの1つであった大豆は順位がさがったとの報告がある。

(II) 口腔アレルギー症候群(OAS): 通常は問題とはならない多種の果物や野菜の摂取で, 口腔に食物アレルギーを起こす症例である⁵⁹⁻⁶⁰⁾。この場合, 患者は, すでに木(樺)や, 雑草, ブタクサの花粉等に感作されていて, アレルギーの交差反応性に基づく症状の誘発現象ではないかと考えられている。多くの場合, ほとんどのアレルギー症状は口腔に限られおり, 唇, 舌, 口腔のはれやかゆみを主な症状としている。これら症状は, 食物との接触から5分以内に起き, 30分以内にほぼ回復する。OASに関与する食物として, ブタクサアレルギー患者に対するメロンやバナナ⁶¹⁾, 樺の木の花粉に感受性の患者に対するりんご, なし, じゃがいも, ヘーゼルナッツ, にんじん, セロリ, キュウイフルーツ, ヤエムグラ感受性患者に対するセロリなどがある。ラテックスアレルギー患者で, バナナ, くり, アボガドやキュウイフルーツに

表4 食物アレルギーの臨床症状

-
- I. アナフィラキシー
 - II. 口腔アレルギー症候群 (Oral Allergy Syndrome)
 - III. 食餌依存性運動誘発アナフィラキシー
(food-dependent exercise-induced anaphylaxis)
 - IV. アトピー性皮膚炎
 - V. 消化管反応
 - A. IgE 依存性の即時型反応
 - B. 食物蛋白依存性の消化管炎症
 - C. 好酸球依存性の腸炎
 - D. Celiac disease (小児脂肪便症、グルテン感受性消化管炎)
 - VI. 呼吸器反応
 - A. 鼻炎
 - B. 喘息
 - VII. 職業性食物アレルギー
 - A. 蕁麻疹/血管浮腫/アナフィラキシー
 - B. 喘息
 - C. 過敏性肺臓炎
-

表 5 代表的な精製食物アレルギー

由来	統一名	従来名	分子量	文献	
動物					
さけ(<i>Sarimo salar</i>)	<i>Sal s1</i>	parvalbumin	12,000		
たら(<i>Gadus callarias</i>)	<i>Gad c1</i>	M(parvalbumin)	12,000	77	
卵白(Chicken egg) (<i>Gallus domestics</i>)	<i>Gal d1</i>	ovomucoid	28,000	78,79	
	<i>Gal d2</i>	ovalbumin	46,000	78,79	
	<i>Gal d3</i>	conalbumin(ovotransferrin)	78,000	78,79	
	<i>Gal d4</i>	lysozyme	14,000	78,79	
	<i>Gal d5</i>	serum albumin	69,000		
ウシ(cattel) (<i>Bos domestics</i>)	<i>Bos d2</i>	lipocalin	20,000	45	
	<i>Bos d4</i>	alpha-lactalbumin	14,200		
	<i>Bos d5</i>	beta-lactalbumin	18,300		
	<i>Bos d6</i>	serum albumin	67,000		
えび(<i>Metapenaeus ensis</i>) (<i>Penaeus aztecus</i>) (<i>Peanaeus indicus</i>)	<i>Met e1</i>	tropomyosin	20,000-30,000	80	
	<i>Pen a1</i>	tropomyosin	32,000	81	
	<i>Pen i1</i>	tropomyosin	36,000	82	
植物			34,000	83	
	りんご(<i>Malus domestica</i>)	<i>Mal d1</i>	profilin, Bet v1 homologue	18,000	
	西洋なし(<i>Pyrus communis</i>)	<i>Pyr c1</i>	Bet v1 homologue	18,000	
	アボガド(<i>Persea americana</i>)	<i>Prs a1</i>	endochitinase	32,000	
	もも(<i>Prunus persica</i>)	<i>Pru p3</i>	lipid transfer protein	10,000	
	キュウイ(<i>Actinidia chinensis</i>)	<i>Act c1</i>	cysteine protease	30,000	
	大豆(soy bean) (<i>Glycine max</i>)	<i>Gly m1</i>	oil-body associated	7,500	84
		<i>Gly m2</i>	oil-body associated	8,000	
		<i>Gly m3</i>	profilin	14,000	
	ピーナッツ(<i>Arachis hypogaea</i>)		glycinins	54,000-64,000	
			β -conglycinin (α -subunit)	70,000	
			β -conglycinin (β -subunit)	51,000	
			Soy lectin	31,000	
			Soy Kunitz trypsin inhibitor	23,000	
		<i>Ara h1</i>	vicilin	63,500	85
		<i>Ara h2</i>	conglutin	17,000	
	<i>Ara h3</i>	glycinin	60,000		
<i>Ara h4</i>	glycinin	37,000			
<i>Ara h5</i>	profilin	15,000			
	agglutinin(lectin)		86		
	arachin		87		
大麦(<i>Hordeum vulgare</i>)	<i>Hor v1</i>	α -amylase/trypsin inhibitor	15,000	88	
ブラジルナッツ(<i>Bertholletia exceisa</i>)	<i>Ber e1</i>	2S albumin	16,000	89	
にんじん(<i>Daucus carota</i>)	<i>Dau c1</i>	Bet v1 homologue	16,000		
セロリ(<i>Apium graveolens</i>)	<i>Api g1</i>	Bet v1 homologue	16,000		
	<i>Api g4</i>	profilin	14,000		
からし(葉)(<i>Brassica juncea</i>)	<i>Bra j1</i>	2S albumin	15,000	90	
からし(白)(<i>Sinapis alba</i>)	<i>Sin a1</i>	amylase inhibitor	14,000		
とうもろこし(<i>Zea mays</i>)	<i>Zea m14</i>	lipid transfer protein	9,000		
米(<i>Oryza sativa</i>)	<i>Ory s1</i>		28,000		
小麦(<i>Triticum aestivum</i>)		α -amylase/trypsin inhibitors	10,000-18000		
		profilin	14,000		
		gliadin (gluten component)			
		α -amylase/trypsin inhibitors			
	agglutinin(lectin)				
そば(buckwheat)		BW24KD	24,000	91	

アレルギーを示す例が報告されている。ラテックスアレルギーとブタクサ等の花粉との間の交差反応性を示すという報告もなされている⁶²⁻⁶³。

(Ⅲ)食餌依存性運動誘発アナフィラキシー(F-EIA):物理的
刺激により誘発されるアレルギー反応の中で運動により血
圧低下,意識障害,呼吸困難などの強い全身症状をおこすも
のを運動誘発性アナフィラキシーと呼んでいる⁶⁴⁻⁶⁶。この中
で,特に,ある特定の食餌摂取後の運動でアナフィラキシー
症状が誘発されることがあり,食餌依存性運動誘発アナフィ
ラキシー(food-dependent exercise-induced anaphylaxis,
F-EIA)と称されている。F-EIAに関与する食物として,セロ
リ,えび,かき,ニワトリ,ももや小麦などが知られている。

(Ⅳ)アトピー性皮膚炎(AD):Double-blind, placebo-con-
trolled food challenge(DBPCFC)試験等により,ADの1/3
以上の子供が,食物に関連した過敏症を持つと報告されてい
る⁶⁷。この場合,ADに付随する浮腫の一部は,IgE依存性の
食物アレルギー症状と考えられている。ADの子供は,少なく
とも1つあるいは2,3の食物(例えば,卵,牛乳,ピー
ナッツ,小麦,大豆等)に感受性があると考えられている。

(Ⅴ)消化管(GI)反応:(A)IgE依存性の即時型反応:GI反応
は,食物アレルギーの最も一般的な臨床症状である。これら
は,かゆみ,浮腫,吐き気,下痢等を伴う⁶⁸。消化管反応の
即時型反応は,IgE依存性であり,遅延型反応は,食物誘発
性消化管炎症を伴うと考えられている。(B)食物蛋白依存性
消化管炎症(Food-induced enterocolitis):Food-induced
enterocolitisは protein intolerance または, milk-sen-
sitive enteropathyともよばれ,小腸,大腸症状を伴う。小
腸は,粘膜の細薄化,絨毛の萎縮,クリプトの過形成,リン
パ球,プラズマ細胞,好酸球の浸潤がみられ,下痢を伴う⁶⁹。
これら症状は,遅延型(数時間から数日後)に引き起こされ
る。牛乳による症状がよく知られているが,魚,大豆,米,
鶏肉でも引き起こされることがある。(C)好酸球依存性腸炎:
好酸球依存性腸炎は,小児でも大人でもみられるが,腸壁の
好酸球の浸潤,血液中の好酸球の増加,並びに腸炎を特徴と
する⁶⁹。腹部の痛み,吐き気,下痢等を伴う。小児では,牛
乳が主なアレルギーとなっており,大人では,複合アレル
ギー症状を呈することが多い。この症状を持つ患者の血液中
総IgE抗体の濃度は高く,喘息や鼻炎を伴う事も多い。(D)
Celiac disease:Celiac diseaseは,グルテン感受性消化
管炎または小児脂肪便症ともよばれ,小児や大人の小麦ある
いはグルテン不耐症である⁷⁰。症状としては,絨毛の短縮ま
たは欠失,クリプトの過形成,粘膜固有層でのリンパ球やプ
ラズマ細胞の浸潤がみられるが,グルテン不含の食事で,こ
の症状は改善する。

(Ⅵ)呼吸器反応:A.鼻炎,B.喘息;食物アレルギーでは,上
気道性の鼻炎や,下気道性の喘息症状は主要な症状ではない
が,食物に対する全身性症状を呈している時に,枯草熱や喘
息様の症状を呈することがある⁷¹。

(Ⅶ)職業性食物アレルギー:(A)蕁麻疹/血管浮腫/アナ
フィラキシー,(B)喘息,(C)過敏性肺臓炎;大人の食物アレル
ギーは,職業上の暴露によっても引き起こされる。職業上
の暴露は,しばしば,吸入または,皮膚からの感作を通して
暴露された個人に対して食物タンパクに対するIgE感作を引
き越こす⁷²⁻⁷³。これらアレルギーの継続的な暴露は,鼻炎,
喘息,結膜炎,蕁麻疹,また,ある場合には,全身性のアナ
フィラキシーを引き起こす。最も重要な職業上で獲得された
食物アレルギーは,職業性の喘息である。大人の獲得性の喘
息のおよそ2~15%が化学物質,毒素または,天然タンパ
ク質の職業的暴露に依存している。例えば,職業性喘息の主
なものに,植物性微細粉塵を扱うパン屋,こんにやく製造
業,コーヒー製造業などがある⁷⁴⁻⁷⁵。職業性喘息は,刺激,
並びにIgE(アレルギー)による機作が考えられる。IgE依存
性の職業アレルギーの明確な例は,小麦の暴露によるパン製
造業者の喘息や粉末状の卵蛋白に暴露されたパン屋従事者
に見られる。過敏性肺臓炎は,食物に対する職業性の反応の
もう一つの症例である。長期にわたるカビ,昆虫,または食
物由来の多くのタンパク質に対する吸入的暴露が,過剰応答
を引き起こし,大量のIgG抗体の産生を導き⁷⁶,さらに継続
的再暴露により,肺への単球の浸潤が引き起こされると考え
られている。

次に,食物アレルギーの化学構造の側面からの話で,表5
の説明に移りたい。表5には,食物アレルギーのうち,精
製された主なアレルギーについて示しているが,これらの特
徴として次の6点があげられる。すなわち,(1)食物アレル
ゲンも,表2で示した他の精製アレルギーと同様,大部分
が分子量1万~7万の比較的低分子のタンパク質,または
糖タンパク質である。(2)卵のオボムコイド,牛乳のカゼイン
など,含有量の多い成分が, major allergen となっている。
(3)食物アレルギーの中には,さけの parvalbumin (Ca²⁺-
binding protein) (Sal s 1),ウシの lipocalin (Bos d2),
エビの tropomyosin (Met e1)などの機能的タンパクも多く含
まれる⁹²。(4)植物由来の食物アレルギーの中には,樺の木由
来の抗原 Bet v1 と類似の構造を持つ profilin が,りんご,
なし,にんじん,セロリ等の多くの食物で同定される。(5)植
物由来の食物アレルギーの中には,ブラジルナッツに含まれ
る 2S アルブミンのように,分子の中に18.8%のメチオニン
を有し,高栄養価の種子特異的蛋白質も存在する⁹³。(6)後述
するが,食物アレルギーの大部分は,熱処理や,消化酵素で
ある蛋白分解酵素に対して抵抗性を有する⁹³。

5. 遺伝子組換え食品のアレルギー性試験

近年,食糧需要増加に伴い,世界的に遺伝子組換え技術
を利用して開発された農作物の実用化が進んでいるが,導入さ
れた組換えタンパク質が,アレルギー誘起性を持つか否かの
検討を行うことは,安全性評価のうえでの重要な判断基準と
なる。最初アレルギー性試験の国際的動向をFAOとWHOの

合同専門者会議での報告⁹⁴⁾を中心に概説し、次いで、我が国のアレルギー性試験について概説する。

(A) FAO/WHO 合同専門者会議の動向

国際的動向としては、2000年よりFAOとWHOの合同専門者会議でアレルギー性試験が議論されているが、まず、2000年6月にスイスジュネーブで行われたFAOとWHOの合同専門者会議での、アレルギー性試験の概要を以下に記す。その基本として、国内の「安全性評価指針」と同様、既知のアレルギーとの一次配列の相同性の比較並びに新規タンパク質の消化性⁹³⁾並びに物理化学的処理に対する安定性の検討をあげている。また、(1)新規タンパク質の植物中での発現の程度並びに発現部位の特定を行うこと、(2)新規タンパク質が特定の機能を有する場合、その機能に対する考察を加えること、たとえば、ブラジルナッツ等に含まれる2Sの高メチオニンアルブミン様の活性⁹⁵⁾や、生体防御蛋白質としての機能を有するか否かの検討⁹⁶⁾、(3)遺伝子改変を小麦等の穀物に対して行う場合、グルテンタンパクに影響を及ぼすか否かの検討、(4)動物モデルの利用の推奨、などが述べられている。食物アレルギータンパク質は、4章でも述べたが、一般に熱や酸でも分解をうけにくく、消化性が悪い性質を持っている。文献93より抜粋した、人工胃液(SGF; Simulated gastric fluid⁹⁷⁾)で分解の受けにくい食物アレルギー(卵、牛乳、大豆、からし、ピーナッツ)の例を表6に示す。安定性に関して、(i)安定性が高く、60分でも安定で、タンパク質断片も観察されないもの(例: β -conglycininの β 鎖, SKTI, Ara h2, Bra j IE, Sin aI) (ii)中程度の安定性があり(30秒以上

60分未満)、さらに安定なタンパク質断片を伴うもの(例: β -conglycininの α 鎖) (iii)タンパク質の安定性はないが、少なくとも8分以上安定なタンパク質断片を伴うもの(例: Gly m1)の3つのパターンがあることを読みとることが出来る。なお、対照として示されている食物共通抗原 Glycolate reductase等は、非常に分解が早く、これらは、アレルギーとしては知られていない。

次に、2001年1月にイタリアローマで行われたFAOとWHOの合同専門者会議⁹⁴⁾では、さらに、遺伝子組み換え食品のアレルギー性を評価する際のフローチャートに関してより詳しい議論がなされた。ここで提案されたアレルギー性の試験法に関するフローチャートを、図1に示す。このフローチャートは、Metcalf D.D.らが、1996年にIFBC/ILSI(the International Food Biotechnology Council and the Allergy and Immunology Institute of the International Life Science Institute)に報告している方法に準拠し⁹⁸⁾、2000年のFAO/WHO専門者会議で提案されたものを改変したものである。導入した遺伝子がアレルギー性を有するとして知られている動植物から得られたもの(Source of Gene (Allergenic))であるかどうかが第一の判断基準となり、次いで、新規産生蛋白質が、既知の食物アレルギーとの類似配列を持つか(Sequence Similarity)が調べられる。上記の2つのどちらかがyesの場合、また、Source of GeneがAllergenicでなくてもSequence Similarityがあると判断された場合は、無条件にアレルギー性がある(likely allergenic) (a)と判断される。Source of GeneがAllergenicであり、Sequence SimilarityがNoの場合、導入遺伝子が由来する動植物にアレルギーを持つ患者血清を用いた固相免疫測定法が実施されることになる(Specific Serum Screen)。これがyesであれば、アレルギー性があるとされ、Noであれば(b)、導入遺伝子が由来する動植物と分類学上の広い意味で相同性を有する動植物に対して高いIgE抗体価を有する患者血清を用いて固相免疫測定法が実施される(Targeted serum screen)。これが陽性の場合アレルギー性があるとされ、Noの場合、人工胃液(ペプシン)に対する安定性及び動物モデルを用いたアレルギー性試験が実施される(C)。両者がNoの場合、アレルギーの可能性はなく、両方がyesの場合、アレルギーとしての可能性が高く、片方がyesの場合、アレルギーとしての可能性は、中程度と判断される。なお、患者を用いた皮膚試験等のin vivo試験については、IRB(Institutional Review Boards)の倫理委員会での許可を要するため、2001年のフローチャートには取り入れられていない。

(B) 我が国の遺伝子組み換え食品のアレルギー性試験

組換えDNA技術などを用いたバイオ食品などの安全性を確保するために、厚生省では平成3年12月に「バイオテクノロジー応用食品・食品添加物の安全性確保のための基本方針」、「組換えDNA技術応用食品・食品添加物の製造指針」及び「組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指

表6 アレルギーと人工胃液(SGF)中での安定性

Protein	Stability (min)	
	Whole Protein	Fragments
Egg allergens		
Ovalbumin	60	—
Phosvitin	60	—
Ovomucoid	8	—
Conalbumin	0	15
Milk allergens		
β -lactoglobulin	60	—
Casein	2	15
BSA	0.5	15
Soybean allergens		
β -conglycinin (β -subunit)	60	—
SKTI	60	—
Soy lectin	15	—
β -conglycinin (α -subunit)	2	60
Gly m 1	0.5	8
Mustard allergens		
Sin a 1	60	—
Bra j IE	60	—
Peanut allergens		
Ara h2	60	—
Peanut lectin	8	—
Common plant proteins		
Glycolate reductase (spinach leaf)	0.25 (15 sec)	—
Rubisco LSU (spinach leaf)	0 (<15 sec)	—
Rubisco SSU (spinach leaf)	0 (<15 sec)	—
Lipoxygenase (soybean seed)	0 (<15 sec)	—
PEP carboxylase (corn kernel)	0 (<15 sec)	—
Sucrose synthetase (wheat kernel)	0 (<15 sec)	—
β -amylase (barley kernel)	0 (<15 sec)	—
Acid phosphatase (potato tuber)	0 (<15 sec)	—
Phosphofructokinase (potato tuber)	0 (<15 sec)	—

針」を策定した。

基本指針では、バイオテクノロジーの技術そのものが危険であることを示す科学的根拠はないが、バイオテクノロジーが高度先端技術であることから有害不純物の混入防止などの観点から、この技術により製造される食品・食品添加物の安全性の一層の確保を図ることにしている。製造指針では、組換えDNA技術応用食品・食品添加物の製造段階において遵守しなければならない項目を定めている。また安全性評価指針では、組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価に必要な項目を定めている。両指針の対象は、組換えDNA技術を応用して製造された食品のうち、組換え体そのものを摂取することのない食品・食品添加物で生産物が既知のものと同ーまたは同一とみなし得るものに限っており、平成4年4月よりガイドラインとして適用されている。実際に平成6年には、組換え微生物により生産された酵素キモシン(チーズの凝乳酵素)の安全性が食品衛生調査会で確認され、輸入・販売が開始された。

しかし、この指針は組換え体を食する場合には適用できないことから、組換え体を食する場合の安全性指針として、平成8年2月に生活衛生局長通知により、組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針が改正された。この指針では、組換えDNAにより付加された目的とする性質のみではなく、組換えDNA技術により発生する可能性のあるその他の影響についても評価することになっている。本改正指針は、既存のものと同等とみなし得る生産物を、食品・食品添加物として利用する場合に適用し、組換え体そのものを食する生産物では、組換え体が種子植物の場合に適用する⁹⁹⁾。

本指針の中で、挿入遺伝子がアレルギーを誘発する可能性を評価するためには、次に示す6項目の資料が要求されている。具体的には(1)供与体の生物の食経験に関する資料 (2) 遺伝子産物(通常はタンパク質)がアレルゲン(アレルギーを引き起こす原因物質)として知られているかに関する資料 (3)アレルゲンタンパク質は熱や酸でも変性を受けにくく、消化性が悪いといった性質を持っていることに基づく、遺伝子産物の物理化学的処理(人工胃液、人工腸液、及び加熱処理)に対する感受性に関する資料 (4)遺伝子産物の摂取量を有意に変えるかに関する資料 (5)遺伝子産物と既知の食物アレルゲン(これまでに約220種類ある)との構造相同性に関する資料 (6)遺伝子産物が一日タンパク摂取量の有意な量を占めるかに関する資料の6項目であるが、(1)~(6)の項目により安全性が確認されない場合は、患者IgE抗体との結合能に関する資料が新たに要求される。なお、遺伝子組換え食品・食品添加物の安全性確認は、これまで厚生省は安全性評価指針に基づく安全性確認の申請を義務化に準じた扱いとしてきたが、平成13年4月からは、安全性審査が法的に義務化された。平成12年5月1日に、「食品添加物等の規格基準」の改正(厚生省告示)がなされ、従来の「安全性評価指針」の内容を基本的に変えない形の「組換えDNA技

術応用食品及び添加物の安全性基準」が設定され¹⁰⁰⁾、平成13年4月から施行されたが、この「安全性審査基準」においても、アレルギー誘発性に関する安全性評価に必要な資料の(1)~(6)の項目については、従来の「安全性評価指針」の時と変わらないが、試験法に関してより詳しい説明がなされている。また、(1)~(6)の項目により安全性が確認されない場合に用いる食物アレルギー患者血清は、従来の卵、牛乳、大豆、米、小麦、そばに対するものに加え、たら、えび、ピーナッツに対するアレルギー患者血清が新たに加わっている。

厚生省がこれまでに安全性審査をすませた食品は35種、食品添加物は7種であるが、遺伝子組換え農作物の作出に用いられた遺伝子は、これまでのところ比較的种类が限られている。

除草剤耐性農作物はこれまでに28品種の安全性審査が終了しているが、用いられている除草剤としては今のところグルホシネート、グルホサート及びプロモキシニルの3農薬のみである。これらの組換え体の作出に用いられている遺伝子としては植物体内でグルタミン合成酵素阻害剤であるグルホシネートをアセチル化して失活させるアセチルトランスフェラーゼ(PAT)遺伝子(bar)、シキミ酸経路に属する芳香族アミノ酸合成に関与し、グリホサートの標的酵素であるEPSPS機能を持つが、グリホサート耐性であるためグリホサートの阻害を受けないCP4-EPSPS及びmEPSPS及びプロモキシニルを分解するBXN遺伝子である(表7)。

害虫抵抗性農作物は9品種の安全性が確認されているが、これらの組換え体の作出に用いられている遺伝子は、微生物農薬として用いられているBacillus thuringiensis菌の産生するトキシン遺伝子(Cry1Ab, Cry1Ac, Cry3A)である。Cry1の遺伝子産物は鱗翅目の昆虫に、Cry3A遺伝子産物は鞘翅目の昆虫に有効で、幼虫の消化管内の特異的受容体に結合し、陽イオン選択的小孔を形成することにより消化機能が阻害され、幼虫が死に至るとされている。

そのほかF1の優れた性質を利用するためF1植物の作出に用いるため優性不捨遺伝子(barnaseと呼ばれるRNase)及び捨性回復遺伝子(barstar:barnase inhibitorをコードする遺伝子)も用いられている。また、アンチセンスDNAやウイルス遺伝子の発現を抑制するためのウイルスのコートタンパクの遺伝子も用いられている。

一方、遺伝子導入された細胞の選択のために、選択マーカー遺伝子として、抗生物質耐性遺伝子(npt II)や上記の除草剤耐性遺伝子(bar等)も用いられている。現在までに用いられている遺伝子の種類はそれほど多くなく、同じ遺伝子がいろいろの農作物の形質転換に用いられているのが現状である。これら新規導入蛋白質は、いずれも、人工胃液(SGF)による分解性の早いことが報告されている^{98, 101-102)}。

6. おわりに

以上、生活環境中のアレルギー原因物質の中で、吸入並び

表 7 遺伝子組換え技術により作物に導入されている主な蛋白質

導入蛋白質*	遺伝子組換え作物	商 品 名
<i>B. t. t.</i> 害虫毒素 (Cry3A)	ジャガイモ	ニューリーフジャガイモ
<i>B. t. k.</i> HD-1 害虫毒素 (Cry1Ab)	トウモロコシ	Bt11, Event176, Mon810, DBT418
<i>B. t. k.</i> HD-73 害虫毒素 (Cry1Ac)	ワタ	インガードワタ
CP4-EPSPS (除草剤グリホサート耐性)	ダイズ, ワタ, トウモロコシ, ナタネ	ラウンドアップレディダイズ, ワタ, トウモロコシ, カノーラ
PAT (除草剤グルコシネート耐性)	トウモロコシ, ナタネ, テンサイ	トウモロコシ (T-25など), ナタネ (HCN92など), テンサイ (T120-7)
ニトラーゼ (BXN) (除草剤プロモキシル耐性)	ワタ	BXN cotton

**B. t. t.* (*Bacillus thuringiensis* subsp. *terebrionis*), *B. t. k.* (*Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*), CP4-EPSPS (5-enolpyruvyl-shikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. Strain CP4)

に経口摂取での感作の主体となるタンパク性のアレルギーンについて、その化学構造も含めて主に説明を行った。ここ10年の間に分子生物学の発展に伴って、タンパク性のアレルギーンの精製が進み、IgE抗体との結合部位(抗原決定基)の解析も進みつつあり、アレルギーンデータベースは、アミノ酸配列を記述した一次配列のみならず、抗原決定基(エピトープ)も記述した、いわゆる3次元構造に立脚したデータベースも蓄積されてゆくものと思われる。このような研究は、アレルギーンの改変等による食物アレルギーの治療につながる重要な研究であると同時に、新規タンパク質のアレルギー性を予測すること、また、既知アレルギーンとの交差反応性を考える上でも重要な研究であると思われる。

次に、本稿では、食物アレルギーの臨床症状の特徴についても述べたが、食物アレルギー発症にいたるには、環境要因、暴露の方法、遺伝的要因並びに免疫状況の4要素が、複雑に関連しあっているものと考えられ¹⁰³⁾、これらのすべての要因を加味してアレルギー発症を考慮していく必要があると思われる(図2)。

さらに、本稿では、最近開発されてきた遺伝子組換え食品のアレルギー性試験についても紹介を行ったが、遺伝子組換え食品のアレルギー性試験は、今後ともコーデクス(CODEX)委員会バイオテクノロジー応用食品特別部会でも議論が続けられる予定で、新規産生蛋白質のin vitroでの分解性の検討に加え、動物実験の導入、ヒト血清を用いた研究の進め方についても今後さらに検討が加えられてゆくと思われる。特に、動物実験に関しては、5章でも述べたように、2001年のFAO/WHOの専門者会議のアレルギーン試験のフローチャートの中にも組み入れられてきていることから考えて、動物実験によるアレルギー性の予測を行う研究は、ヒトにおける

図 1 FAO/WHO 2001 Decision Tree

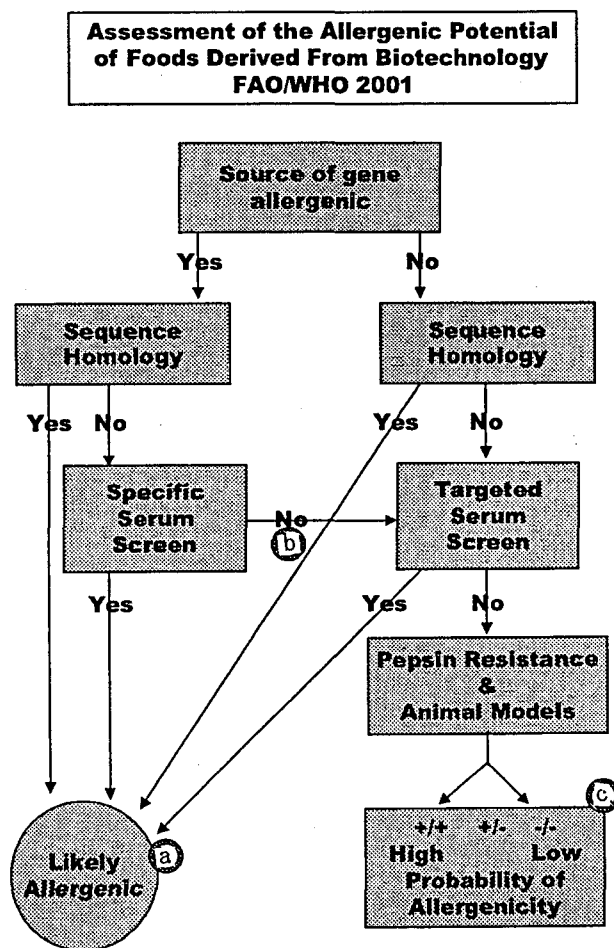
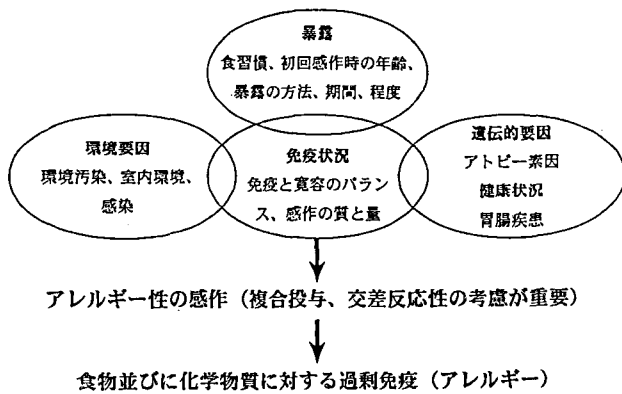


図2 アレルギー発症に至る要因



Toxicol. Lett. 120, 165 (2001). より抜粋

IgE依存性の食物アレルギーのすべての局面を反映することはできないが、重要な研究課題になると思われる。食物アレルギーの研究のための動物モデルとしては、経口感作に伴う免疫を成立させるため、寛容の少ない動物を用いる必要があるが、私共の研究グループも含め、ラットではBNラットを用いた研究が¹⁰⁴⁻¹⁰⁶⁾、マウスでは、BALB/cマウス¹⁰⁷⁾やW/Wマウス¹⁰⁸⁾を用いた研究が最近押し進められてきている。投与量、感作方法の検討、感度のよいバイオマーカーの探索などが、これからも諸外国も含め進められてゆくものと思われ、今後ともこれらの研究の進展が望まれる。

7. 謝辞

ここで紹介した内容のうち、食物アレルゲンに関する動物実験、また、遺伝子組み換え食品に関する動物実験は、国立医薬品食品衛生研究所機能生化学部並びに食品部で行っているものであり、澤田純一郎長、豊田正武部長をはじめ、多くの共同研究者の方々に深謝致します。

文 献

- 1) Teshima, R.: *The lung perspectives*, 6, 369-373 (1998)
- 2) Coleman, J.W., and Blanca, M.: *Immunol. Today*, 19, 196-198 (1998)
- 3) Berenstein, I.L.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, 60, 24-31 (1982)
- 4) Karol, M.H., Ioset, H.H., Riley, E.J. and Alarie, Y.C.: *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 39, 546-556 (1978)
- 5) Zeiss, C.R., Wolkonsky, P., Pruzansky, J.J. and Patterson, R.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, 70, 15-18 (1982)
- 6) Botham, P.A., Rattray, N.J., Woodcock, D.R., Walsh, S.T. and Hext, P.M.: *Toxicol. Lett.*, 47, 25-39 (1989)
- 7) Ueno, H., Nishikawa, M., Suzuki, S. and Muranaka, M.: *Mol. Immunol.*, 21, 37-42 (1984)
- 8) Momma, J., Kitajima, S. and Inoue, T.: *Toxicology*, 126, 75-82 (1998)
- 9) Kanerva, L., Rantanen, T., Aalto-Korte, K., Estlander, T., Hannuksela, M., Harvima, R.J., Hasan, T., Horsman-Heimo, M., Jolanki, R., Kalimo, K., Lahti, A., Lammin-Tausta, K., Lauerma, A., Niinimäki, A., Turjanmaa, K. and Vuorela, A.M.: *Am. J. Contact Dermat.*, 12, 83-87 (2001)
- 10) Weltman, J.K., Szaro, R.P. and Settignano, G.A.: *Allergy*, 34, 273-281 (1978)
- 11) Lagnoff, D. and Martin, T.W.: *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 23, 331-351 (1983)
- 12) Terao T.: *Toxicology forum*, 9, 590-600 (1986)
- 13) Brington, W.D. and Weitman, J.K.: *Allergy*, 34, 273-281 (1978)
- 14) Kobayashi, T.: *Allergology*, 1, 238-246 (1996)
- 15) Diaz-Sanchez D., Penichet-Garcia, M. and Saxon, A.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, 106, 1140-1146 (2000)
- 16) Tarkowski, M. and Gorski, P.: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 106, 422-424 (1995)
- 17) Lowenstein, H.: *Allergy (suppl 3)*, 40, 10-12 (1985)
- 18) Griffith, I.J., Pollock, J., Klapper, D.G., Rogers, B.L. and Nault, A.K.: *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.*, 96, 296-304 (1991)
- 19) Roges, B.L., Morgenstern, J.P., Griffith, I.J., Yu, X.B., Counsel, C.M., Brauer, A.W., King, T.P., Garman, R.D. and Kuo, M.G.: *J. Immunol.*, 147, 2547-2552 (1991)
- 20) Klapper, D.G., Goodfriend, L. and Capra, J.D.: *Biochemistry*, 19, 5729-5734 (1980)
- 21) Ghosh, B., Perry, M.P., Rafnar, T. and Marsh, D.G.: *J. Immunol.*, 150, 5391-5399 (1993)
- 22) Lubahn, B. and Klapper, D.G.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, 91, 338 (1993)
- 23) Perez, M., Ishioka, G.Y., Walker, L.E. and Chesnut, R.W.: *J. Biol. Chem.*, 265, 16210-16215 (1990)
- 24) Ansari, A.A., Shenbagamurthi, P. and Marsh, D.G.:

- J.Biol.Chem.*, **264**, 11181-11185 (1989)
- 25) Ansari, A.A., Shenbagamurthi, P. and Marsh, D.G.: *Biochemistry*, **28**, 8665-8670 (1989)
- 26) Taniai, M., Ando, S., Usui, M., Kurimoto, M., Sakaguchi, M., Inoue, S. and Matuhasi, T.: *FEBS Lett.*, **239**, 329-332 (1988)
- 27) Breiteneder, H., Pettenburger-T., Bito, A., Valenta, R., Kraft, D., Rumpold, H., Scheiner, O., Breitenbach, M.: *EMBO J.*, **8**, 1935-1938 (1989)
- 28) Chua, K.Y., Stewart, G.A. and Thomas, W.R.: *J.Exp.Med.*, **167**, 175-182 (1988)
- 29) Chua, K.Y., Doyle, C.R., Simpson, R.J., Turner, K.J., Stewart, G.A. and Thomas, W.R.: *Int.Arch. Allergy Appl.Immunol.*, **91**, 118-123 (1990)
- 30) Dilworth, R.J., Chua, K.Y. and Thomas, W.R.: *Clin. Exp. Allergy*, **21**, 25-32 (1991)
- 31) Nishiyama, C., Yunki, T., Takai, T., Okumura, Y. and Okudaira, H.: *Int.Arch. Allergy Immunol.*, **101**, 159-166 (1993)
- 32) Smith, W.A. and Thomas, W.R.: *Int.Arch.Allergy Immunol.*, **109**, 133-140 (1996)
- 33) Morgenstern, J.P., Griffith, I.J., Brauer, A.W., Rogers, B.L., Bond, J.F., Chapman, M.D. and Kuo, M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 9690-9694 (1991)
- 34) Barnes, C.S., Pacheco, F., Landuyt, J., Rosenthal, D., Hu, F. and Portnoy, J.: *Adv.Exp.Med.Biol.*, **409**, 197-203 (1996)
- 35) Arruda, L.K., Plattts-Mills, T.A.E., Fox, J.W. and Chapman, M.D.: *J.Exp.Med.*, **172**, 1521-1532 (1990)
- 36) Aukrust, L. and Borch, S.M.: *Int.Arch.Allergy Appl. Immunol.*, **60**, 68-79 (1979)
- 37) Mazur, G., Baur, X. and Liebers, V.: *Monog.Allergy*, **28**, 121-137 (1990)
- 38) Kuchler, K., Gmachl, M., Sippel, J. and Kreil, G.: *Eur. J. Biochem.*, **184**, 249-254 (1989)
- 39) Hoffman, D.R.: *J.Allergy Clin.Immunol.*, **92**, 707-716 (1993)
- 40) Valenta, R. and Kraft, D.: *Immunol.Reviews*, **179**, 119-127 (2001)
- 41) Kumar, V.D., Lee, L., and Edwards, B.F.: *Biochemistry*, **29**, 1404-1412 (1990)
- 42) Bugajska-Schretter A., Grote, M., Vangelista, L., Valent, P., Sperr, W.R., Rumpold, H., Pastore, A., Reichelt, R., Valenta, R. and Spitzauer, S.: *Gut*, **46**, 661-669 (2000)
- 43) Pandjaitan, B., Swoboda, I., Brandejsky-Pichler F., Rumpold, H., Valenta, R. and Spitzauer, S.: *J.Allergy Clin.Immunol.*, **105**, 279-285 (2000)
- 44) Curry, S., Mandelknow, H., Brick, P. and Franks, N.: *Nat. Struct.Biol.*, **5**, 827-835 (1998)
- 45) Rouvinen, J., Rautiainen, J., Virtanen, T., Zeiler, T., Kauppinen, J., Taivainen, A. and Mantjarvi, R.: *J.Biol.Chem.*, **274**, 2337-2343 (1999)
- 46) Lascombe, M.B., Gregoire, C., Poncet, P., Tavares, G.A., Rosinski-Chupin, I., Rabillon, J., Goubran-Botros, H., Mazie, J.C., David, B. and Alzari, P.M.: *J.Biol.Chem.*, **275**, 21572-21577 (2000)
- 47) Metzler, W.J., Valentine, K., Roebber, M., Friedrichs, M.S., Marsh, D.G. and Mueller, L.: *Biochemistry*, **31**, 5117-5127 (1992)
- 48) Gajhede, M., Osmark, P., Poulsen, F.M., Ipsen, H., Larsen, J.N., Joost-van-Neerven, R.J., Schou, C., Lowenstein, H. and Spangfort, M.D.: *Nat.Struct.Biol.*, **3**, 1040-1045 (1996)
- 49) Fedorov, A.A., Ball, T., Mahoney, N.M., Valenta, R., and Almo, S.C.: *Structure*, **5**, 33-45 (1997)
- 50) Thorn, K.S., Christensen, H.E., Shigeta, R., Huddler, D., Shalaby, L., Lindberg, U., Chua, N.H. and Schutt, C.E.: *Structure*, **5**, 19-32 (1997)
- 51) Bufe, A., Betzel, C., Schramm, G., Petersen, A., Becker, W.M., Schlaak, M., Perbandt, M., Dauter, Z. and Weber, W.: *J.Biol.Chem.*, **271**, 27193-27196 (1996)
- 52) De Marino S., Morelli, M.A., Fraternali, F., Tamborini, E., Musco, G., Vrtala, S., Dolecek, C., Arosio, P., Valenta, R. and Pastore, A.: *Structure Fold Des.*, **7**, 943-952 (1999)
- 53) Mueller, G.A., Benjamij, D.C. and Rule, G.S.: *Biochemistry*, **37**, 12707-12714 (1998)
- 54) Ichikawa, S., Hatanaka, H., Yuuki, T., Iwamoto, N., Kojima, S., Nishiyama, C., Ogura, K., Okumura, Y. and Inagaki, F.: *J.Biol.Chem.*, **273**, 356-360 (1998)
- 55) Sone, T.: *Mol.Med.*, **34**, 1522-1530 (1997)
- 56) Anderson, J.A.: *Crit. Rev. Food Sci.Nutr.*, **36(S)**: S19-S38 (1996)
- 57) Gedel, S.M.: *Adv.Food Nutr.Res.*, **42**, 63-92 (1998)
- 58) Yunginger, J.W., Sweeney, K., Sturmer, W.Q., Giannandrea, L.A., Teigland, J.D., Bray, M., Benson, P.A., York, J.A., Biedrzycki, L., Squillace, D.L. et al.: *JAMA*, **260**, 1450-1452 (1988)
- 59) Enberg, R.N.: *Immunol.Allergy Clin.N.Am.*, **11**, 767-776 (1991)
- 60) Gall, H., Kalveram, K.-J., Forck, G. and Sterry, W.: *J.Allergy Clin.Immunol.*, **94**, 70-76 (1994)
- 61) Enberg, R.N., Leickly, F., McCullough, J., Bailey, J. and Ownby, D.R.: *J.Allergy Clin.Immunol.*, **79**, 867-875 (1987)
- 62) Ross, B.D., McCullough, J. and Ownby, D.R.: *J.Allergy Clin.Immunol.*, **90**, 409-410 (1992)
- 63) Moneret-Vartris, D.A., Beaudouin, E., Widmer, S., Mouton, C., Kanny, G., Prestat, F., Kohler, C. and Feldmann, L.: *J.Allergy Clin.Immunol.*, **92**, 668-677 (1993)
- 64) Tokunaga, H., Kokubu, F., Okamoto, M., Miyamoto, M., Hanyuuda, M. and Adachi, M.: *Jap.J.Allergology*, **44**, 1297-

- 1304 (1995)
- 65) Horan, R.F. and Sheffer, A.L.: *Immunol. Allergy Clin. N. Am.*, **11**, 757-767 (1991)
- 66) Kushimoto, H. and Aoki, T.: *Arch. Dermatol.*, **121**, 355-360 (1985)
- 67) Sampson, H.A.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **84**, 1062-1067 (1989)
- 68) Gryboski, J.D.: *Immunol. Allergy Clin. N. Am.*, **11**, 773-777 (1991)
- 69) Mim, K.U. and Metcalfe, D.D.: *Immunol. Allergy Clin. N. Am.*, **11**, 799-805 (1991)
- 70) O'Malory, S. and Ferguson, A.: "Adverse Reactions to Foods and Food Additives" eds by Metcalfe, D.D., Sampson, H.A. and Simon, R.A., Blackwell Scientific, Boston, MA, pp186-207 (1991)
- 71) Bousquet, J. and Michel, F.B.: *Ann. Allergy*, **61**, 70-74 (1988)
- 72) Anderson, J.A.: *Clin. Exp. Allergy*, **21**(Suppl.), 304-315 (1991)
- 73) Cartier, A., Mabod, J., Ghezzi, H., McCants, M. and Lehrer, S.B.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **78**, 344-348 (1986)
- 74) Herxheimer, H.: *Lancet*, **1**, 83-84 (1967)
- 75) Jones, R.N., Hughes, J.M., Lehrer, S.B., Butcher, B.T., Glindmeyer, H.W., Diem, J.E., Hammad, Y.Y., Salvaggio, J. and Weill, H.: *Am. Rev. Respir. Dis.*, **125**, 199-202 (1982)
- 76) O'Neil, C.E. and Lehrer, S.B.: "Adverse Reactions to Foods and Food Additives" eds by Metcalfe, D.D., Sampson, H.A. and Simon, R.A., Blackwell Scientific, Boston, MA, pp207-227 (1991)
- 77) Elsayed, S. and Bennich, H.: *Scand. J. Immunol.*, **3**, 683-686 (1974)
- 78) Hoffman, D.R.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **71**, 481-486 (1983)
- 79) Langeland, T.: *Allergy*, **38**, 493-500 (1983)
- 80) Gjesing, B. and Lowenstein, H.: *Ann. Allergy*, **53**, 602-608 (1984)
- 81) King, T.P., Hoffmann, D., Lowenstein, H., Marsh, D.G., Platts-Mills, T.A. and Thomas, W.: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **105**, 224-233 (1994)
- 82) Daul, C.B., Slattey, M., Morgan, J.E. and Lehrer, S.B.: "Molecular Biology and Immunology of allergen" eds by D. Kraft and A. Schon, CRC press, Boca Raton, pp291-293 (1993)
- 83) Shanti, K.N., Martin, B.M., Nagpal, S., Metcalfe, D.D. and Subba Rao P.V.: *J. Immunol.*, **151**, 5354-5363 (1993)
- 84) Gonzalez, R., Varela, J., Carreira, J. and Polo, F.: *Lancet*, **346**, 48-49 (1995)
- 85) Barnett, D., Baldo, B.A. and Howden, M.E.H.: *Allergy Clin. Immunol.*, **72**, 61-68 (1983)
- 86) Burks-A.W., Shin, D., Cockrell, G., Stanley, J.S., Helm, R.M. and Bannon, G.A.: *Eur. J. Biochem.*, **245**, 334-339 (1997)
- 87) Rabjohn, P., Helm, E.M., Stanley, J.S., West, C.M., Sampson, H.A., Burks A.W. and Bannon, G.A.: *J. Clin. Invest.*, **103**, 535-542 (1999)
- 88) Mena, M., Sanchez-Monge, R., Gomez, L., Salcedo, G. and Carbonero, P.: *Plant Molec. Biol.*, **20**, 451-458 (1992)
- 89) Arshad, S.H., Malmberg, E., Krapf, K. and Hide, D.W.: *Clin. Exp. Allergy*, **21**, 373-376 (1991)
- 90) Monsalve, R.I., Gonzalez de la Pena, M.A., Menendez-Arias, L., Lopez-Otin, M., Villalba, M. and Rodrigues, R.: *Biochem. J.*, **293**, 625-632 (1993)
- 91) Kondo, Y., Urisu, A., Wada, E., Tsuruta, M., Yasaki, T., Yamada, K., Masuda, S. and Morita, Y.: *Jap. J. Allergology*, **42**, 142-148 (1993)
- 92) Bufer, A.: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **117**, 215-219 (1998)
- 93) Astwood J.D., Leach, J.N. and Fuchs, R.L.: *Nature Biotechnol.*, **14**, 1269-1273, (1996)
- 94) WHO: "Evaluation of allergenicity of genetically modified foods" Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on foods derived from biotechnology: 22-25 January (2001) URL <http://www.who.int/GMfood/Consultation.Jan2001/report.pdf>
- 95) Nordlee J.A., Taylor, S.L., Townsend, J.A., Thomas, L.A. and Bush, R.K.: *N. Eng. J. Med.*, **334**, 688-692, (1996)
- 96) Bowles D.J.: *Annu. Rev. Biochem.*, **59**, 873-907, (1990)
- 97) Board of Trustees (ed.): "Simulated Gastric Fluid, TS and Simulated Intestinal Fluid, TS" in The United State Pharmacopodia 23, The National Formulary 18. United States Pharmacopoeial Convention, Inc., Rockville, MD. pp2053 (1995)
- 98) Metcalfe D.D., Astwood J.D., Townsend R., Sampson, H.A., Taylor, S.L. and Fuchs, R.L.: *Crit. Rev. Food Sci. Nut.*, **36**, S165-S186 (1996)
- 99) Toyoda M.: *Food Hyg. Soc., Japan*, **37**:247-259 (1996)
- 100) <http://www.mhlw.go.jp/topics/idenishi/enzen/tuuchi2.html>, <http://www.mhlw.go.jp/topics/idenishi>
- 101) Harrison, L.A., Bailey, M.R., Naylor, M.W., Ream, J.E., Hammond, B.G., Nida, D.L., Burnette, B.L., Nickson, T.E., Mitsky, T.A., Taylor, M.L., Fuchs, R.L. and Padgett, S.R.: *J. Nutr.*, **126**, 728-741 (1996)
- 102) Astwood, J.D., Fuchs, R.L. and Lavrik P.B.: "Food allergy: Adverse Reactions to Foods and Food Additives" eds by Metcalfe, D.D., Sampson, H.A. and Simon, R.A., Blackwell Scientific, Boston, MA, pp65-92 (1997)
- 103) Kimber, I. and Dearmann, R.J.: *Toxicol. Lett.*, **120**, 165-170 (2001)
- 104) Penninks, A.H. and Knippels, L.M.J.: *Toxicol. Lett.*, **120**, 171-180 (2001)

- 105) Akiyama, H. Teshima, R., Sakushima, J., Okunuki, H., Goda, Y., Sawada, J. and Toyoda, M.: *Immunol. Lett.*, **78**, 1-5 (2001)
- 106) Teshima, R., Akiyama, H., Okunuki, H., Sakushima, J., Goda, Y., Onodera, H., Sawada, J. and Toyoda, M.: *Food Hyg. Soc., Japan*, **41**, 188-193 (2000)
- 107) Dearman, R.J., and Kimber, I.: *Toxicol. Lett.*, **120**, 181-186 (2001)
- 108) Okunuki, H., Teshima, R., Sakushima, J., Akiyama, H., Goda, Y., Toyoda, M and Sawada, J.: *Immuno. Lett.*, **74**, 233-237 (2000)

ヒト資料の研究利用に関する政府等ガイドラインの現状

増井 徹*, 林 真, 田辺秀之, 水澤 博

Japanese guidelines on research use of human materials and disease information.

Tohru MASUI*, Makoto HAYASHI, Hideyuki TANABE, Hiroshi MIZUSAWA

Demand on the use of human materials and personal disease information for research and development comes on the stage of action. International competition in biomedical and pharmaceutical research pushed the government and related societies about to release guidelines on the issue to ensure the protection of direct and indirect research participants. To work on human materials and information now requires ethical and scientific review by the research ethical committee and the guidelines set the stage of reviewing process. We should aware of the overall view of situation around and of the guidelines before planning the experiments and analyses on human materials and personal information. In this review we summarized the related guidelines and put comments on them to help researchers to understand the situation.

背景：細胞バンクとしての取り組み

我々は6年前から厚生省細胞バンクとしてヒト資料の研究資源化における倫理問題の検討を行ってきた。1) 研究業務のためにヒト組織の入手が必要であり、また、2) 厚生省細胞バンクという公共性の高い施設としてヒト資料の入手・研究利用に関するケーススタディーをすることによって、日本でのヒト由来研究資源の充実に資することを目的としている¹⁻³⁾。

平成11年末には、「ヒト組織・細胞の取扱いガイドライン」という「手術等で摘出されたヒト組織を用いた研究開発の在り方について」答申(表1, 1.1, 以下黒川報告), 「組織細胞工学技術を用いた医療材料・用具の有効性, 安全性, 品質評価方法に関する研究」中村班報告(表1, 1.2), 各移植用組織バンクの自主ガイドライン(表1, 1.3), および日本組織培養学会倫理問題検討委員会報告⁴⁾しか存在しなかった。ところが、この2年ほどの間に表1に挙げる政府ガイドラインと、それらと深く係わる関連指針が発表された。このような急速な現状の変化に対応した体制を整えることが重要である。

平成10年末に国立医薬品食品衛生研究所の研究倫理審査委員会を立ち上げた時には、細胞バンクからの研究計画申請審査が終われば研究倫理審査委員会への申請は減少すると考えていた。しかし、この2年の間に合計8回の委員会、40件を超える申請が提出されている。この事実は薬学系研究所である当所においてもヒト資料の研究利用が不可欠となり

つつあることを示している。

この数年の変化は目覚しく、医師・研究者の側から見るとヒト資料の利用が社会的認知を受けたような感がある。インフォームド・コンセントや倫理審査が普及をして、ヒト資料の利用に必要な枠組みが整ってきたように思われる。しかし、提供者、患者の立場にたったときに、直接治療(人を助ける)にかかわる以外でのヒト資料の利用には抵抗感があるのが実情であろう。

現在はヒト資料の研究利用が社会的認知を得るために重要な時期であると同時に過渡期である。社会の意識も、また研究者の自己規律体制も混乱しているように見受けられる。例えば新聞に報道された某大学での組織採取・研究利用で見られたような軽率な行動は避けなければならない(平成13年3月28日付朝日新聞)。

本稿は現在策定されているヒト資料を用いた研究指針等について、まとめるとともに、全体での位置付けについて解説を試みる。このような活動を通じて、ヒト資料の研究利用を計画、実施する研究者を支援すると同時に、研究者の意識が高まることによって、長期的視野にたつて社会からの信用を得ることを目標とする。尚、本稿においては、「組織・細胞のようなモノとしての試料」と「病歴情報等の情報」の両方を含む用語として「ヒト資料」を用いる。また、この問題については多くの論文や本が出版されている。我々の検討に直接関わったものを参考に挙げる⁶⁻⁹⁾。

1. ヒトゲノム研究

ヒトゲノム塩基配列を基礎としたゲノム創薬と、幹細胞研究を軸とした再生医学研究の分野で国際競争が激化している。

*To whom correspondence should be addressed: Tohru Masui; 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-9874; Fax: 03-3707-6950; E-mail: masui@nihs.go.jp

このような状況の中で、厚生労働省、文部科学省、経済産業省の三省による「ゲノム・遺伝子解析研究指針」（平成13年3月29日）が策定された（表1,2.3,以下三省ゲノム指針）。この指針と科学技術会議が策定した「ヒトゲノム研究に関する基本原則」（平成12年6月14日）（表1,2.2,以下ゲノム原則）によって、ヒトゲノム・遺伝子研究領域での倫理問題等の整備は一段落したと考えられている。しかし、ゲノム情報を引き出すことの出来るヒトの組織・細胞の研究利用という大枠の問題と、さらに後で論じる患者の病歴情報等を研究に利用する枠組みについては、今後の整備が必要であると考えられる。

2. 国際的状況

2000年10月にエジンバラで採択された世界医師会・ヘルシンキ宣言⁹⁾の冒頭において、「ヒトを対象とする医学研究には個人を特定できるヒト由来の材料及び個人を特定できるデータの研究を含む。」（日本医師会訳、http://www.med.or.jp/wma/helsinki00_j.html）と示されている。このように、従来は人を対象とする医学研究を中心としていたヘルシンキ宣言の冒頭に、ヒト資料の研究利用が明確に加わったことは、国際的にもヒト資料の医学生物学研究利用の重要性が認識されていることを示す。

3. ゲノム研究としての再生医療

ゲノム研究と再生医療は別のものとして取り扱われることが多い。しかし、先に挙げたゲノム塩基配列研究はゲノム研究の一部であり、もう一つの大きな分野に「ヒトゲノムは、人の生命の設計図」（ゲノム原則）と言われる所以を研究する領域がある。後者が本来の意味でのゲノム生物学であるとする研究者もいる。

からだの各部分は同じゲノム配列を持つにもかかわらず、例えば筋肉と骨というようにそれぞれに異なった性質を持つ。もっと端的に言うと「一種類のゲノム配列情報を持つ卵から、同一のゲノム塩基配列を持つが、多様な異なった性質をもつ細胞が形成される。」のである。

このゲノム配列情報が如何にして調整されて、設計図といわれうる機能を持つようになるのかを研究するために、発生学が重要であるとともに、クローン胚研究が重要となる。クローン胚研究が出てくるのは唐突に思われるかも知れないので、以下にその重要性を説明する。

成体では組織の核は受精卵の核と異なり、いろいろな細胞へ分化できる能力を持たない。しかし、特殊な条件においては、ドリーで示されたように、成体の核が全能性を獲得する可能性がある。特殊な組織へ分化する様に制限を受けた核の能力を「初期化」して、全能性を獲得させる機構を研究することは、「体のどの細胞からでも、欲しい細胞を再生させる」ことの出来る夢の再生医療技術として注目されている。これが先に述べた、ゲノム配列の設計図たる所以を研究するゲノ

ム生物学の根幹である。勿論、哺乳類での研究は端緒にすぎたばかりであり、今のところ、どのような戦略がありうるのかを予想することすら困難である。

平成11年11月の「クローン技術による人個体の産生等について」（表1,3.1）ではクローン胚の作成全体が禁止されていた。しかし、平成12年3月の「ヒト胚性幹細胞を中心としたヒト胚研究に関する基本的考え方」（表1,3.2,以下Embryonic Stem Cell（ES細胞）研究指針）でクローン胚の作成は「核の初期化」の研究のために必要であるとされている。このような方針の変更の背景には、「核の初期化」に期待される再生医療分野への期待が込められていると考えられる。

しかし、このような成果を生むためには、倫理的により慎重な検討が求められるヒト胚、生殖物質を含むヒト資料の研究利用が可能とならなければならない。

4. ヒト組織・細胞等の利用に関する枠組み

まず、最も大枠の議論からはじめたい。組織・細胞はそれら自体が研究材料として有用であると共に、核をもち、個人のゲノム情報のソースとなる可能性を持つ。

血液を例にとると、1)新鮮血液から分離された血球等をそのままの形で研究に用いる場合、2)mRNAを抽出して発現研究をする場合、3)DNAを抽出してゲノム解析研究に用いる場合、それぞれの場合で問題となる倫理の状況は異なる。2)と3)については表1,2.1と2.3を根拠にして考えることができる。しかし、現在1)で示したようなヒト組織・細胞を研究へ用いる包括的指針は存在しない。そこで、1)については、表1,1.1とゲノム原則とゲノム研究指針(表1,2.1と2.3)を根拠にして考える必要がある。しかし、現実には組織の採取における原則の検討が不十分であったり、慣例と異なる考え方が必要とされる点など注意が必要である。現状のように包括的ヒト組織・細胞の研究利用指針が存在しないため、採取・保管・研究の現場の混乱を招いている部分もあるように見受けられる。

欧米の場合、ヒト組織・細胞の最大の供給源は移植不適合臓器・組織である。この部分において、日本での体制は整っていない。日本において「臓器」は法令によって決められている。一方、「組織」の範囲については、組織移植医療の現進行状況と共に表2に示した。「組織バンク事業を通じたヒト組織の移植等への利用のあり方について(案)」野本委員会報告(表1,1.4)においては、移植不適合組織の研究・開発利用に関してその必要性を述べているが、国会議員の要望書「脳死状態の者等からの組織の提出の取り扱いについて」(表1,1.5)によって厚生科学審議会での検討が中止されている。一方で、黒川報告において、臓器移植法の見直しに際しては研究・開発利用を検討する必要性のあることが答申されている。このような状況の中で、「臓器の移植に関する法律」(表1,1.7)の見直しが進行している。現在、日

本製薬工業協会の要望書の中に移植不適合臓器の研究・開発利用が挙げられている(平成13年5月18日付け)。しかし、他の薬物動態を研究対象としているドメインからの要望についての情報は無い。多大の努力を払って黒川報告の中に組み入れられた臓器移植法の見直しに関する条項を生かすためにも、関係各位がその必要性を政府に訴えることが重要であると考えられる。いずれにしても、今回の見直しで移植不適合臓器の研究・開発利用が検討されるかどうかは不明である。

このような状況を背景として日本の場合には、手術摘出組織がヒト組織の最大の供給源である。また、わが国において、欧米の心臓死体からの組織・臓器の提供に関する特別法に相当する法律が無いなどの事情もあって、手術摘出組織への期待が高まっている。しかし、咽博士が指摘するように医療を受ける患者という立場と自分の身体の一部である組織を治療の一環として摘出を受けることと、摘出された組織を無償で提供するという状況には本質的相違があり、注意を要する^{9,10)}。組織の提供において問題となる点は、心身の侵襲の程度と提供に際して要求される自発的承諾とそれともなう献身の程度である。その点から考えると、手術を受ける患者という立場と組織を提供する提供者という立場は献身という側面から見ると相反する性質を持つことを理解しなければならない。

先に述べた国会議員の要望書は「本人承諾の原則」が心臓死体からの組織提供にも適応されるのかという重要な論点を提起している。この点に関しては、今回の法律の見直しでどのような議論がなされどのような結論が出されるかが注目される。確かに、ドナーカードには1)脳死状態で提供する、本人承諾の重要性がある臓器と、2)心臓死状態で現状では遺族からの承諾によって提供されている組織が、同じカードの面に記載されている。このような記載は混乱を招くおそれもあるように思われる。しかし、ドナーカードが家族で移植について、或いは、死について話し合う契機となっていることは、重要なことである。例えば、ドナーカードの選択項目に「研究利用」という項目が加えられることによって一般社会の議論を活発にすることができるかも知れない。

5. ヒトゲノム・遺伝子解析研究について

本来はヒト資料の研究利用の一部分であって、4で取り上げたヒト組織・細胞の研究利用の枠組みが議論された後に、その一部として始まるべきゲノム解析研究指針に関しては、先に解説したように国際競争を反映して激しい勢いで整備が進んだ。これで、Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)、ゲノム創薬研究等が軌道に乗ることが期待されている。確かにゲノム塩基配列研究の体制は整った部分がある。今後の問題は、それが社会に受け入れられ、市民の協力を得ることが出来るか否かにかかっている。また、その指針環境の中で信用を得る形で研究者が行動出来るかが重要であると思われ

る。

また、ヒトSNPs研究が進む間に整備しておくべき問題点として、1)研究と診療の問題、2)ヒト肝臓や小腸という薬物動態の評価に欠かすことの出来ない臓器を研究利用できるようにする枠組みの整備、3)日本国内でのゲノム治験について検討と整備、以上の3点が考えられる。

ゲノム・遺伝子研究指針(表1,2,3)は研究のみを規制するものであり、診療と治験は除外されている。診療と研究の区別と連携にまつわる倫理問題は大きな問題であり、本稿の目的からは外れるので扱わない。「遺伝学的検査に関するガイドライン(案)」(表1,2.5,以下8学会指針)と「ヒト遺伝子検査受託に関する倫理指針」(表1,2.6,以下受託遺伝子検査指針)に示すように、関連諸団体が自主ガイドライン及び(案)を示されている。しかし、これらの民間の指針もその策定が妥当な手順を採っているかなど、広く議論される必要がある。

一般的な病気は自然の行っている人体実験と考えることが出来、病気を診断し、治療する診療が人体の研究で重要な位置を占めている。また、先端医療と呼ばれる分野では実験的診療が重要な活動となっている。以上のように診療と研究の線引きは困難である。さらに、診療情報の2次利用が臨床研究や疫学研究において重要である。このような事情を考えると、診療と研究の関係という問題について、社会の納得と支持を得て研究に協力頂ける体制を作るために、地道な議論を積み重ねることが重要である。特に現在注目されている疾病感受性に関与すると考えられるSNPs研究においては、個人の診療情報とSNPs情報の両方が必要であり、場合によっては、追跡調査が必須となる。次の章で扱う個人情報である診療情報とゲノム情報の研究利用は、ゲノム研究指針だけで実施できそうであるが、個人情報保護の考え方がどのようなものになるかにより、研究の位置付けが異なってくることも考えられる。

現在、実現性に期待が持たれているのは薬物代謝酵素における日本人特有のSNPs研究であり、テイラーメイド医療への結実が期待されている。しかし、医療への応用の前にSNPs研究の成果は、1)脳死体からの提供資料(主に肝臓と小腸)を用いた薬物動態研究を通じて評価される必要がある。さらに、2)健常日本人の協力を得て、薬剤代謝酵素等のSNPsが個体レベルでの薬物動態にどのような影響を与えるかを評価するゲノム治験へと発展させることが必要である。この場合に、健常協力者個人の薬物代謝酵素のSNPsを明らかにして治験を実施する必要がある。日本国内での実施の困難さから通常の治験すら、海外に流出しているのが現状である。個人のゲノム情報を利用したゲノム治験へ向けての対応がなされなければ、国民の健康管理に最も有用と考えられる日本人特有のSNPs研究成果を臨床へ応用することは不可能となる。この分野で社会の協力を得られるようにSNPsの研究に係わる研究者・医師・企業関係者は努力を重ねる必要

がある。

6. ES細胞の樹立等に関連するガイドライン等

ES細胞、組織幹細胞を用いた移植治療・再生医療の発展は大きな期待をもって注目されている。日本ではヒト胚の研究利用、特にES細胞の作成等に関しては、ゲノム・遺伝子研究と同じように政府総合科学技術会議で枠組みを作ることが予定されている。体制が整うと不妊症の治療のために採取・作成された余剰胚は本来の目的以外に以下のような利用の可能性が生じる：A) 産婦人科学会が定める不妊治療のための生殖補助医療研究、B) 表1, 3.3の報告書が示す「他の不妊治療患者への提供」、C) それら以外の研究利用（ES細胞作成が含まれる）。しかし、このような利用に関しては、産婦人科学会の会告の変更も必要となる。最近産婦人科学会では、近親者の卵を不妊治療へ用いることに関して否定的結論が出されており、政府の報告と異なった枠組みが設定されている（平成13年2月24日）。学会としての独自のスタンスは社会的に重要と考えられるが、現場の混乱を生むことは避けられない。このような例を見ると、学会のガイドラインと政府ガイドラインの関係についての検討も必要と思われる。

ES細胞の樹立においては、サルの成功例が注目されており、技術的進展は、倫理的対応や一般社会の意識を置き去りにしてしまう危険性も存在する。ヒト胚を用いる研究は生殖補助医療との区別と同時に連携を含めて慎重に議論される必要がある。

7. 個人情報保護とヒト資料の研究利用

先ほども述べたように、ヒトを対象とした研究では、病気の診療自体が重要な研究領域である。そのために、病気の研究として行われるヒト組織・細胞或いはゲノムを利用した研究において、提供者の病歴情報が不可欠な役割を果たす。しかし、このような研究において、果たして個人情報はどのように守られるのだろうか。国会で審議された「個人情報の保護に関する法律（案）」（表1, 4.3）をみると報道、医療、研究、宗教、政治利用等に関して除外規定を設けている。現場においてどの情報が守られるべきであって、どの情報は公開或いは利用可能であるか判断することの困難さが見えてくる。

この法律案と深く関係する「疫学的手法を用いた研究等における個人情報の保護等の在り方に関する専門委員会」（表1, 4.4, 以下疫学研究指針）の検討では、診療と深く関わる臨床研究における個人情報の取扱いについての議論が行われている。診療と研究の関係についての議論、個人診療情報と個人識別情報との問題など多くの積み残された点が関わっている複雑な領域ではあるが、国民の健康を守るためには重要な研究領域であり、社会の理解を得た研究環境を整える必要がある。

海外での状況を見ると、個人情報の管理にはいろいろな立場がありうるということが理解される。アイスランドの場合には個人識別情報の暗号化に関して注意を払って国民健康データベースが構築されているようである¹⁰⁾。しかし、ヨーロッパの国の中には、国民の病歴情報データベースの個人識別に社会保障番号（名前よりも個人識別力があると考えられる）を用いている国もある（表3）。また、移植のための臓器・組織提供に際しての承諾についても、必ずしも本人の承諾原則だけが万能ではなく、拒否の姿勢を生前に示していなければ移植に利用されるという国もある（表4）。このような国際的状況は、それぞれの国の文化、歴史、宗教、状況の違いを反映している。このような、国ごとに見られる対応の幅を考えると、日本がどのような道を選ぶかは個別・独自の問題であり、根本から論じる必要があるようにも考えられる。

おわりに

政府等ガイドラインを並べると多くの指針が一つの状況を規制している状況が明らかとなる。このような混乱を整理するためにも、日進月歩する科学・技術の進歩に対応するためにも、研究者の立場から倫理問題を学び、考え、応用できる形で理解し、議論を続けることが重要である。このような立場から、公的研究資源バンクが研究倫理問題へ係わることは重要であると考えている¹¹⁾。

謝辞

この分野の検討に関して多くの方々のご教示を賜ったことを感謝している。特にこの問題への導入と指導を頂いた松村外志張（ローマン工業）、宇都木伸（東海大学）、唄孝一（北里大学）の諸先生方に感謝申し上げたい。

表 1. ヒト資料の研究資源化に関する政府等ガイドライン
(平成 13 年 5 月現在)

1. ヒト組織・細胞等の利用に関する枠組み

- 1.1. 厚生科学審議会先端医療技術評価部会, ヒト組織を用いた研究開発の在り方に関する専門委員会, 答申「手術等で摘出されたヒト組織を用いた研究開発の在り方について「医薬品の研究開発を中心に」」
担当: 厚生省, 健康政策局研究開発振興課, 平成 10 年 12 月 16 日
http://www1.mhlw.go.jp/shingi/s9812/s1216-2_10.html
- 1.2. 厚生科学研究, 中村晃忠班, 報告書「組織細胞工学技術を用いた医療材料・用具の有効性, 安全性, 品質評価方法に関する研究」, 厚生省医薬安全, 平成 11 年 4 月.
- 1.3. 厚生科学研究, 北川班「臓器移植の社会資源整備に向けての研究」北村惣一郎班「組織移植ネットワークに関する研究」健康医療局エイズ疾病対策課臓器移植対策室, 平成 10 年度.
- 1.4. 厚生科学審議会, 先端医療技術評価部会, 野本亀久雄委員長, ヒト組織の移植等への利用あり方に関する専門委員会, 報告書「組織バンク事業を通じたヒト組織の移植等への利用のあり方について (案)」, 担当: 厚生省, 健康医療局エイズ疾病対策課臓器移植対策室, (報告提出, 審議中止となる. 最終審議: 第 24 回先端医療技術評価部会・平成 12 年 6 月 19 日
議事録: http://www.mhlw.go.jp/search/mhlwj/mhw/shingi/s0006/txt/s0619-1_6.txt
- 1.5. 衆議院議員, 金田誠一, 北村哲男, 海江田万里, 枝野幸男, 山本孝史, 要望書「脳死状態の者等からの組織の提出の取り扱いについて」, 厚生科学会議, 先端医療技術評価部会, 部会長・高久文麿宛, 平成 12 年 4 月 28 日.
- 1.6. 厚生省, 中央薬事審議会・バイオテクノロジー特別部会, 細胞・組織利用医薬品等検討小委員会, 担当: 厚生省, 医薬安全局, 平成 12 年 12 月 1 日,
報告書「細胞・組織利用医薬品等の取扱い及び使用に関する基本的考え方」<http://www.nihs.go.jp/mhw/jouhou/cell/cell-a.pdf>
「ヒト由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」
<http://www.nihs.go.jp/mhw/jouhou/cell/cell-b.pdf>
- 1.7 「臓器の移植に関する法律」平成 12 年 10 月より見直し. 施行: 平成 9 年 10 月 16 日, 施行 3 年を目途として検討.

2. ヒトゲノム・遺伝子解析研究について

- 2.1. 厚生科学審議会, 先端医療評価部会, 「遺伝子解析研究に付随する倫理問題等に対応するための指針」, 担当: 厚生省, 大臣官房厚生科学課, 平成 12 年 4 月 28 日

http://www1.mhlw.go.jp/topics/idensi/tp0530-1_b_6.html#para-b

- 2.2. 科学技術会議生命倫理委員会, 「ヒトゲノム研究に関する基本原則」, 平成 12 年 6 月 14 日, 担当: 科学技術庁, 研究開発局, 生命倫理対策整備室,
http://www.mext.go.jp/a_menu/shinkou/shisaku/gensoku.htm
- 2.3. ヒトゲノム解析研究に関する共通指針検討委員会, 厚生労働省, 文部科学省, 経済産業省, 「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」, 平成 13 年 3 月 29 日, 担当: 厚生労働省大臣官房厚生科学課.
<http://www.mhlw.go.jp/houdou/0103/h0329-3.html>
- 2.4. 財団法人, 平成 11 年度特許工業所有権制度問題調査報告書, 知的財産研究所, 「ゲノム研究成果物の保護のあり方に関する調査研究報告書」平成 12 年 3 月.
- 2.5. 通産省, 化学品審議会, 個人遺伝情報保護部会, 個人遺伝情報が係わる産業活動において留意すべき事項について, 平成 12 年 12 月 4 日.
<http://www.meti.go.jp/policy/bio/kojiniden-houkoku.html>
- 2.6. 「遺伝学的検査に関するガイドライン (案)」
日本人類遺伝学会, 日本産科婦人科学会, 日本遺伝カウンセリング学会, 日本先天異常学会, 日本遺伝子診療学会, 日本先天代謝異常学会, 日本小児遺伝学会, 家族性腫瘍研究会平成 13 年 3 月 27 日
<http://www.medic.kumamoto-u.ac.jp/dept/pediat/jshg/jshg-8guideline.htm>
- 2.7. 「ヒト遺伝子検査受託に関する倫理指針」
社団法人日本衛生検査所協会・遺伝子検査倫理検討委員会, 平成 13 年 4 月 10 日
<http://www.jrcla.or.jp/210410.pdf>

3. ES 細胞等に関連する生殖医療関連ガイドライン等

- 3.1. 科学技術会議生命倫理委員会, 「クローン技術による人個体の産生等について」, 担当: 科学技術庁研究開発局生命倫理対策整備室, 平成 11 年 11 月 17 日.
http://www.mext.go.jp/a_menu/shinkou/shisaku/clorinhi.htm
- 3.2. 科学技術会議生命倫理委員会, ヒト胚研究小委員会, 報告書「ヒト胚性幹細胞を中心としたヒト胚研究に関する基本的考え方」, 担当: 科学技術庁, 研究開発局, 生命倫理対策整備室, 平成 12 年 3 月 6 日.
http://www.mext.go.jp/a_menu/shinkou/shisaku/hitkihon.htm
- 3.3. 厚生科学会議先端医療技術評価部会, 生殖補助医療技術に関する専門委員会, 報告「精子・卵子・胚の提供等による生殖補助医療のあり方についての報告書」担当: 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課, 平成 12 年 12 月 28 日
http://www1.mhlw.go.jp/shingi/s0012/s1228-1_18.html
- 3.4. 国会「ヒトに関するクローン技術等の規制に関する法律」

議案種類：閣法

議案提出回次：第150回臨時国会

参・審議終了年月日／参・審議結果：2000/11/30 / 可決
公布年月日／法律番号：2000/12/6 / 146

施行日：平成13年6月6日

経過：[http://www.shugiin.go.jp/itdb_main.nsf/html/gian/1D48792.htm](http://www.shugiin.go.jp/itdb_main.nsf/html/gian/keika/1D48792.htm)

本文（修あり）

http://www.shugiin.go.jp/itdb_main.nsf/html/gian/honbun/g15005007.htm

- 3.5. 科学技術会議，生命倫理委員会ヒト胚研究小委員会「ヒトES細胞の樹立及び使用に関する指針（案）」
2001年4月16日に総合科学技術会議に諮問，審議中。
担当：文部科学省 研究振興局 ライフサイエンス課，生命倫理・安全対策室
http://www.mext.go.jp/b_menu/public/2001/010402a.pdf

4. 個人情報との関連において

- 4.1. 情報通信技術戦略（IT）本部，個人情報保護法制化専門委員会，「個人情報保護基本法に関する大綱案」（中間整理）平成12年6月2日
http://www.kantei.go.jp/jp/it/privacy/houseika/taikouan/0602_taikouan.html
- 4.2. 情報通信技術（IT）戦略本部，個人情報保護法制化専門委員会，「個人情報保護基本法制に関する大綱」，平成12年10月11日。
http://www.kantei.go.jp/jp/it/privacy/houseika/taikouan/1011_taikou.html
- 4.3. 情報通信技術（IT）戦略本部決定，個人情報保護に関する基本法制の整備について，「政府としては，「個人情報保護基本法制に関する大綱」（個人情報保護法制化専門委員会 平成12年10月11日）を最大限尊重し，次期通常国会への提出を目指し，個人情報保護に関する基本法制の立案作業を進める。」平成12年10月13日
<http://www.kantei.go.jp/jp/it/privacy/houseika/taikouan/kettei.html>
- 4.4. 厚生科学審議会先端医療技術評価部会，「疫学的手法を用いた研究等における個人情報の保護等の在り方に関する専門委員会」，担当，厚生労働省大臣官房厚生科学課（作成中）。
- 4.5. 「疫学研究におけるインフォームド・コンセントに関する研究と倫理ガイドライン策定研究班」，科学研究費補助金，健康科学総合研究事業，玉腰暁子（名古屋大学）ガイドライン平成12年4月10日（Ver.1.0）
<http://www.jichi.ac.jp/usr/publ/ethics/guide.pdf>

表 2. 日本における臓器と組織の区別.

- 法令によって定められた臓器とは
「臓器の移植に関する法律」によって定められた臓器。
「心臓，肺，肝臓，腎臓その他厚生省令で定める内臓及び眼球」
厚生省令によって定められた内臓（平成9年10月8日政311）。
小腸，脾臓
- 日本組織移植医療研究会の資料で扱われている組織。
 - 皮膚
 - 心臓弁
 - 大動脈・抹消血管
 - 骨・靭帯
 - 鼓膜・耳小骨
 - 臍（ラ氏）島
 - 気管・気管支
 - 眼鞏（キョウ）膜・網膜，
 - 肝細胞←新鮮な組織からの単離のみ有効
 7,8,9は構想段階（平成10年度）
厚生科学研究「臓器移植の社会的資源整備に向けての研究」報告書，「屍体からの人体組織採取・保存・利用に関する取扱い基準」，北村惣一郎，平成11年。

表 3. 諸外国の国民健康データベースの状況.

	デンマーク	スウェーデン
名前	L-patientregister	EpC
使用 ID	社会保障番号	社会保障番号
拒否の可能性	No	No
所有権	政府	政府

参考文献 10 より改変。

表 4. 移植用の臓器等採取におけるの合意形態.

生前承諾の必要な国

米国，デンマーク，ギリシャ，ノルウェー，スウェーデン，英国，オランダ，ドイツ

生前承諾が不要な国（生前に提供拒否の意思表示が無ければ提供）

オーストリア，ベルギー，フィンランド，フランス，イタリア，ルーマニア，スペイン

参考文献 12 により引用。

参考文献

- 1) 宇都木伸, 迫田朋子, 恒松由記子, 野本亀久雄, 唄孝一, 増井徹, 松村外志張, ヒト組織・細胞の取扱いと法・倫理, ジュリスト, 1993, 2-35, 2001.
- 2) 増井徹, 祖父尼敏雄, 石井美智子, 今西由紀夫, 安井英明, 高田容子, 林真, 水澤博: 厚生省細胞バンクにおけるヒト組織・細胞取り扱い倫理問題への取り組み, 組織培養研究. 19, 1-15 (2000).
- 3) 増井徹: ヒト組織・細胞取扱いについての倫理, 医学のあゆみ, 197, 1061-1067, 2001.
- 4) 松村外志張, 梅田誠, 佐藤敬喜, 柴沼質子, 田中憲穂, 蓮村哲, 秦宏樹, 平井玲子, 増井徹, 宇都木伸: 非医療分野におけるヒト組織・細胞の取り扱いについて, 組織培養研究 17:117-171, 1998.
- 5) 唄孝一, 宇都木伸, 佐藤雄一郎, ヒト由来物質の医学研究利用に関する問題(上), ジュリスト, 1993, 36-42, 2000.
- 6) 唄孝一, 宇都木伸, 佐藤雄一郎, ヒト由来物質の医学研究利用に関する問題(下), ジュリスト, 1994, 91-99, 2000.
- 7) 松村外志張, 増井徹, 宇都木伸, ヒト細胞・組織の取扱いに関する倫理的諸問題, バイオ医薬品の品質・安全性評価, LIC, 2001. pp.489-504.
- 8) 唄孝一, 真正のインフォームド・コンセントを求めて, 科学と個の発展(第2回HAB協議会学術大会), 3-5, 2000.
- 9) 世界医師会, ヘルシンキ宣言(2000年, エディンバラ改訂), http://www.wma.net/e/policy/17-c_e.html, 2000.
- 10) DeCode Genetics, Healthcare Database in Iceland, 1998.
- 11) 水澤博編著, 細胞バンク・遺伝子バンク, 日本組織培養学会・細胞バンク委員会, 共立出版, 1988.
- 12) 高本眞一, 高原史郎, 庄司真理子, 湯浅光利, 中島淳, 小野稔: 組織移植ネットワークに関する研究報告書, 1998.

N-メチルフェニル-*N'*-メチルフェニル-*p*-フェニレンジアミン (MMPD) 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 *N*-methylphenyl-*N'*-methylphenyl-*p*-phenylenediamine (MMPD) in rats by oral administration

Kazue Sakemi*, Makoto Usami, Hideo Kurebayashi and Yasuo Ohno

Teratogenicity of *N*-methylphenyl-*N'*-methylphenyl-*p*-phenylenediamine (MMPD), a rubber antioxidant, was examined in Wistar rats. MMPD was given to pregnant rats by gavage once a day from day 6 through day 15 of pregnancy at doses of 0, 2, 4 and 8 mg/kg/day. The pregnant rats were sacrificed on day 20 of pregnancy and their fetuses were examined. MMPD was not maternal toxicity at any dose. MMPD did not affect growth or morphological development of fetuses. MMPD caused early embryonic death at 8 mg/kg. It was concluded from these results that the no-observed-adverse-effect level was 2 mg/kg/day for rat fetuses, and 8 mg/kg/day or higher for pregnant rats. The teratogenicity of MMPD was inconclusive due to its embryo-fetal lethality.

Keywords: *N*-methylphenyl-*N'*-methylphenyl-*p*-phenylenediamine, rubber antioxidant, Wistar rat, teratogenicity, developmental toxicity

緒 言

N-メチルフェニル-*N'*-メチルフェニル-*p*-フェニレンジアミン (MMPD) は、ゴムの老化防止に使用されている抗酸化剤である。アミンタイプの抗酸化剤は、ラジカル源と容易に一電子酸化反応を起こし抗酸化作用を示す。MMPDの有害性に対する報告はないが、含有成分である *N,N'*-Di-(*o*-Tolyl)-*p*-phenylenediamine の LDL_0 値は 300mg/kg (マウス, 腹腔内) である。同じアミンタイプの抗酸化剤の発生毒性に関しては、*N*-フェニル-*p*-フェニレンジアミン (PPD) と *N*-イソプロピル-*N'*-フェニル-*p*-フェニレンジアミン (IPPD) についての報告がある。PPD を妊娠 6 ~ 15 日のラットに 50, 100, 200 mg/kg 経口投与した実験では、母体および胎児の体重, 性比, 胎児の内部器官および骨格に異常はなく, 胚・胎児致死作用も認められないことが報告されている¹⁾。また, 孵卵 3 日のニワトリ卵に IPPD を注入した実験では 0.041 μ mol/egg 以上で羽の欠損, 体腔開口, 眼瞼および角膜の欠損等の奇形が観察され, ED_{50} 値は 0.11 μ mol/egg であることが報告されている²⁾。しかしながら, MMPD の発生毒性に関しては報告が見当たらない。そこで本試験では, 妊娠ラットへの経口投与により MMPD の催奇形性について検討した。

材料および方法

1. 被験物質

MMPD は精工化学株式会社より入手した。性状は黒褐色粒状で, 添付資料による純度は 75% 以上であった。融点は 80 °C 以上で, アセトンおよびベンゼンに容易に溶解し, 水には不溶である。CAS No. は, 3081-14-9 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。

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育し, 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 °C, 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. 用量および群構成

用量の設定にあたって, 10, 20 および 40mg/kg/day の 3 用量を用いて, 1 群 2 ~ 4 匹のラットを用いて予備試験を実施した。その結果, 妊娠動物には毒性兆候は認められなかったが, 10mg/kg/day で 64% の胚・胎児が死亡し 20mg/kg/day 以上ではすべての胚・胎児が死亡した。これらの結果を考慮して, 本試験における群構成は, MMPD 投与群として 2, 4 および 8 mg/kg/day の 3 用量を設定し, 対照群を加えて計 4 群

* 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

とした。1群の妊娠動物数は22～26匹とした。

4. 投与方法

ゴマ油に溶解した被験物質を、妊娠6日の体重に基づいて妊娠6～15日の10日間、毎日1回、胃ゾンデを用いて妊娠動物に強制経口投与した。投与量はいずれの用量においても5ml/kgとなるように調製した。対照群にはゴマ油5ml/kgを同様に経口投与した。

5. 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、妊娠子宮重量、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。各腹の約2分の1の生存胎児についてAlizarin red S染色骨格標本作製し骨格を観察した³⁾。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⁴⁾を、胸部については顕微解剖法⁵⁾を用いた。

6. 統計学的方法

妊娠動物または一腹を標本の単位として、対照群とMMPD投与群との有意差の検定をおこなった。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。計数データおよび群間で分散に差が認められた計量データについては、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

いずれの群においても、一般状態の変化並びに死亡は認められなかったが、すべての胚・胎児が死亡していた動物数が8mg/kg/day投与群で対照群に比べて有意に多かった(Table 1)。

1.2. 体重および摂餌量

体重には、対照群とMMPD投与群との間に有意差は認められなかった(Fig. 1)。対照群と比較して8mg/kg/day投与群において体重増加の抑制傾向が認められたが、妊娠子宮重量を除いた妊娠20日の補正体重には、対照群とMMPD投与群との間に有意差は認められなかった(Table 1)。

摂餌量には、対照群とMMPD投与群との間に有意差は認められなかった(Fig. 2)。

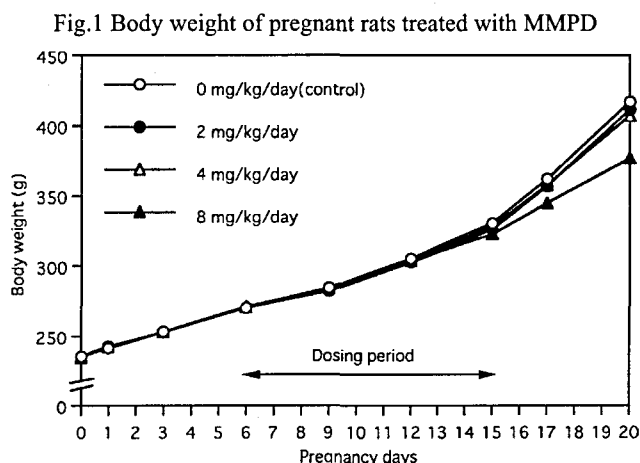
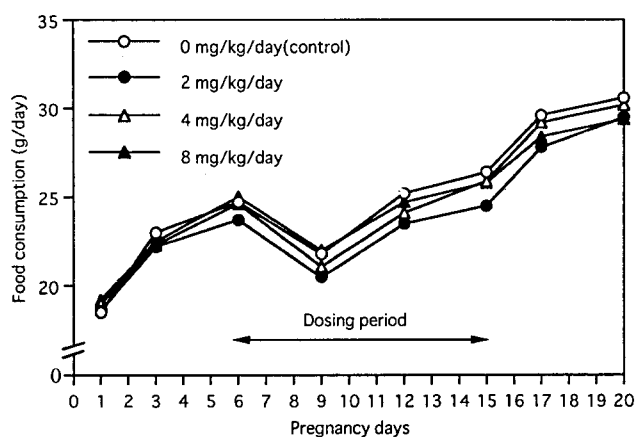


Table 1. Clinical signs in pregnant rats treated with MMPD

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	2	4	8
No. of pregnant rats	22	22	23	26
No. of dead pregnant rats	0	0	0	0
No. of pregnant rats with live fetuses	22	22	22	18
No. of pregnant rats with death of all the embryo / fetuses (%) ^a	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (4.3%)	8 (30.8%)**
Initial body weight (g) ^b	235.0 ± 10.4	235.0 ± 10.6	235.2 ± 10.2	234.2 ± 11.6
Final body weight (g) ^b	416.8 ± 20.2	411.2 ± 27.8	407.0 ± 38.4	376.7 ± 52.4
Body weight gain (g) ^{bc}	181.8 ± 17.7	176.2 ± 22.7	171.9 ± 33.6	142.6 ± 47.3
Corrected body weight (g) ^{bd}	329.9 ± 18.3	325.8 ± 20.4	332.3 ± 20.9	334.8 ± 22.1

a: Incidence, b: Mean ± S.D., c: Body weight gain from day 1 to day 20 of pregnancy, d: Body weight minus uterine weight at day 20 of pregnancy, **: Significantly different from the control group at p<0.01

Fig.2 Food consumption of pregnant rats treated with MMPD



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

用量依存的な胚・胎児死亡が観察され, 8mg/kg/day投与群においては生存胎児数の有意な減少および初期胚の死亡による着床後胚・胎児死亡率の有意な増加が認められた (Table 2). 黄体数, 着床数, 着床率, 性比および胎児体重には, 対照群とMMPD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

4 mg/kg/day以下の各群において1~4匹の胎児に外表

奇形が認められたが, 対照群とMMPD投与群との間には発生率に有意差は認められなかった (Table 3).

2.3. 胎児骨格

骨格奇形は, 胸椎または腰椎または尾椎の欠損, 腰椎体の癒合, 肋骨の欠損, 肋骨と胸椎弓の癒合等が, 対照群および2 mg/kg/dayにおいてそれぞれ1および2匹の胎児に認められたが, 発生率には対照群とMMPD投与群との間に有意差は認められなかった (Table 4).

骨格変異の発生率には, 対照群とMMPD投与群との間に有意差は認められなかった. 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差は認められなかった.

2.4. 胎児内部器官

各群において4~9匹の胎児に内部器官の奇形が認められたが, 発生率には対照群とMMPD投与群との間に有意差は認められなかった (Table 5).

考 察

MMPDの妊娠ラットへの経口投与により, 妊娠ラットに毒性徴候の認められない用量において胚・胎児死亡の増加が認められることから, MMPDは胚・胎児致死作用を有すると考えられる. これら観察された胚・胎児死亡のほとんどは, 着床および胎盤遺残であり, 着床後の早い時期に胚・胎児が

Table 2. Fetal growth in pregnant rats treated with MMPD

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	2	4	8
No. of litters	22	22	23	26
No. of corpora lutea	368	369	378	424
Mean ± S.D.	16.7 ± 1.9	16.8 ± 1.4	16.4 ± 1.9	16.3 ± 1.7
No. of implants	347	349	359	413
Mean ± S.D.	15.8 ± 2.4	15.9 ± 1.6	15.6 ± 2.2	15.9 ± 1.8
Implantation rate (%)	94.1	94.7	95.2	97.4
No. of live fetuses	332	320	291	181
Mean ± S.D.	15.1 ± 2.0	14.5 ± 2.6	12.7 ± 4.9	7.0 ± 7.2**
Sex ratio (male/female)	0.98	1.40	0.84	0.68
Fetal weight (g) ^a				
Male	3.91 ± 0.17	3.96 ± 0.22	3.96 ± 0.19	3.81 ± 0.29
Female	3.80 ± 0.17	3.76 ± 0.28	3.81 ± 0.18	3.63 ± 0.44
No. of dead implants	15	29	68	232
Early death ^b	15	28	66	232
Late death ^c	0	1	2	0
Mortality (%)	3.9	8.0	19.2	57.1**

a: Mean ± S.D., b: implantation sites and placental remnants, c: macerated fetuses and dead fetuses,

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

Table 3. Gross malformations in the fetuses from pregnant rats treated with MMPD

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	2	4	8
No. of litters	22	22	22	18
No. of litters with malformed fetus	4 (18.2%)	3 (13.6%)	1 (4.55%)	0 (0.00%)
No. of examined fetuses	332	320	291	181
No. of fetus with malformations ^a	4 (1.25%)	3 (1.14%)	1 (2.27%)	0 (0.00%)
General edema	1 (0.35%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
Exencephaly	0 (0.00%)	1 (0.57%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
Rudimentary tail	1 (0.28%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
Shorncted tail	0 (0.00%)	1 (0.57%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
Dwarf	2 (0.62%)	2 (0.57%)	1 (2.27%)	0 (0.00%)

a : Total number and mean incidence are shown.

Table 4. Skeletal variations in the fetuses from pregnant rats treated with MMPD

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	2	4	8
No. of litters	22	22	22	18
No. of fetuses examined	170	165	150	92
No. of fetuses with malformations ^a	1 (0.57%)	2 (1.70%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
Malformed vertebrae	1 (0.57%)	2 (1.70%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
Malformed rib	1 (0.57%)	1 (1.14%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
No. of fetuses with variations ^a	44 (25.77%)	58 (35.12%)	62 (44.44%)	31 (48.77%)
Hypoplastic supraoccipital	12 (7.00%)	25 (14.67%)	25 (18.32%)	15 (29.86%)
Cervical rib	4 (2.18%)	3 (1.70%)	2 (1.14%)	1 (0.62%)
Hypoplastic cervical vertebral arch	6 (3.51%)	11 (6.76%)	8 (5.29%)	8 (10.88%)
Deformed sternbrae	6 (3.49%)	5 (2.86%)	5 (7.18%)	4 (9.95%)
Deformed thoracic vertebral body	8 (4.95%)	5 (3.43%)	6 (3.99%)	4 (5.32%)
Wavy rib	1 (0.65%)	3 (1.79%)	2 (1.82%)	2 (3.40%)
Lumbar rib	18 (10.51%)	24 (15.17%)	29 (17.29%)	14 (22.54%)
Extra	3 (1.70%)	4 (2.29%)	3 (1.79%)	3 (9.44%)
Rudimentary	20 (11.64%)	23 (14.66%)	28 (16.73%)	13 (19.76%)
Others	4 (2.35%)	1 (0.65%)	1 (0.91%)	1 (1.11%)
No. of sacro-caudal vertebrae ^b	8.19 ± 0.58	8.15 ± 0.57	8.31 ± 0.35	8.24 ± 0.64
No. of metacarpus ^b	7.80 ± 0.32	7.90 ± 0.48	7.84 ± 0.29	7.65 ± 0.59
No. of metatarsus ^b	8.15 ± 0.31	8.00 ± 0.08	8.06 ± 0.19	8.04 ± 0.18

a: Total number and mean incidence are shown.. b: Mean ± S.D.

Table 5. Visceral malformations in the fetuses from pregnant rats treated with MMPD

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	2	4	8
No. of litters	22	22	22	17
No. of fetuses examined	162	155	141	89
No. of fetuses with malformations ^a	9 (5.23%)	4 (2.61%)	8 (11.5%)	6 (21.98%)
Abnormal lung lobulation	1 (0.57%)	0 (0.00%)	1 (4.55%)	3 (9.48%)
Diaphragmatic hernia	3 (1.87%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
Dilatated renal pelvis	1 (0.57%)	1 (0.57%)	1 (0.65%)	0 (0.00%)
Dilatated ureter	2 (1.07%)	1 (0.57%)	4 (6.98%)	1 (5.88%)
Left-sided umbilical artery	2 (1.22%)	3 (2.05%)	4 (4.48%)	4 (18.4%)
Others	2 (1.08%)	1 (0.57%)	1 (0.65%)	0 (0.00%)

a : Total number and mean incidence are shown.

死亡していることが示唆され、また、母動物には影響が見られないことから、胚・胎児に対する直接作用であると考えられる。

本試験条件下におけるMMPDの妊娠ラットに対する無影響量は8 mg/kg/day以上であると考えられる。これは、高用量である8 mg/kg/dayにおいても妊娠ラットにMMPD投与による毒性徴候が認められないからである。また、ラット胎児に対してはMMPD投与により、胚・胎児死亡数が用量依存的に増加しており、4 mg/kg/day群においては有意差は認められないものの、その発生頻度は今まで我々が行ってきた一連の催奇形性試験におけるコントロールレベルを越えていた。このことから、ラット胎児に対する無影響量は2 mg/kg/dayであると考えられる。これは、胎児に被験物質投与による毒性徴候が認められない最高の用量である。

本試験においては胎児奇形発生率の増加は認められなかったが、高投与量群において胚・胎児致死作用が認められたため、MMPDの催奇形性が検出されなかった可能性がある。MMPDの催奇形性を明らかにするためには、より短期間の投与による催奇形性試験が必要であると考えられる。

要 旨

N-メチルフェニル-N'-メチルフェニル-p-フェニレンジアミン(MMPD)の催奇形性をラットを用いて調べた。0, 2, 4および8 mg/kg/dayのMMPDを妊娠ラットに妊娠6～15日の10日間毎日1回経口投与した。妊娠20日に動物を屠殺し胎児奇形について調べた。妊娠動物には、いずれの投与量においても毒性徴候は認められなかった。胎児には、発育の抑制および奇形発生率の増加は認められなかったが、8 mg/kg/dayで強い胚・胎児致死作用が認められた。これらの結果から、無影響量は、ラット胎児に対しては2 mg/kg/day、妊娠ラットに対しては8 mg/kg/day以上であると結論された。

文 献

- 1) anonymous : *J Am Coll Toxicol.*, **13** (5), 374-394 (1994)
- 2) Korhonen, A., Hemminki, K. and Vainio, H. : *J Appl Toxicol.*, **3** (2), 112-117 (1983)
- 3) Dawson, A. B. : *Stain Technol.*, **1**, 123 (1926)
- 4) Wilson, J. G. : "Teratology principles and techniques" (eds. Wilson, J. G. and Warkany, J.) pp. 262, The University of Chicago Press, Chicago (1965)
- 5) 西村耕一 : 先天異常, **14**, 23(1974)

Isoquinoline alkaloid production by transformed cultures of *Papaver somniferum*

Kayo Yoshimatsu[#] and Koichiro Shimomura

Tsukuba Medicinal Plant Research Station, National Institute of Health Sciences

Three clones of transformed cultures of opium poppy (*Papaver somniferum* L.) were established by infection with *Agrobacterium rhizogenes* MAFF 03-01724. MAFF clone 1 being capable of forming somatic embryos was selected and its growth and isoquinoline alkaloid production was investigated. The illumination, temperature and nutrient medium composition greatly affected growth, cell morphology and alkaloid accumulation. The MAFF clone 1 cultured in Root Culture medium in the dark at 22°C accumulated a high quantity of sanguinarine (652 µg/g dry weight) though the growth was poor (4.4 fold as fresh weight basis after 2 months of culture). The MAFF clone 1 cultured in a quarter macro salt strength Woody Plant medium under 14 h/day light at 22°C developed into plantlets and accumulated significant quantity of codeine (648 µg/g dry wt) together with papaverine, noscapine, and sanguinarine. This clone was applied to a rotating drum fermenter (2 L working volume), and ca. 0.3 mg codeine and 0.06 mg sanguinarine were obtained after 4 weeks of culture. One quarter of the codeine produced was found in the culture medium.

Key Words: *Papaver somniferum*, *Agrobacterium rhizogenes*, transformation, somatic embryo, isoquinoline alkaloid

Introduction

Opium poppy (*Papaver somniferum* L., Papaveraceae) is one of the most well known medicinal plants since ancient times. It is a plant which causes narcosis; however, its alkaloids, such as morphine, codeine, papaverine and noscapine are therapeutically valuable¹⁾. Many researches have so far been conducted to produce these alkaloids *in vitro*, and most cultured cells including transformed ones readily produce sanguinarine and its analogues²⁻⁶⁾. There are some examples of production of morphinan alkaloids in differentiated cells such as shoots, plantlets and somatic embryos²⁻⁵⁾.

We have previously reported the induction of transformed cultures of *P. somniferum* by infection with *A. rhizogenes* MAFF 03-01724^{7,8)}. In that study, we found that one of the three transformed clones capable of forming somatic embryo contained considerable quantities of morphinan alkaloids as indicated by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The present study describes isoquinoline alkaloid production by transformed cultures under different cultural conditions.

Materials and methods

Plant material

Transformed and non-transformed cultures of *P. somniferum* L. var. *Ikkanshu* were established as described previously^{7,8)}. They were maintained on phytohormone-free (HF) Murashige and Skoog (MS)⁹⁾ solid medium at 22°C in the dark with subculturing at 4 weeks intervals.

General culture conditions

All the media used for the experiments were HF liquid medium supplemented with 30 g/L sucrose and adjusted to pH 5.7 before autoclaving at 121°C for 15 min. The MAFF clone 1 grown on the MS solid medium was used as experimental materials except Table 4. In the case of Table 4, each DT grown in the Table 3 experiment was subcultured in the same liquid medium. Other culture conditions employed are indicated in the tables.

Extraction and high pressure liquid chromatography (HPLC) analysis for isoquinoline alkaloids

Alkaloid extraction and HPLC analysis were carried out as described previously^{7,8)}. When a rotating drum fermenter (RDF) was used, 50 mL of acetic acid was added to ca. one L liquid medium (pH 2 - 3) and solution was extracted twice with 100 ml of chloroform. The aqueous layer was made alkaline (pH 8 - 9) with 28% ammonium hydroxide and then extracted three times with 100 mL of a mixture of chloroform and isopropanol (3:1). A

[#] To whom correspondence should be addressed:

Kayo Yoshimatsu; 1 Hachimandai, Tsukuba, Ibaraki, 305-0843 Japan; Tel: 0298-38-0573; Fax: 0298-38-0575; E-mail: yoshimat@nihs.go.jp

combined extract was evaporated *in vacuo* and residue was dissolved in an appropriate volume of methanol for HPLC analysis. The data from these extracts except RDF are shown as the mean of two replicates.

Results and discussion

Three transformed clones (MAFF clone 1, 2 and 3) were established on MS solid medium by infection with *A. rhizogenes* MAFF 03-01724^{7,8)}. Alkaloids in these clones grown on the MS solid medium in the dark at 22°C were analyzed by HPLC (Table 1). Codeine and sanguinarine were detected in MAFF clone 1, which appeared to be most embryogenic and contained the highest level of morphinan alkaloids by ELISA (1.76 µg morphine equivalents/g fresh weight)^{7,8)}.

Table 1. Morphinan alkaloid in the calli of *Papaver somniferum* cultured on MS solid medium at 22°C in the dark for 4 weeks

Cultures	Embryogenesis	HPLC (µg/g dry weight)	
		Codeine	Sanguinarine
non-transformant	+++	nd*	nd
MAFF clone 1	+++	trace	29
MAFF clone 2	-	nd	nd
MAFF clone 3	+	nd	nd

+++ : vigorous, ++ : moderate, + : poor, - : none

*Not detected

As far as we know, there is another example of transformation of *P. somniferum* with *A. rhizogenes* by Williams and Ellis⁶⁾, who reported that transformed tissue led to the production of disorganized cell cultures rather than hairy root cultures. This tendency may be attributed less to the insertion and/or position effects of the T-DNA of Ri plasmid than to intrinsic properties of *P. somniferum*, such as peculiar response to the endo/exo-genous phytohormones. In our study, transformed cells tended to form embryogenic cells though two of the three clones lost their embryogenic capability after the long repeated subculture time. Even the non-transformed cultures, any parts of axenic *P. somniferum* plants could not generate ordinary root cultures by the addition of auxins but embryogenic cells instead^{7,8)}.

MAFF clone 1 was selected for further experiments because it has maintained stable embryogenic capability for years and accumulated alkaloids.

Influences of temperature and basal medium in the dark

MAFF clone 1 grown on MS solid medium was transferred into a half macro salt strength MS (1/2 MS), MS, Gamborg B5 (B5)¹⁰⁾, Woody Plant (WP)¹¹⁾ and Root Culture (RC)¹²⁾ liquid media and cultured for 2 months at either 22°C or 25°C in the dark (Table 2).

Although the mixture of undifferentiated cells (UC) and differentiated tissues (shoots and embryos) (DT) were used as inoculum, UC predominantly proliferated in the liquid medium. The cells grew well in all liquid media except RC medium, however, DT production was restricted to B5 and WP media at 22°C. In this experiment, sanguinarine could be detected by HPLC with showing highest levels in the cells grown in the RC medium.

Table 2. Influences of temperature and basal media on the growth and alkaloid contents in MAFF clone 1

Temperature	Medium	Morphology	Growth index*	Sanguinarine (µg/g dry weight)
22 °C	1/2 MS	UC*	14.4	11
	MS	UC	8.5	5
	B5	UC and DT*	12.3	2
	WP	UC and DT	13.2	136
	RC	UC	4.4	652
25 °C	1/2 MS	UC	14.3	25
	MS	UC	13.1	nd*
	B5	UC	15.1	14
	WP	UC	7.6	3
	RC	UC	4.6	503

Mixture of UC and DT was cultured in liquid medium (20 mL/100 mL flask) in the dark on a rotary shaker (30 rpm) for 2 months.

*Final fresh weight / initial fresh weight (50-100 mg)

*Undifferentiated cells (UC)

*Differentiated tissues (DT)

*Not detected

Effects of WP macro salts concentration

Since both UC and DT proliferated well and contained a considerable amount of sanguinarine when grown in WP liquid medium at 22°C, the effect of WP macro salts concentration on growth and alkaloid production was investigated by using either UC or DT as inoculum. Both of the growth and alkaloid concentration of the cultures under 14 h/day light were superior to those in the dark, though their growth pattern and morphology were similar. When UC were inoculated and cultured in liquid medium, only UC was formed and no DT formation was observed (Fig. 1A). The UC growth in full, double, and three-times strength macro salts WP (WP, 2WP and 3 WP) media were better than those in a quarter and a half strength macro salts WP (1/4 WP and 1/2 WP) media, but alkaloids were negligible in all the UC cultures (data not shown). Both UC and DT proliferated in the liquid medium when DT were used as inocula (Table 3). The UC to DT ratio increased along with the WP macro salts concentration (Fig. 1B). DT growth without UC proliferation was observed when the DT was cultured in the 1/4 WP (in the light and dark) and the 1/2 WP

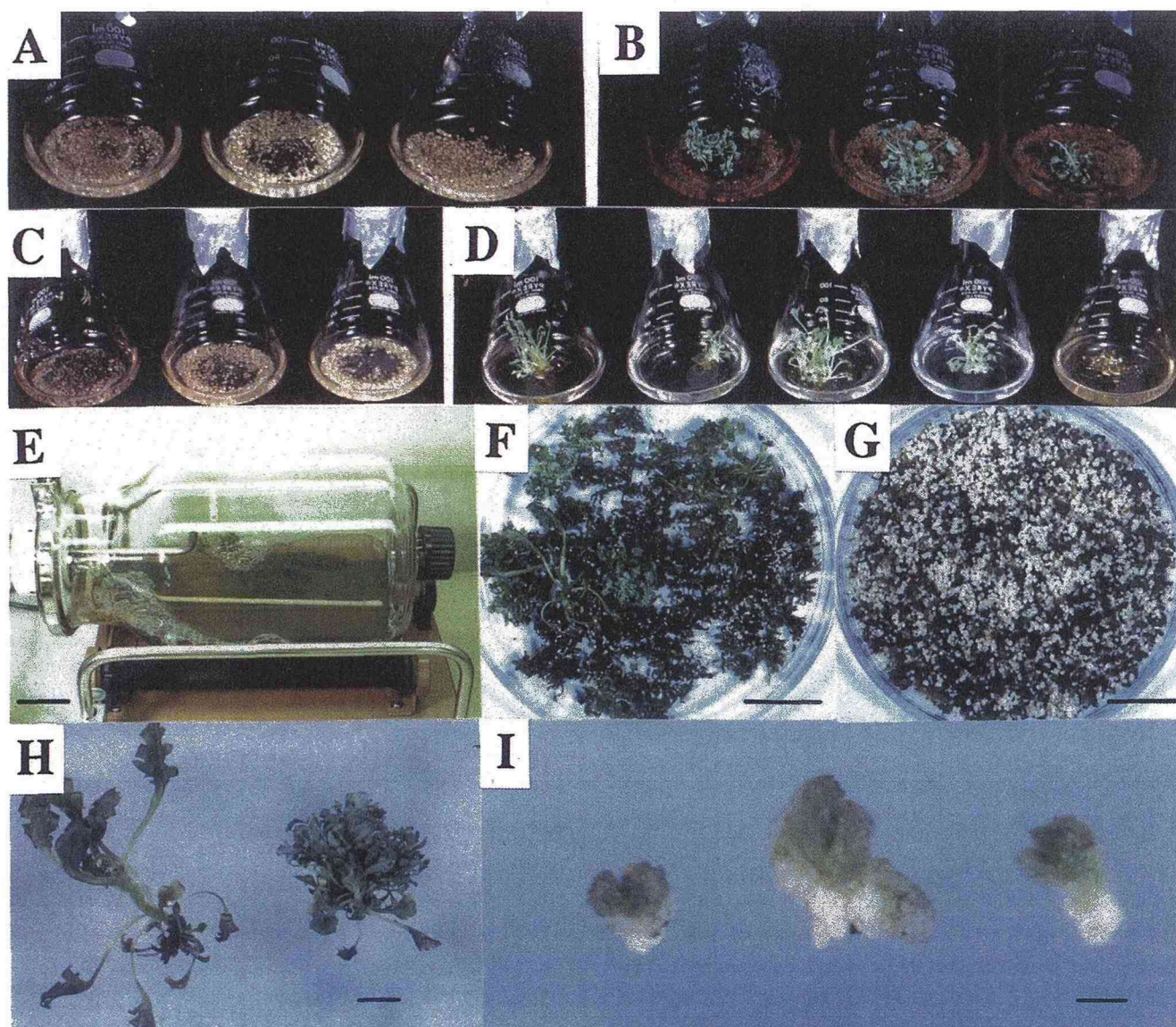


Fig. 1. *Papaver somniferum* cultures

A, MAFF clone 1 (undifferentiated cells, UC) cultured in WP, 2WP and 3WP (left to right) liquid medium (22°C, 14 h light, 1 month); B, MAFF clone 1 (differentiated tissues, DT) cultured in WP, 2WP and 3WP (left to right) liquid medium (22°C, 14 h light, 1 month)(see table 3); C, MAFF clone 1 (UC) subcultured in WP, 2WP and 3WP (left to right) liquid medium (22°C, 14 h light, 1 month); D, MAFF clone 1 (DT) subcultured in 1/4 WP, 1/2 WP, WP, 2WP and 3WP (left to right) liquid medium (22°C, 14 h light, 1 month)(see table 4). E, MAFF clone 1 culturing in a rotating drum fermenter (RDF); F, MAFF clone 1 (DT) proliferated in a RDF; G, MAFF clone 1 (UC) produced in a RDF; H, MAFF clone 1 shoots grown in a RDF; I, MAFF clone 1 embryos produced in a RDF (see Table 5). Bars represent 5 cm (E), 3 cm (F and G), 1 cm (H) and 1 mm (I), respectively.

(in the light) medium and the highest concentration of alkaloids was detected in the DT grown in 1/4 WP medium under 14 hr/day light (Table 3).

Then the cultures in the light were subcultured under the same conditions. When UC were subcultured, no alkaloid was detected in any of the UC cultures, though almost the same UC proliferation was observed (Fig. 1A and C). When DT were subcultured, the best plantlet formation (rooting and further development of the shoots, Fig. 1D) was observed and the highest concentration

of codeine (648 $\mu\text{g/g}$ dry weight) together with other alkaloids (papaverine, noscapine, and sanguinarine) was detected in the 1/4 WP medium though the DT did not proliferate (growth index: 12.0, Table 4). In the first passage (Table 3), high sanguinarine concentration (300 $\mu\text{g/g}$ dry weight) was obtained in 1/4 WP medium, however, it decreased drastically in the second passage (9 $\mu\text{g/g}$ dry weight). As shown in Table 2, much more sanguinarine was produced when the MAFF clone 1 was cultured in more starved cultural condition (in the RC medium, much lower inor-

Table 3. Effect of WP macro salts concentration on the growth and alkaloid production on MAFF clone 1 using differentiated tissues (DT) as inoculum (first passage)

Macro salts conc.	Light condition	Morphology	Growth index*	Alkaloid $\mu\text{g/g}$ dry weight	
				Codeine	Sanguinarine
1/4	dark	DT ^b	11.7 \pm 0.2	11 \pm 9	110 \pm 115
	light	DT	15.9 \pm 1.1	67 \pm 0	300 \pm 32
1/2	dark	DT and UC ^c	6.0 \pm 1.4	nd ^d	9 \pm 0
	light	DT	30.3 \pm 1.9	27 \pm 0	60 \pm 33
1	dark	DT and UC	12.5 \pm 2.1	nd	18 \pm 15
	light	DT and UC	36.8 \pm 1.6	29 \pm 30	11 \pm 4
2	dark	DT and UC	39.6 \pm 15.9	6 \pm 1	7 \pm 7
	light	DT and UC	45.7 \pm 10.1	26 \pm 0	2 \pm 1
3	dark	DT and UC	25.9 \pm 1.1	nd	8 \pm 7
	light	DT and UC	53.3 \pm 0.1	5 \pm 0	1 \pm 1

DT was cultured in liquid medium (20 mL/100 mL flask) at 22 °C in the dark or under 14 hr/day light ($80\mu\text{Em}^{-2}\text{S}^{-1}$) on a rotary shaker (50 rpm) for 1 month.

Data were shown as mean \pm standard deviation.

*Final fresh weight / initial fresh weight (50-100 mg)

^cUndifferentiated cells (UC)

^bDifferentiated tissues (DT)

^dNot detected

ganic salts concentration than MS). Therefore, high concentration of sanguinarine in 1/4 WP medium at the first passage might be attributed to the drastic change of culture medium (high to low concentration of inorganic salts). At the second passage, as the cultures were adapted in their culture conditions, effects of culture media on the growth and alkaloid production might be expected. Moderate shoot development and rooting were observed in 1/2 WP medium (Fig. 1D) with showing the highest concentrations of noscapine and sanguinarine among the cultures. On the other hand, both shoot development and proliferation were completely suppressed in 3 WP medium (Fig. 1D), resulting in a low concentration of alkaloids (Table 4).

In WP medium, the best DT proliferation (growth index: 24.5 in Table 4) and shoot development (Fig. 1D) were observed and the third highest concentration of codeine ($158\mu\text{g/g}$ dry weight) was obtained. Papaverine and noscapine were detected only in plantlets (shoots with root system). These results imply that alkaloid concentration and composition in MAFF clone 1 are greatly influenced by their morphology and the degree of plant development. For the accumulation of alkaloids, to some extent, establishment of the root system appears to be important. Morphine was not detectable level in any of the cultures as reported previously^{7,8}.

Table 4. Effect of WP macro salts concentration on the growth and alkaloid production on MAFF clone 1 using differentiated tissues (DT) as inoculum cultured under 14 h/day light (second passage)

Macro salts conc.	Shoot development	Rooting	Growth index*	Alkaloid $\mu\text{g/g}$ dry weight			
				Codeine	Papaverine	Noscapine	Sanguinarine
1/4	+++	+++	12.0 \pm 7.0	648 \pm 289	29 \pm 21	48 \pm 16	9 \pm 0
1/2	++	++	6.4 \pm 0.0	60 \pm 52	nd ^b	59 \pm 0	15 \pm 19
1	+++	+	24.5 \pm 14.2	158 \pm 11	11 \pm 0	3 \pm 1	1 \pm 0
2	+++	+	11.4 \pm 3.3	179 \pm 117	8 \pm 2	10 \pm 5	nd
3	+	-	7.6 \pm 5.2	6 \pm 3	nd	nd	1 \pm 0

DT was subcultured in the same liquid medium (20 mL/100 mL flask) at 22 °C under 14 hr/day light ($80\mu\text{Em}^{-2}\text{S}^{-1}$) on a rotary shaker (50 rpm) for 1 month.

Data were shown as mean \pm standard deviation.

+++ : vigorous, ++ : moderate, + : poor, - : none

*Final fresh weight / initial fresh weight (50-100 mg)

^bNot detected

Table 5. Growth and alkaloid production of MAFF clone 1 cultured in a RDF

Parts	fresh weight(g)	dry weight(g)	Alkaloid $\mu\text{g/g}$ dry weight		Alkaloid μg	
			Codeine	Sanguinarine	Codeine	Sanguinarine
DT ^a	24.9	2.40	81	3	194.4	7.2
UC ^b	27.0	3.65	15	4	54.8	14.6
medium					79.3	36.8
Total	51.9	6.05			328.5	58.6

DT was cultured in WP liquid medium (2.1 L, rotated at 3 rpm) at 23 °C under 14 hr/day light

($80\mu\text{Em}^{-2}\text{S}^{-1}$) at 0.2 vvm (vol. of air, vol. of medium per min) for 4 weeks.

^aDifferentiated tissues (DT)

^bUndifferentiated cells (UC)

Culture of differentiated tissues (DT) in a rotating drum fermenter (RDF)

In the preliminary experiment for MAFF clone 1 in liquid culture using a 100 ml flask, the ratio of UC to DT tended to increase along with the increase of rotation rates. In the case of *Cephaelis ipecacuanha*, the frequency of adventitious shoot formation on internodal segments was 83.7% when cultured in a RDF, whereas it below 30 % when cultured in an air lift type fermenter¹³. The inhibition of shoot formation might be attributed to the hydrodynamic stress produced by aeration and/or rotation. Therefore a RDF (Fig. 1E) was chosen for *P. somniferum* cultures because the production of DT seemed to be associated to the codeine formation. Since moderate growth and alkaloid accumulation and proliferation of DT were observed in WP medium, DT were cultured using WP liquid medium (Table 5). Both DT and UC proliferated (Fig. 1F-I) as observed in the liquid culture in a 100 ml flask. After 4 weeks of culture, 24.9g fresh weight of DT and 27.0g fresh weight of UC were obtained (initial fresh weight of DT: 3.8 g). Codeine and sanguinarine were detected in these cultures and

the culture medium with showing the better codeine productivity. After 4 weeks of culture, *ca.* 0.3 mg codeine and 0.06 mg sanguinarine were obtained.

Conclusion

It was reported that the transformed cultures established by Williams and Ellis accumulated sanguinarine and its analogues in high quantities but almost no morphinans⁹. In our transformed cultures, only one (MAFF clone 1) of the three clones maintained stable embryogenic capability for 8 years and accumulated morphinan alkaloids. Therefore the lack of accumulation of morphinans in their cultures may be due to the genetic variation among the clones which were inevitably induced by Ri plasmid.

In the present study, nutrient medium composition, temperature and illumination crucially affected cell morphology and alkaloid composition and accumulation. Lower temperature (22°C), lower inorganic salts concentrations (a quarter to full strength macro salts WP) and illumination were required for the stable production of DT and alkaloids. Higher inorganic salts concentrations of WP promoted the formation and propagation of UC that caused diminishing alkaloids, especially codeine.

We demonstrated the production of codeine by transformed cultures of *P. somniferum* using a RDF. The yields of alkaloids were not economically feasible at present. However, the data suggest possibilities for the continuous production of codeine because one quarter of it was detected in the culture medium. In addition, productivity of alkaloids might be improved by further optimization including the selection of appropriate transformed clones and culture apparatus and conditions.

There are two possible biosynthetic pathways for the conversion of thebaine to morphine¹⁰. The one, which is well established, is described in the literature^{4,5}, *i.e.* morphine biosynthesis from thebaine via codeinone and codeine. Another pathway, first demonstrated by Brochmann-Hanssen in 1984¹⁵, occurs via oripavine and morphinone. In the present study, the transformed clone could synthesize codeine but lacked morphine, though the non-transformed clone obtained from the same plant material accumulated morphine at the latter developmental stage^{7,8}. Therefore genetic transformation of *P. somniferum* by *Agrobacterium* may offer the biochemical variations which enables us to unravel the complicated terminal steps in the biosynthesis of morphine.

Acknowledgements

This study was supported in part by Ministry of Health and Welfare, Health Sciences Research Grants, Special Research.

References

- 1) Evans, W. C. : "Pharmacognosy", 13th ed., eds. by Evans, W.C. Baillière Tindall, London, pp. 582-591 (1989)
- 2) Constabel, F.: "The chemistry and biology of isoquinoline alkaloids. Morphinan alkaloids from plant cell cultures", eds. by Phillipson, J. D., Roberts, M. F., Zenk, M. H., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 257-264 (1985)
- 3) Kamo, K. K. and Mahlberg, P. G.: " Medicinal and aromatic plants I, Biotechnology in agriculture and forestry" vol 4, ed. by Bajaj, Y. P. S., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 251-263 (1988)
- 4) Nessler, C. L.: "Handbook of Plant Cell Culture" vol. 5, eds. by Ammirato, P. V., Evans, D. R., Sharp, W. R. and Bajaj, Y. P. S., McGraw-Hill Publishing Co., New York, pp. 693-715 (1990)
- 5) Roberts, M. F.: "Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants" vol. 5, eds. by Constabel, F. and Vasil, I. K., Academic Press Inc., San Diego, pp. 315-334 (1988)
- 6) Williams, R. D. and Ellis, B. E.: *Phytochemistry*, **32**, 719-723 (1993)
- 7) Yoshimatsu, K. and Shimomura, K.: *Plant Cell Reports*, **11**, 132-136(1992)
- 8) Yoshimatsu, K. and Shimomura, K.: "Plant protoplasts and genetic engineering VII, Biotechnology in agriculture and forestry" vol 38, ed. by Bajaj, Y. P. S., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 243-252 (1996)
- 9) Murashige, T. and Skoog, F.: *Physiol Plant.*, **15**, 473-497 (1962)
- 10) Gamborg, O. L., Miller, R. A. and Ojima, K.: *Exp. Cell Res.*, **50**, 151-158 (1968)
- 11) Lloyd, G. and McCown, B.: *Intl. Plant Propag. Soc. Comb. Proc.* **30**, 421-427 (1980)
- 12) Thomas, E. and Davey, M. R.: "EMBO course, The Use of Ti Plasmid as Cloning Vector for Genetic Engineering in Plants" ed. by Montagu, M. V., Lab. Genetics, Rijksuniversiteit Gent, Belgium, 4 - 23 August 1982, p. 109 (1982).
- 13) Yoshimatsu, K. and Shimomura, K.: *Plant Cell Reports*, **9**, 567-570 (1991)
- 14) Wilhelm, R. and Zenk, M. H.: *Phytochemistry*, **46**, 701-708 (1997)
- 15) Brochmann-Hanssen, E. A.: *Planta Med.*, **50**, 343-345 (1984)

表面プラズモン共鳴 (SPR) イムノアッセイによるフォリスタチンの迅速定量

日向昌司*・川崎ナナ・日向須美子・太田美矢子・伊藤さつき・早川堯夫

Rapid quantitation of follistatin by surface plasmon resonance (SPR) immunoassay.

Masashi Hyuga*, Nana Kawasaki, Sumiko Hyuga, Miyako Ohta, Satsuki Itoh, and Takao Hayakawa

A simple, rapid, and accurate assay using surface plasmon resonance (SPR) apparatus with anti-follistatin antibody (SPR immunoassay) has been developed for the quantitation of recombinant follistatin. This assay can be performed with a direct injection of conditioned medium; results were obtained within 10 min. The quantitation component of this assay was precise and accurate with a limit of quantitation of 62.5 ng/ml in Ham's F12 medium containing 2% fetal bovine serum. These results demonstrate that SPR immunoassay is a powerful technique for several researches, especially for screening of gene transfectant and monitoring of protein production.

Keywords: follistatin, surface plasmon resonance immunoassay, biotechnology-derived pharmaceuticals, quality evaluation

結 言

組換えタンパク質性医薬品は、その活性発現に糖鎖付加などの翻訳後修飾を必要とするものが少なくなく、翻訳後修飾がされるタンパク質発現系として CHO (Chinese hamster ovary) 細胞などの動物細胞株が宿主細胞として利用されている。組換えタンパク質の安定発現細胞株を樹立するためには、組換えタンパク質発現ベクターを宿主細胞へリポフェクション法などの物理的手法で導入し、染色体内に組み込まれたクローンを選別することが要求される。そのようなクローンが生じる確率は極めて低いが、ベクターに薬剤耐性遺伝子を組み込むことで、組換えが起こったクローンを薬剤耐性クローンとしてスクリーニングすることが可能である。しかし、ランダムに染色体へ組み込まれた結果、完全な組換えタンパク質発現単位を含んでいないことがありうる。さらに、組換えタンパク質発現単位のコピー数や挿入領域は、各クローンにおいて異なるため、導入遺伝子の発現量は、各クローンにおいて著しく異なる。したがって、薬剤耐性クローンから目的の組換えタンパク質高発現クローンのスクリーニングは、重要なステップとなる。

組換えタンパク質高発現クローンのスクリーニングにおいてバイオアッセイは必須であるが、動物個体を必要とするなど、バイオアッセイによる大規模なスクリーニングは容

易でない。したがって、高発現クローンのスクリーニングの初期段階においては、イムノアッセイによる培養上清中の組換えタンパク質の定量が適当な手法である。とりわけ、ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) は、比較的簡便かつ検出感度に優れた方法であるため汎用されてきたが、1) 操作は煩雑で、時間を要する、2) 再現性を得るには、マニュアル操作の場合、ある程度技術的な熟練を要する、3) 自動化するためには、大がかりな装置構築がともなう、4) 培養上清中の濃度測定が可能なサンドイッチ ELISA には、エピトープを異にする 2 種類のモノクローナル抗体もしくはサンドイッチ ELISA が可能なポリクローナル抗体を必要とするなど、いくつかの制限があった。

最近、ELISA の特異的定量法の利点に加え、簡便かつ迅速なアッセイとして、抗体を適用した表面プラズモン共鳴 (SPR) 装置を利用したアッセイ (SPR イムノアッセイ) が注目されはじめた¹⁻³⁾。このアッセイは、リアルタイムに結合量が解析でき、極めて高い再現性を有する。さらに、一種類かつ少量の抗体でセンサーチップを作製でき、一度センサーチップに固定した抗体は繰り返し使用可能で、自動的に解析を行わせることも容易である。しかし、培養上清中のタンパク質を標的とする SPR イムノアッセイの報告は少なく、培養上清を用いた定量の有効性は明確でなかった。

本論文では、肝再生促進薬の候補分子として注目されているフォリスタチン⁴⁻⁵⁾をモデル分子として取り上げ、組換えフォリスタチン産生細胞の培養上清中フォリスタチンを簡便かつ迅速に定量する SPR イムノアッセイを確立した。

* To whom correspondence should be addressed: Masashi Hyuga; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel:+81-3-3700-9074; Fax:+81-3-3700-9084; E-mail: mhyuga@nihs.go.jp

実験方法

1. 試薬と装置

フォリスタチンは、ヒト組換えフォリスタチン産生CHO細胞から、精製したものをを用いた。抗ヒトフォリスタチン抗体は、R&D systemsより購入した。HBS-EP buffer(10 mM HEPES pH 7.4, 0.15M NaCl, 3 mM EDTA, 0.005% (v/v), Tween 20), N-hydroxysuccinimide (NHS), N-ethyl-N'-(3-diethylamino propyl)-carbodiimide (EDC), ethanolamine hydrochloride (pH 8.5), およびCM5センサーチップは、BIAcore ABから購入した。

SPRイムノアッセイは、BIAcore2000 (BIAcore AB)を用い、解析はすべて25°Cで行った。

2. センサーチップの作製と評価

NHS(50 mM)/EDC(200 mM)溶液(50/50)で10分間活性化させたCM5センサーチップに10 mM酢酸緩衝液pH 5に溶解した抗ヒトフォリスタチン抗体をインジェクトし、固定化量を10,000 resonance unit(RU)とした。残存活性基は、ethanolamine(1M)でブロッキングした。

作製したセンサーチップは、フォリスタチンとの結合速度論的解析により評価した。センサーグラムを非線形最小二乗法によりcurve fittingさせ、結合速度定数(k_{ass})及び解離速度定数(k_{diss})から、KD(k_{diss}/k_{ass})を算出した(BIA evaluation software Ver.3.1, BIAcore AB)。

3. 測定条件

ランニング液: HBS-EP buffer

流速: 100 μ l/min

試料量: 250 μ l

結合量(RU): [試料の注入終了1分後のRU] - [試料の注入開始10秒前のRU]

センサーチップの再生: 30 μ lの10 mM HCl-Gly buffer pH 1.5, 1 M NaClを注入した。

4. 流速の決定

流速20, 40, 60, 80, 及び100 μ l/mlにおいて、フォリスタチン溶液(500 ng/ml)を2.5分間注入し、結合量を測定した。

5. 検量線の作成

フォリスタチン溶液の2倍希釈系列(7.8~1,000 ng/ml)をウシ胎児血清含有Ham's F12培地を用いて調製した。3系列について結合量を測定し、各フォリスタチン濃度における結合量からフォリスタチンを含まない溶液の結合量を差し引いた値によって検量線を作成するとともに、平均値(Mean), 標準偏差値(SD), 回収率(Mean/調製濃度x100), 及び%CV値(SD/Mean x100)を求めた。

6. 培養上清中の濃度測定

ヒトフォリスタチン遺伝子導入CHO細胞株(CHF2.27株)を10cm培養ディッシュにコンフルエントまで増殖させた後、6 mlの2%ウシ胎児血清含有Ham's F12培地で3日間培養した培養上清を回収した。0.2 μ mフィルターでろ過後、SPRイムノアッセイ及びバイオアッセイに供した。

7. フォリスタチンのバイオアッセイによる定量

フォリスタチンは、アクチビンと複合体(2:1)を形成することでアクチビンの活性抑制を引き起こすので、アクチビン活性測定系にフォリスタチンを添加し、中和活性をもってフォリスタチン量を求めた。

アクチビン活性は、K562細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイによって測定した⁶⁾。

結 果

1. フォリスタチンセンサーチップの評価

本研究で作製した抗フォリスタチン抗体固定化センサーチップの機能評価を目的とし、速度論的解析を行った結果、解離定数KDは、 1.72×10^{-9} Mと算出された。一般的な抗原抗体間の解離定数は、 10^{-8} M~ 10^{-10} Mであることから、抗フォリスタチン抗体が機能的に固定化されていることが確認された。また、センサーグラムのcurve fittingにおいて、結合様式はマストランスマファーに適合したことから、十分量の抗フォリスタチン抗体が結合していることが示唆され、作製したセンサーチップは、SPRイムノアッセイを行うのに適当であると評価した。

2. 解析条件の検討

検出感度および解析時間を最適化するために、単位時間あたりの結合量と流速の関係について検討した結果、流速に比例して結合量の増加が観察され、本研究で用いた装置における結合解析時の最高流速である100 μ l/mlにおいて、最も多くの結合量が観察されたので、以降の解析は、流速100 μ l/mlで行うこととした(Fig. 1)。また、注入量は、解析用注入法(KINJECT)の最大試料量である250 μ lとした。この条件の場合、結合時間は、2.5分間、試料あたりの解析時間は、センサーチップの再生過程を含め、約10分間であった。

これまで報告されているSPRイムノアッセイにおける流速は、5~20 μ l/ml程度で行なわれており、流速の影響は検討されていなかった。最適流速は、固定化した抗体の性質に依存する可能性も排除できないが、高流速によって解析時間あたりの検出感度は増加すると結論付けた。

3. 検量線の作成

血清中には、SPRイムノアッセイで用いるセンサーチップに非特異的に結合する物質が存在し、解析結果に影響を与える。理論上は、抗体を固定化していないチップをブランクと

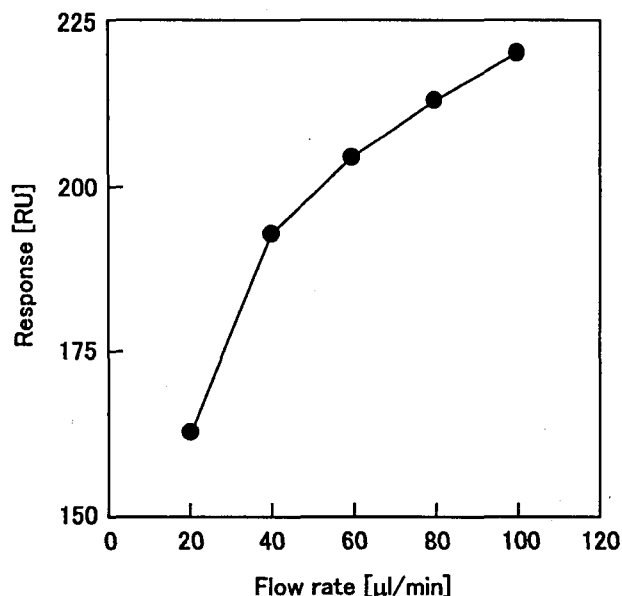


Fig. 1. Effect of flow rate for binding response
Binding responses were determined with 500 ng/ml follistatin in HBS-EP buffer for 2.5 min injection.

し、差し引くことで解消することが期待されるが、実際の結合特性は、抗体を固定化した場合とブランクでは明らかに異なるため、個別の補正が必要となった。

2%ウシ胎児血清含有 Ham's F12 培地を用いて調製したフォリスタチンの 2 倍希釈系列溶液 (7.8 ~ 1,000 ng/ml) について各結合量を測定した。各フォリスタチン濃度における結合量から 2%ウシ胎児血清含有 Ham's F12 培地の結合量 (43 RU) を差し引いた値について解析した結果、各濃度の測定値を基に相関係数 0.997 の検量線が作成された (Fig. 2)。また、定量限界 (CV 値が 20% 以下の最小濃度) は 62.5 ng/ml となり、極めて高い再現性を示し、回収率もほぼ 100% であった (Table 1)。

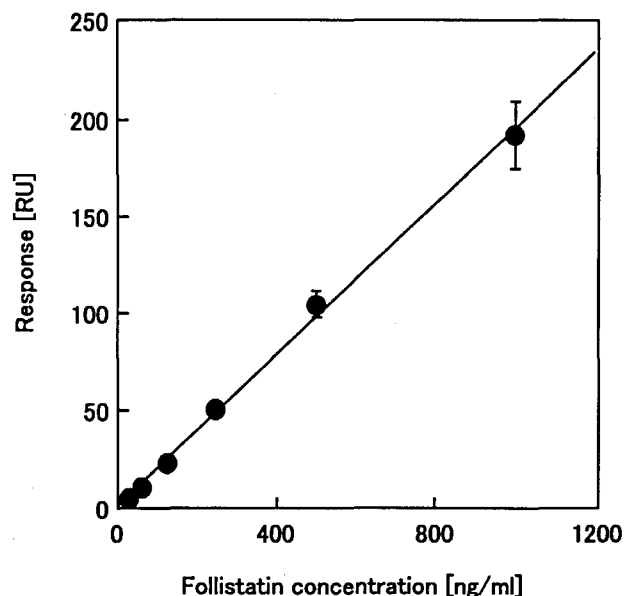


Fig. 2. The standard curve of human follistatin quantitated with SPR immunoassay
Binding responses were subtracted with blank (43 RU). The curve was fitted with a simple fitting (mean \pm SD, $n=3$, $r^2=0.998$).

4. 培養上清中の濃度測定

ヒトフォリスタチン遺伝子を導入した CHO 細胞 (CHF2. 27 株) の培養上清について、SPR イムノアッセイによるフォリスタチン濃度の測定を試みた結果、バイオアッセイから予想された値とほぼ同じ値となった (Table 2)。

以上の結果を総合すると、本研究で確立した SPR イムノアッセイは、組換えタンパク質高発現細胞株のスクリーニングに適用しうる、簡便、迅速かつ正確な手法であることが確認された。

Table 1 Evaluation of the follistatin standard curve

Follistatin [ng/ml]	Response [RU]	Calculated [ng/ml]	%Recovery	%CV
1,000	191.5 \pm 17.6	982.1 \pm 95.2	98.2	9.7
500	103.2 \pm 6.9	531.8 \pm 40.7	106.3	7.7
250	49.6 \pm 2.6	258.4 \pm 18.7	103.4	7.2
125	22.0 \pm 1.1	117.7 \pm 11.1	94.2	9.4
62.5	9.4 \pm 0.4	53.4 \pm 7.5	85.4	14.0
31.3	3.9 \pm 0.2	25.4 \pm 6.5	81.3	25.6

Table 2 Quantitation of recombinant human follistatin in conditioned medium with SPR immunoassay

Measurement	Follistatin [ng/ml]
Bioassay	600
SPR immunoassay	748

考 察

本研究では、フォリスタチンをモデル分子としてSPRイムノアッセイを確立した。SPRイムノアッセイは、ELISAの制限事項であった簡便性、迅速性を克服しており、とりわけ解析時間は、ELISAの数時間～数日間に対し、10分間程度で行えることが可能であった。したがって、組換えタンパク質高発現株のスクリーニング等、従来ELISAで解析されていたことはもとより、培養上清中へ分泌される組換えタンパク質をリアルタイムでモニターすることも可能な方法であると評価される。

SPRイムノアッセイは、基礎的研究にとどまらず、バイオテクノロジー応用医薬品の開発・製造過程における評価⁷⁾、臨床における有効性評価法のひとつとして期待される。すなわち、組換えタンパク質性医薬品やトランスジェニック動物

由来医薬品製造における、高発現株のスクリーニング及び製造過程における恒常性評価、培養・精製・加工等製造工程の恒常性評価、細胞治療薬製造における、治療用細胞の産生する生理活性物質の定量、分泌性タンパク質を分化マーカーとした分化形質の評価等に適した方法であり、さらには、投与後の医薬品の血中や体液中濃度をリアルタイム解析にも発展しうるものと期待される。

文 献

- 1) Wong, R.L., Mytych, D., Jacobs, S., Bordens, R., and Swanson, S.J.: *J. Immunol. Methods*, **209**, 1-15 (1997)
- 2) Deckert, F., and Legay, F.: *Anal. Biochem.*, **274**, 81-89 (1999)
- 3) Zhu, G., Yang, B., and Jennings, R.N.: *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **24**, 281-290 (2000)
- 4) Kogure, K., Omata, W., Kanzaki, M., Zhang, Y.Q., Yasuda, H., Mine, T., and Kojima, I.: *Gastroenterology*, **108**, 1136-1142 (1995)
- 5) Kogure, K., Zhang, Y.Q., Kanzaki, M., Omata, W., Mine, T., and Kojima, I.: *Hepatology*, **24**, 361-366 (1996)
- 6) Hashimoto, O., Kawasaki, N., Tsuchida, K., Shimasaki, S., Hayakawa, T., and Sugino, H.: *Cell Signal.*, **12**, 565-571 (2000)
- 7) Hayakawa, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 1-38 (1999)

Change in the Particle Size Distribution of poly (L-lactide) Wear Debris by γ -Ray Irradiation

Kazuo Isama[#] and Toshie Tsuchiya

It has been known that the wear debris causes failure of implant prostheses. In this study, the convenient wear test of poly(L-lactide) (PLLA) was established and the particle size of PLLA wear debris was analyzed using the Coulter counter. Then, the changes in the particle size distribution of PLLA wear debris by γ -ray irradiation were observed dose-dependently at the dose of 10, 25 and 50 kGy. With the increasing irradiation dose, the particle size distribution of PLLA wear debris shifted toward the smaller diameter size, and the mean diameter of PLLA wear debris significantly decreased. In addition, the tensile strength and the molecular weight of irradiated PLLA were also decreased by increasing the irradiation dose. The lowering of the molecular weight by γ -irradiation resultingly caused the decreases in tensile strength of irradiated PLLA and the particle size of the wear debris derived from irradiated PLLA.

Keywords: poly(L-lactide), wear debris, particle size distribution, γ -ray irradiation

Introduction

Most total hip and knee replacements are composed of ultra high molecular weight polyethylene (UHMWPE) articulating against metal or ceramic. However, it has been well known that UHMWPE wear debris induce osteolysis and cause long term failure of hip and knee prostheses. The number of particles and the total surface area increase dramatically for particles of small diameter, thus particle number and available surface could be of great significance in promoting debris disease¹⁾. Vermes *et al.* reported that particulate wear debris directly activated osteoclasts and dramatically altered osteoblast function by both inducing interleukin-6 secretion and suppressing collagen synthesis²⁾. Recently, it was confirmed that there was the wear resistance in the UHMWPE highly crosslinked by γ -ray irradiation^{1,3)}.

Poly(L-lactid) (PLLA) has been used as biodegradable screws, pins and plates for internal bone fixation in the orthopedics. Ethylene oxide sterilization causes a carcinogenic risk because of the mutagenic properties of ethylene oxide⁴⁾. In addition, autoclave sterilization causes plastic deformation and extensive hydrolytic degradation, and dry heat sterilization leads thermo-oxidative degradation of PLLA⁵⁾. These sterilizations should not be applied to PLLA. On the other hand, in our recent study, the γ -ray irradiation of PLLA stimulated the differentiation of mouse os-

teoblastic cells cultured on PLLA. Then, it was suggested that, if the satisfied mechanical property was maintained, the γ -ray sterilization was suitable for PLLA devices⁶⁻⁸⁾.

In the present study, we established the convenient wear test for estimation of mechanical properties of γ -irradiated PLLA. The change in the particle size distribution of PLLA wear debris was caused by γ -irradiation, and also the molecular weights of PLLA were dose-dependently decreased by γ -irradiation.

Materials and methods

γ -Ray irradiation of PLLA

The PLLA sheets made of high molecular weight PLLA with thickness of 0.3 mm were obtained from Shimadzu Co. (Kyoto, Japan). The PLLA sheets were γ -ray irradiated at the dose of 10, 25 or 50 kGy using ⁶⁰Co as the radiation source. The irradiated PLLA sheets were preserved in the silica gel desiccator until next measurement.

According to the information from the manufacturer, the tensile strength of unirradiated PLLA, 25 kGy irradiated PLLA and 50 kGy irradiated PLLA were respectively 6.69 ± 0.047 , 6.43 ± 0.103 and 5.80 ± 0.228 kgf/mm² (mean \pm S.D., n = 5) in the standard tensile test, JIS K 7113 Testing Method for Tensile Properties of Plastics (Shimadzu Co., unpublished data). The tensile strength of irradiated PLLA significantly decreased ($P < 0.0001$ by one-way analysis of variance) with the increasing irradiation dose.

[#] To whom correspondence should be addressed:

Kazuo Isama; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-1141; Fax: +81-3-3700-6950; E-mail: isama@nihs.go.jp

Wear test

The schemes of wear test that modified the method of Miura and Takeda⁹⁾ were shown in Figure 1. The PLLA specimen was prepared; The PLLA sheets were cut out in the disk with the 14.0 mm diameter, and glass column of 11.0 mm diameter and 2.5 g weight was bonded on each PLLA disk using a cyanoacrylate adhesive (Fig. 1A). Then, the PLLA specimen was put in the cylindrical vessel of the 30.0 mm inside diameter, in which bottom plane was #400 waterproof abrasive paper (Sankyo Rikagaku Co., Ltd., Tokyo, Japan). Five milliliter of balanced electrolyte solution, ISOTON II (Coulter Electronics Ltd., Luton, Bedfordshire, England), was added in the cylindrical vessel, and the whole vessel was gyrated of 15 mm radius at 200 rpm for 1 hour using a rotatory shaker (SRR-3, IUCHI SEIEIDO Co., Ltd., Osaka, Japan) (Fig. 1B).

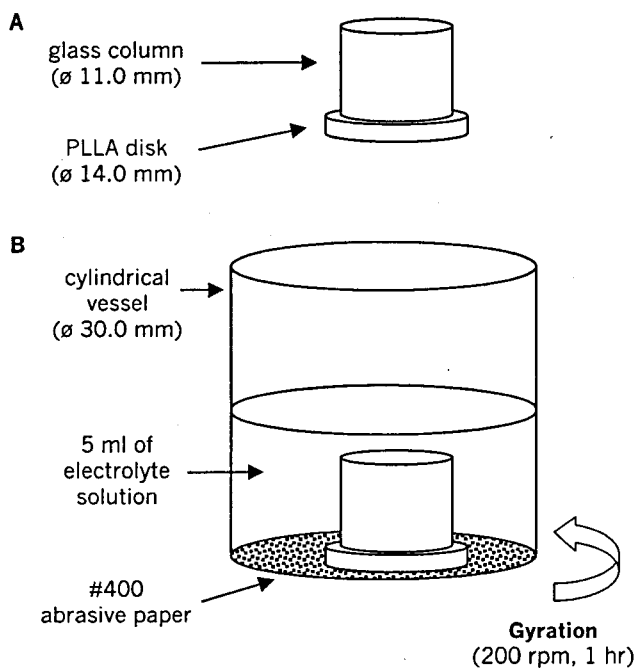


Fig. 1. Schemes of wear test

A: Glass column of 11.0 mm diameter and 2.5 g weight was bonded on the PLLA disk of 14.0 mm diameter using a cyanoacrylate adhesive.
B: The PLLA specimen was put in the cylindrical vessel of the 30.0 mm inside diameter, in which bottom plane was #400 waterproof abrasive paper, and the cylindrical vessel was gyrated at 200 rpm for 1 hour with 5 ml of electrolyte solution.

Coulter counter analysis of wear debris

The particle size of PLLA wear debris in balanced electrolyte solution obtained by wear test was measured using the Coulter counter, MULTISIZER II (Coulter Electronics Ltd.). The orifice tube with nominal aperture diameter of 100 μm was used and the particle diameter was measured in the range of 2-60 μm . The data were analyzed using MULTISIZER AccuComp Color Soft-

ware Version 1.19 (Coulter Corp., Miami, Florida). The particle size distribution was obtained from mean number of each particle diameter. The mean particle diameter of PLLA wear debris was calculated from 9 times experiment.

Gel permeation chromatography

The molecular weight of PLLA was determined by gel permeation chromatography (GPC), using LC10AT (Shimadzu Co., Kyoto, Japan) equipped with refractive index detector (RID-10A, Shimadzu Co.) as a GPC apparatus. PLLA were dissolved in chloroform at a concentration of 5 mg/ml. Fifty microliters of sample solution were eluted through two GPC columns (TSKgel G5000H_{XL} + TSKgel G4000H_{XL}, each 7.8 mm i.d. \times 300 mm, Tosoh, Tokyo, Japan) at a mobile phase of 1.0 ml/min chloroform. The weight average molecular weight (M_w) and the number average molecular weight (M_n) of PLLA were analyzed from the comparison with the calibration curve that was made with polystyrene standards (Showa Denko, Tokyo, Japan) using LC workstation, CLASS-LC10 (Shimadzu Co.). The polydispersity index was calculated as the ratio of M_w to M_n .

Statistical analysis

Differences of particle diameter among the groups were evaluated with one-way analysis of variance (ANOVA). When significant differences among the groups were found, Turkey-Kramer test was applied for multiple comparisons. A difference was considered to be significant if $P < 0.01$.

Results and discussion

Abrasive effect for wear test on particle size distribution

Miura and Takeda made metallic alloy to be a sample and used glass tube for preparation of the specimen⁹⁾. However, we used glass column in order to apply the load, because the specific gravity of PLLA is smaller than that of their metallic alloys (Fig. 1A). They also used alumina or zirconia balls of the 3 mm diameter that were covered in the bottom of vessel as an abrasive⁹⁾. Though the wear test of PLLA was performed using alumina balls as the abrasive, large numbers of alumina debris were also derived as well as PLLA debris. There was no problem in their study, even if the alumina wear debris existed, because the alumina debris were almost eliminated by filtration, and they performed the cytotoxicity test of the extract of metallic alloy⁹⁾. The cause of the derivation of alumina debris was seemed for the abrasive alumina balls to move with the PLLA specimen in the vessel. Therefore, in the present study, the waterproof abrasive paper was fixed in the bottom plane of the vessel, and only the PLLA specimen was moved in the vessel (Fig. 1B).

The effect of the roughness of the abrasive paper was investi-

gated by the measurement of the particle size distribution of PLLA wear debris. Figure 2 showed the particle size distribution obtained by use of #400, #600 or #800 abrasive paper. Each line showed the mean diameter that was obtained with 3 times experiments. When the rough abrasive paper was used, the particle size distribution shifted toward the larger diameter size. There was the reasonable relation between the roughness of the abrasive paper and particle size distribution of PLLA wear debris. The abrasive paper of various material and roughness had been marketed, therefore it was possible to apply our present method using the abrasive paper to the wear test of various samples. The roughest #400 abrasive paper, which derived the larger debris among them, was used in the present study, because it was possible that smaller debris were derived from γ -ray irradiated PLLA.

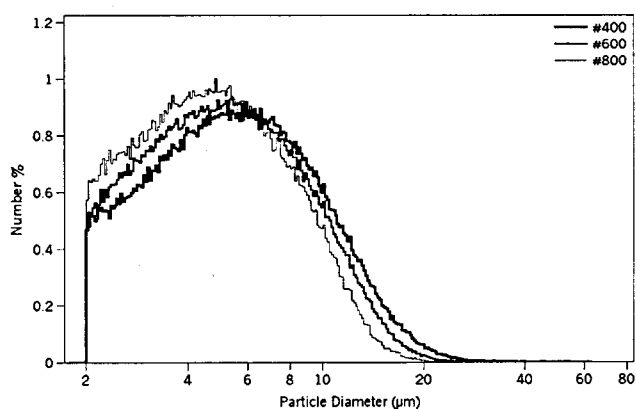


Fig. 2. The particle size distribution of PLLA wear debris obtained by the use of #400, #600 or #800 abrasive paper. Each line showed the mean diameter in 3 times experiments.

Particle size distribution of wear debris derived from γ -ray irradiated PLLA

The wear test of γ -ray irradiated PLLA was performed, and the particle size distribution of wear debris was measured by Coulter counter analysis. Figure 3 showed the particle size distributions of wear debris derived from irradiated PLLA. The center line showed the mean and the vertical width showed the mean \pm 2 S.D. ($n = 9$). With the increasing irradiation dose, the particle size distribution of wear debris derived from irradiated PLLA shifted toward the smaller diameter size. The relationship between the irradiation dose of PLLA and the mean diameter of PLLA wear debris was shown in Figure 4. The mean diameter of PLLA wear debris was decreased 9.3% by irradiation at 50 kGy. The mean diameter of PLLA wear debris significantly decreased ($P < 0.0001$ by ANOVA) with the increasing irradiation dose. The tensile strength of irradiated PLLA also decreased with the increasing irradiation dose (Shimadzu Co., unpublished data). When the abrasive wore the PLLA specimen, the surface of PLLA would

be easily cracked, because the tensile strength was lower. In fact, the minute crack had been observed on the surface of the 50 kGy irradiated PLLA disk, microscopically. Therefore, the decrease of tensile strength of PLLA by the γ -irradiation caused the decrease in particle diameter of PLLA wear debris.

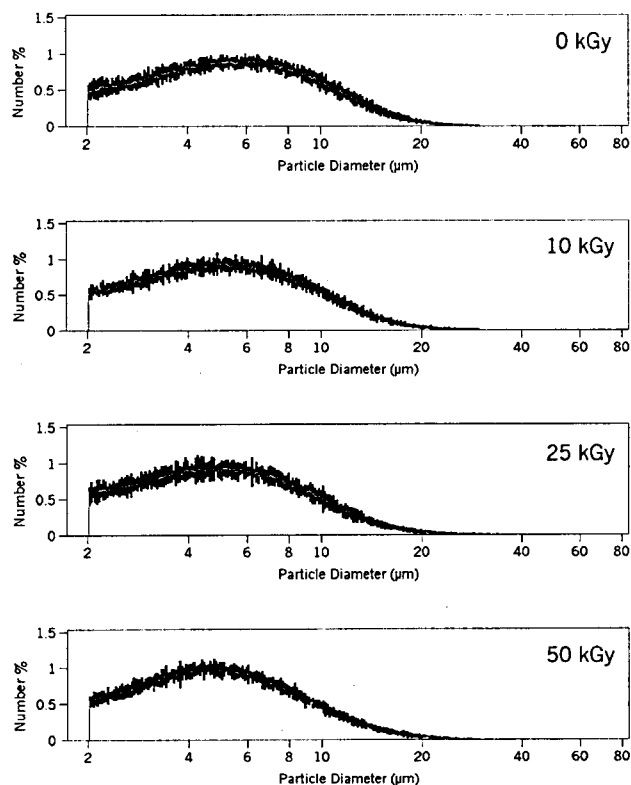


Fig. 3. The particle size distribution of wear debris derived from γ -irradiated PLLA

The center line showed the mean, and the vertical width showed the mean \pm 2 S.D. ($n = 9$).

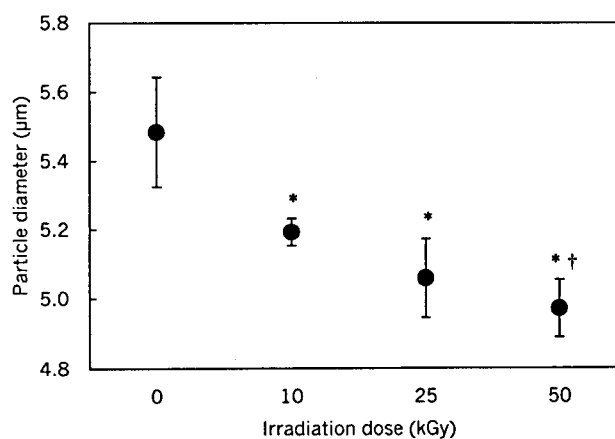


Fig. 4. The effect of γ -ray irradiation on particle size distribution of PLLA wear debris

* Significant difference compared with unirradiated PLLA at $P < 0.01$.
 † Significant difference compared with 10 kGy irradiated PLLA at $P < 0.01$.

Molecular weight of γ -ray irradiated PLLA

The molecular weight of γ -ray irradiated PLLA was determined by GPC. Figure 5 showed the Mw and polydispersity index of irradiated PLLA at the dose of 10, 25 or 50 kGy. The Mw of irradiated PLLA extremely decreased with the increasing irradiation dose. The Mw of 271,000 of unirradiated PLLA was decreased to 95,000 by irradiation at 50 kGy. In contrast, the polydispersity index of irradiated PLLA was confined to the slight increase with the increasing irradiation dose, compatible with a random cleavage in the degradation mechanism^{10,11}. Yoshioka *et al.* reported γ -irradiation of PLLA caused random cleavage of molecular chain with hydrolysis of ester bonds^{12,13}. In addition, they detected decomposition products having a molecular weight higher than lactic acid in alkali hydrolysis products of irradiated PLLA, and they suggested crosslinkage of molecular chain also occurred^{12,13}. We also analyzed of irradiated PLLA by high performance liquid chromatography after alkali hydrolysis. However, the quantity of decomposition products having a molecular weight higher than lactic acid was extremely slight (data not shown). Otto *et al.* also observed that the molecular weight of PLLA was decreased from 160,000 to 35,200 by γ -irradiation at 25 kGy¹⁴. Thus, γ -ray irradiation caused cleavage for molecular chain and decreased the molecular weight of PLLA. The tensile strength would have decreased as a result of the molecular weight lowering of irradiated PLLA.

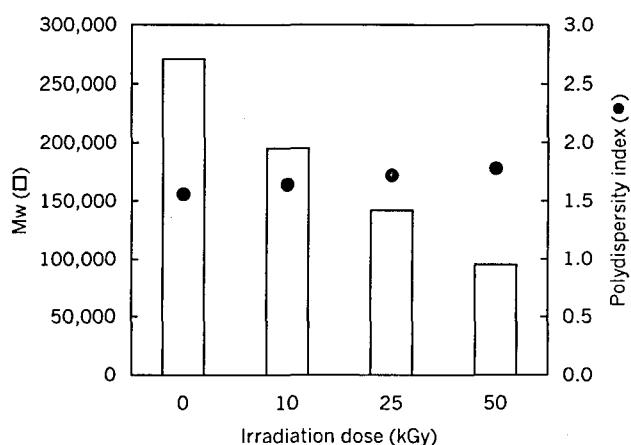


Fig. 5. The effect of γ -ray irradiation on the molecular weight and polydispersity index of PLLA

The bar showed the weight average molecular weight (Mw) and the circle showed the polydispersity index of PLLA.

Conclusions

The change in the particle size distribution of PLLA wear debris by γ -ray irradiation could be evaluated using the present method. As the results, with the increasing irradiation dose, the particle size distribution of PLLA wear debris shifted toward the

smaller diameter size, and the mean diameter of PLLA wear debris significantly decreased. In addition, the molecular weight of PLLA also decreased with the increasing irradiation dose. It was indicated that the lowering of the molecular weight by γ -irradiation caused the decrease in tensile strength of irradiated PLLA and the particle size of PLLA wear debris derived from irradiated PLLA.

References

- 1) Chiesa, R., Tanzi, M.C., Alfonsi, S., Paracchini, L., Moscatelli, M. and Cigada, A.: *J. Biomed. Mater. Res.*, **50**, 381-387 (2000)
- 2) Vermes, C., Roebuck, K.A., Chandrasekaran, R., Dobai, J.G., Jacobs, J.J. and Glant, T.T.: *J. Bone Miner. Res.*, **15**, 1756-1765 (2000)
- 3) Yamamoto, K., Clarke, I.C., Masaoka, T., Oonishi, H., Williams, P.A., Good, V.D. and Imakiire, A.: *J. Biomed. Mater. Res.*, **56**, 65-73 (2001)
- 4) Krell, K., Jacobson, E.D. and Selby, K.: *In Vitro*, **15**, 326-328 (1979)
- 5) Gogolewski, S. and Mainil-Varlet, P.: *Biomaterials*, **17**, 523-528 (1996)
- 6) Isama, K., Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: Proceedings of the 20th Annual Meeting of the Japanese Society for Biomaterials, pp135 (1998)
- 7) Isama, K., Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: Proceedings of the 28th Symposium on Medical Polymers, pp72-73 (1999)
- 8) Isama, K. and Tsuchiya, T.: to be published in *J. Biomater. Sci. Polymer Edn.*
- 9) Miura, Y. and Takeda, S.: *J. Jpn. Dent. Mater.*, **14**, 253-264 (1995)
- 10) Reich, G.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **45**, 165-171 (1998)
- 11) Mohr, D., Wolff, M. and Kissel, T.: *J. Control. Release.*, **61**, 203-217 (1999)
- 12) Yoshioka, S., Aso, Y., Otsuka, T. and Kojima, S.: *Radiat. Phys. Chem.*, **46**, 281-285 (1995)
- 13) Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: *J. Control. Release.*, **37**, 263-267 (1995)
- 14) Otto, T.E., Patka, P., Haarman, H.J.Th.M., Klein, C.P.A.T. and Vriesde, R.: *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **5**, 407-410 (1994)

糖鎖含有タンパク製剤の品質評価試験法に関する研究 (III)

— エリスロポエチン製剤 その 3

伊藤さつき#, 川崎ナナ, 太田美矢子, 日向昌司, 日向須美子, 早川堯夫

Study on evaluating methods for the quality control of glycoprotein products. (III)

— Erythropoietin products. Part 3

Satsuki Itoh#, Nana Kawasaki, Miyako Ohta,
Masashi Hyuga, Sumiko Hyuga and Takao Hayakawa

We reported previously that peptide mapping using high-performance liquid chromatography with electrospray ionization mass spectrometry (LC/MS) and liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) are useful for determination of the glycosylation sites, carbohydrate structure, and site-specific carbohydrate heterogeneity of glycoproteins. Here, with intention to enhance the sensitivity and shorten the time-span of analysis to characterize glycoproteins, especially biotechnological products with carbohydrate moieties, we studied the introduction of HPLC with a microbore column to LC/MS with recombinant erythropoietin (rh-EPO). In addition, we evaluated the ability of LC/MS/MS precursor-ion scanning to make identification of glycopeptides and facilitate the analysis of carbohydrate moieties. We found that the peptide mapping with microbore HPLC is highly sensitive and more rapid than the previous method, and the precursor-ion scanning is helpful for identifying glycopeptides. Our results indicate that these methods are very useful for characterization and quality control of the carbohydrate moieties of biotechnological products.

Keywords: erythropoietin, LC/MS, LC/MS/MS, precursor-ion scan, quality control

緒 言

近年、バイオテクノロジーを応用し、生理活性をもつ多くの糖タンパク質が、医薬品として、開発・製造されている。遺伝子組換えにより生産された糖タンパク質の糖鎖部分の構造は、産生細胞の種類、発現方法、培養条件等によって異なり、不均一性を示すことが知られている。また、糖鎖部分の構造は、生物活性、体内動態及び安定性に深く関わっていることも報告されている^{1)~3)}。したがって、糖タンパク質の糖鎖部分の構造解析法を開発することは、糖タンパク質性医薬品の特性を解析するためだけでなく、品質を確保していくためにも重要な課題となっている。

エリスロポエチン (EPO) は、腎臓で産生される赤血球前駆細胞の分化増殖を調節する糖タンパク質であり、現在、組換え型ヒト EPO (rh-EPO) が、貧血治療を目的に使用されている。EPO には、Asn24, 38 及び 83 に結合する N-結合型糖鎖が 3 本と Ser126 に結合する O-結合型糖鎖が 1 本存在し、N-結合型糖鎖は、その生物活性や体内動態に深く関係していることが報告されている^{4), 5)}。そのため、結合糖鎖の構造と分布を明らかにすることはもちろんのこと、各結合部位

の糖鎖の不均一性を解析することは、非常に重要である。

各結合部位の糖鎖不均一性の解析法として、我々は、LC/MS を用いたペプチドマッピング法を検討し、rh-EPO の糖鎖結合部位、各部位に付加している多数の糖鎖の種類と不均一性を解析できることを報告している^{6)~8)}。一方、Carr らは、LC/MS/MS を用いたペプチドマッピングにおいて、特有のフラグメントをもつ親イオンを検出することが可能なプリカーサーイオンスキャン測定法を用いることにより、糖ペプチドを選択的に検出できること、また、LC/MS により得られたマススペクトルと同様、プリカーサーイオンスキャン測定から得られたプリカーサーイオンマススペクトルからも、結合糖鎖についての情報 (結合糖鎖の種類、不均一性) を得ることが可能であることを示している^{9)~11)}。

今回、我々は、LC/MS を用いたペプチドマッピングによる糖タンパク質性医薬品の糖鎖構造及び部位特異的不均一性の解析法のさらなる高感度化及び迅速化を図るため、rh-EPO を用いて、LC/MS の HPLC 部分へのマイクロ HPLC システムの導入を検討した。また、ペプチドマッピングにおける糖ペプチドの特定及び各糖鎖結合部位における糖鎖の不均一性の解析を容易にするため、プリカーサーイオンスキャン測定の有用性について検討を行った。

実験方法

1. 試薬

To whom correspondence should be addressed: Satsuki Itoh; Kamiyoga 1-18-1 Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-9074; Fax 03-3700-9084 E-mail: itoh@nihs.go.jp

rh-EPO は, BHK 細胞で産生させ, 精製したものをを用いた. エンドプロテイナーゼGlu-Cは, ベーリンガーマンハイム(株)社製を使用した.

2. 装置

HPLC: MAGIC 2002 システム (Michrom BioResource 社製)

MS: エレクトロスプレーイオン化トリプルステージ四重極MS/MS システム TSQ 7000 (Finnigan 社製)

3. ペプチド及び糖ペプチドの調製

rh-EPO 1 mg を 100 mM 酢酸アンモニウム溶液, pH8.0, 1 ml に溶解させた. これに, エンドプロテイナーゼGlu-C 0.25 mg を 62 μ l の 100 mM 酢酸アンモニウム溶液, pH5.6 に溶解させたものに加え, 37°C で 20 時間反応させた.

4. ミクロLC/MSによるペプチドマッピング

HPLC

カラム: MAGIC C18

(Michrom BioResource 社製, 1.0 \times 150 mm, 5 μ)

溶離液 A: 0.05% TFA を含む 2% アセトニトリル水溶液

溶離液 B: 0.05% TFA を含む 80% アセトニトリル水溶液

グラジエントプログラム: B液 5 ~ 45% (0 ~ 40分)

45 ~ 5% (40 ~ 41分)

5% (41 ~ 50分)

流速: 50 μ l/分

UV 検出波長: 206 nm

ESI-MS

測定モード: ポジティブイオンモード

シースガス: 70 psi

オグジナリーガス: 10 unit

キャピラリー温度: 225°C

マルチプライヤー: 1,200 V

ESI 電圧: 4,500 V

スキャン範囲: 400-2,400

スキャン回数: 4 秒

5. ミクロLC/MS/MS, プリカーサーイオンスキャン測定による糖ペプチドマッピング

HPLC

4. に準ずる.

Collision induced dissociation (CID)-ESI-MS/MS

測定モード: ポジティブイオンモード

シースガス: 70 psi

オグジナリーガス: 10 unit

キャピラリー温度: 225°C

マルチプライヤー: 1,500 V

ESI 電圧: 4,500 V

スキャン範囲: 400-2,400

スキャン回数: 4 秒

衝突ガス: Ar, 2.0 mTorr

衝突エネルギー: -20 V

Set MS: 204

結 果

1. ミクロLC/MSを用いたペプチドマッピング

rh-EPO をエンドプロテイナーゼGlu-Cで消化し, 消化物 2 μ g について, ペプチドマッピングを行った. 得られた UV クロマトグラム (検出波長 206 nm) 及び total ion current (TIC) クロマトグラムを Fig. 1 に示す. 試料量は, 従来のセミマイクロ HPLC システムを用いた場合の 1/5 量であったが, 同様のクロマトグラムが得られた. クロマトグラム中のピークについて, 保持時間の早い順に a から i とした. マススペクトルから得られた分子量の計算値と rh-EPO のアミノ酸配列から計算されるペプチドの理論分子量と照合することにより, ピーク a, b, e 及び g については, それぞれペプチド E8, E2, E1 及び E7 と同定した (Table 1). ピーク i については, E9, E11 及び E13 の 3 ペプチドが同時に溶出したものであることが判った. また, ピーク c, d, f 及び h については, 得られたマススペクトルは複雑であった (Fig. 2). ピーク f については, ペプチド E3 に相当するイオン (f_4^+) を検出したが, 他に, ペプチドの理論分子量と照合しても帰属できないイオンが, 数種検出された (Fig. 2(C)). このことから, ピーク f は, ペプチド E3 と糖ペプチド等のペプチド以外のものが同時に溶出したものであることが示唆された. ピーク c, d 及び h については, ペプチドを特定することがで

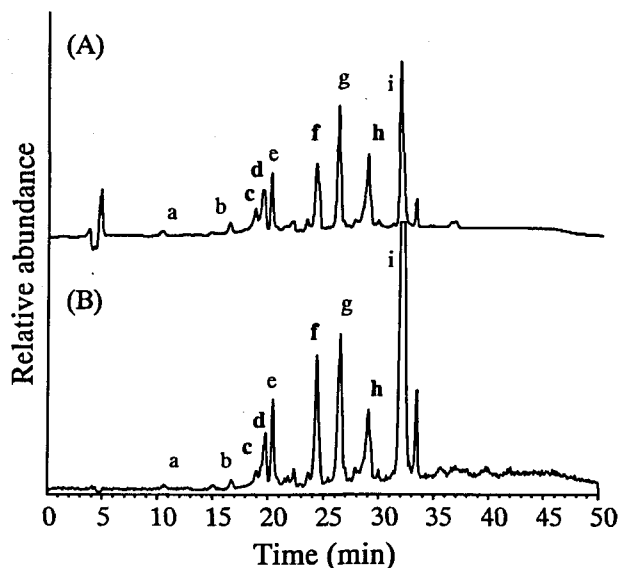


Fig. 1. UV chromatogram at 206 nm (A) and TIC chromatogram (B) of rh-EPO Glu-C digest

きず、ペプチドが翻訳後修飾(糖鎖付加等)されていることが示唆された (Fig. 2).

Table 1

Glu-C peptide numbers and amino acid residues of peaks in Fig. 1 and their theoretical masses and observed masses

Peak in Fig. 1	Peptide No.	Amino acid residues	Theoretical mass ^a	Observed mass
a	E8	56-62	729.8	729.4
b	E2	9-13	602.7	602.4
c	E6 ^b	38-43		
d	E5 ^b	22-37		
e	E1	(1-8)S-S(160-165)	1503.8	1503.2
f	E3	14-18	692.8	692.4
	E12 ^b	118-136		
g	E7	44-55	1572.8	1572.4
h	E10 ^b	73-96		
i	E9	63-72	1115.3	1114.9
	E11	97-117	2212.6	2212.5
	E13	137-159	2837.4	2837.1

^a Average m/z value.

^b Glycopeptide.

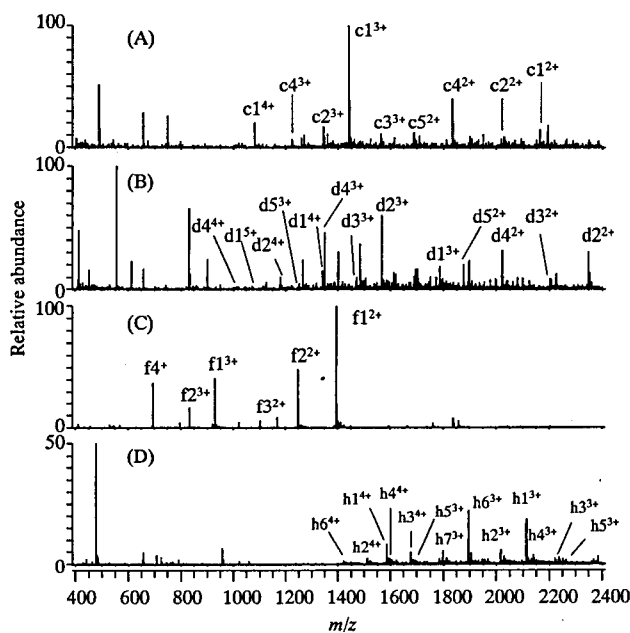


Fig. 2. Mass spectra of peak c (A), peak d (B), peak f (C) and peak h (D) in Fig. 1

2. ミクロ LC/MS/MS, プリカーサーイオンスキャン測定による糖ペプチドマッピング

1. の結果より、ピーク c, d, f 及び h は、糖鎖が付加されていることが示唆された。これらのピークが、糖ペプチドであることを確認し、ペプチドを同定し、結合糖鎖の構造を解析するために、ミクロ LC/MS/MS のプリカーサーイオンスキャン測定による糖ペプチドマッピングを行った。本分析では、プリカーサーイオンに *N*-結合型糖鎖及び *O*-結合型糖鎖の共通構成糖である HexNAc⁺ (GlcNAc⁺ 又は GalNAc⁺, m/z 204) を設定した。rh-EPO のエンドプロテイナーゼ Glu-C 消

化物 8 μ g について、プリカーサーイオンスキャン測定を行った結果、ピーク c, d, f 及び h の溶出時間に一致する 4 本のピークが得られ (Fig. 3), これらのピークが糖ペプチドであり、ピーク f はペプチド E3 と糖ペプチドが重なったものであることが判った。これらの情報をもとに、Fig. 1 のピーク c, d, f 及び h のマスペクトルを解析した。ペプチドマッピングで帰属できなかったペプチド (E5, E6, E10 及び E12) 及び *N*-結合型糖鎖の理論分子量を組み合わせ、糖ペプチドの理論分子量を算出し、各マスペクトルのイオンの m/z 値と照合することにより、各ピークについてペプチドの同定及び結合糖鎖の解析を行った。その結果、ピーク c は、Asn38 を含むペプチド E6 に、3 本鎖及び 4 本鎖の糖鎖が結合した糖ペプチドであり、糖鎖の分岐構造及びシアル酸結合数に不均一性を示すことを確認した (Fig. 2)。同様に、ピーク d は、Asn24 を含むペプチド E5 に、2 本鎖、3 本鎖及び 4 本鎖の糖鎖が結合した糖ペプチド、ピーク h は、Asn83 を含むペプチド E10 に 3 本鎖及び 4 本鎖の糖鎖が結合した糖ペプチドであり、共に糖鎖の分岐構造及びシアル酸結合数に不均一性を示すことを確認した。ピーク f は、*N*-結合型糖鎖の理論分子量との組み合わせから得られた糖ペプチドの理論分子量に一致するマスペクトルのイオンを検出することができず、*O*-結合型糖鎖が結合していると考えられた。*O*-結合型糖鎖及びペプチドの理論分子量との組み合わせから、ピーク f は、Ser126 を含むペプチド E12 に、Hex-HexNAc (core 1 構造) が結合した糖ペプチドであり、シアル酸結合数に不均一性を示すことを確認した。以上の解析結果をまとめると、Fig. 3 で示したピークのイオンは Table 2 のように帰属された。

また、糖ペプチドのプリカーサーイオンマスペクトルか

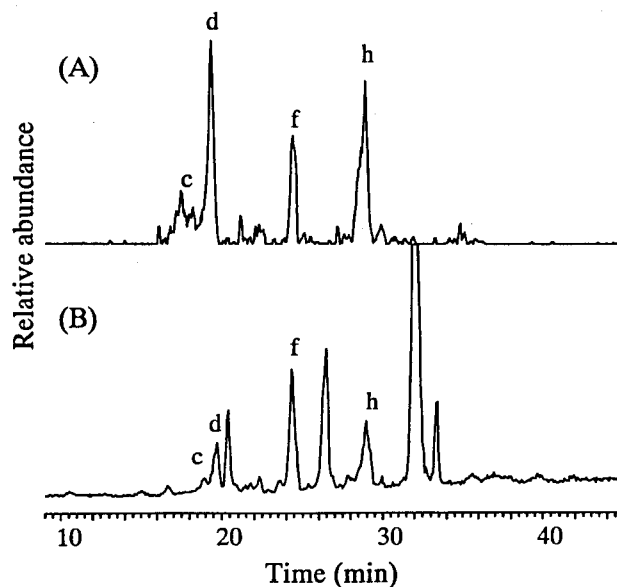


Fig. 3. TIC chromatogram of precursor-ion scan of m/z 204 (A) and TIC chromatogram (B) of rh-EPO Glu-C digest

ら、結合糖鎖についての解析を試みたが、*N*-結合型糖鎖を含む3つの糖ペプチド（ピークc, d及びh）のプリカーサーイオンマススペクトルは複雑で解析することはできなかった（データ示さず）。しかしながら、*O*-結合型糖鎖を含むピークfのプリカーサーイオンマススペクトルでは、同時に溶出していたペプチドE3のイオンは消失しており（Fig. 4）、マイクロLC/MSから得られたマススペクトル（Fig. 2）と同様

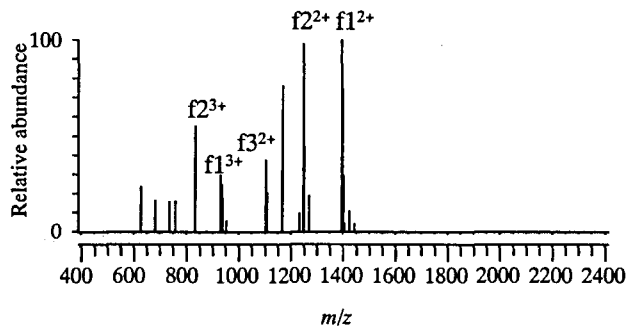


Fig. 4. Precursor-ion (m/z 204) mass spectrum of peak f in Fig. 3

に解析することが可能であった。

考 察

今回、我々は、糖タンパク質性医薬品の特性解析及び品質評価におけるLC/MSによるペプチドマッピングの有用性を高めるため、マイクロHPLCシステムの導入による分析の高感度化、迅速化及びプリカーサーイオンスキャン測定法の導入による解析の簡便化を検討した。

rh-EPOをエンドプロテイナーゼGlu-Cで消化後、マイクロLC/MSシステムを用いて、ペプチドマッピングを行った結果、セミマイクロHPLCシステムを用いたrh-EPOの分析結果と比較して⁷⁾、試料量が、従来の1/5量でも同様のクロマトグラムが得られ、分析所要時間は、約1/3となり、高感度化及び迅速化を図ることができた。微量化及び分析時間の短縮化を図っても酵素消化によって得られる12ペプチドのうち、8ペプチドをTICクロマトグラム上で帰属することができ、4ペプチドについては、糖鎖が結合していることを予測することができた。

次に、マイクロLC/MS/MSのプリカーサーイオンスキャン測

Table 2

Structural assignments of ions in Fig. 3 and their theoretical masses and observed m/z values

Peak in Fig. 3	Peptide No.	Amino acid residues	Carbohydrate structure ^a	Theoretical mass ^b	Observed m/z				
					M ⁺	M ²⁺	M ³⁺	M ⁴⁺	M ⁵⁺
c1	E6	38-43	Tetra-NA ₄	4323.0		2161.7	1441.7	1081.8	
c2			Tetra-NA ₃	4031.8		2016.9	1344.5		
c3			Tetra-Lac-NA ₄	4688.4			1562.9		
c4			Tri-NA ₃	3666.4		1833.8	1223.2		
c5			Tri-NA ₂	3375.2		1688.4			
d1	E5	22-37	Tetra-NA ₄	5355.2			1785.0	1340.0	1072.2
d2			Tri-NA ₃	4698.6		2348.9	1567.2	1175.1	
d3			Tri-NA ₂	4407.4		2203.5	1470.0		
d4			Bi-NA ₂	4042.1		2020.8	1348.0	1011.2	
d5			Bi-NA	3750.8		1876.0	1251.7		
f1	E12	118-136	Hex-HexNAc-NA ₂	2786.0		1394.3	929.3		
f2			Hex-HexNAc-NA	2494.7		1248.4	832.4		
f3			Hex-HexNAc	2203.4		1102.7			
f4	E3	14-18		692.8	693.4				
h1	E10	73-96	Tetra-NA ₄	6336.4			2112.6	1585.1	
h2			Tetra-NA ₃	6045.2			2016.1	1512.7	
h3			Tetra-Lac-NA ₄	6701.8			2234.2	1676.3	
h4			Tetra-Lac-NA ₃	6410.5			2138.9	1605.8	
h5			Tetra-Lac ₂ -NA ₃	6775.9			2261.5	1695.1	
h6			Tri-NA ₃	5679.8			1893.9	1421.1	
h7			Tri-NA ₂	5388.6			1797.0		

^a All carbohydrates contain a fucosylated core. Bi, bianttenary; Tri, trianttenary; Tetra, tetraanttenary; NA, NeuAc; Lac, *N*-acetylactosamine.

^b Average m/z value.

定 (m/z 204) を行うことにより, 多数のイオンの中から, HexNAc のフラグメントを有する親イオンのみを検出し, 溶出時間の比較から, TIC クロマトグラム上の糖ペプチドのピークを簡単に特定することができた. ペプチドと糖ペプチドの分離が不十分で, 同時に溶出している場合にも, 糖ペプチドの検出は可能であった. また, 特定した糖ペプチドの LC/MS のマススペクトルより得られた分子量の計算値とペプチド及び糖鎖の理論分子量の組み合わせから得られた糖ペプチドの理論分子量を照合することによって, ペプチド及び糖鎖結合位置を確認し, 結合糖鎖の部位特異的不均一性について解析することができた.

さらに, プリカーサーイオンスキャン測定から得られたプリカーサーイオンマススペクトルから, 糖鎖構造を解析できるかどうかを検討した. *N*-結合型糖鎖が付加しているペプチド E5, E6 及び E10 のプリカーサーイオンマススペクトルは, 非常に複雑でイオンを帰属することができなかった. これは, 結合糖鎖が多岐に渡り, さらにシアル酸結合数に不均一性を示すためと思われる. しかしながら, *O*-結合型糖鎖が付加しているペプチド E12 のように, 結合糖鎖が 1 種類の場合は, プリカーサーイオンマススペクトルからも, 結合糖鎖を解析することができた.

前報において, 我々は, High-pH anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAEC 法) を用いて, rh-EPO の糖鎖構造を分析し, HPAEC 法の有用性について検討を行った^{12), 13)}. その結果, HPAEC 法は, EPO 活性に関与している *N*-結合型糖鎖のシアル酸結合数と分岐構造等の変化を比較的高感度で簡便に解析できることがわかった. しかしながら, *O*-結合型糖鎖の分析に関しては, *O*-結合型糖鎖を切り出す万能的な酵素が存在しないために, HPAEC 法を用いる場合, 別途, アルカリ条件下で還元剤を共存させて β 脱離反応により, 糖鎖を遊離させなければならない¹⁴⁾. 今回検討を行った LC/MS 及びプリカーサーイオンスキャン測定は, *O*-結合型糖鎖についても, *N*-結合型糖鎖と同時に, 結合糖鎖の構造と分布を解析できるだけでなく, HPAEC 法では不可能であった糖鎖の結合位置及び各結合部位における糖鎖の不均一性を解析できる.

糖鎖構造 (構成単糖, 分岐構造, 単糖間の結合様式等) を詳細に解析するには, 単糖組成分析, メチル化分析, 2 D マッピング, NMR 測定等を組み合わせて行う必要がある. 今回検討を行ったマイクロ LC/MS を用いたペプチドマッピング法も, 本分析法のみで詳細な糖鎖構造を決定することはできない. しかしながら, 糖の誘導体化のための技術や時間, 多量の試料及び誘導体化糖の標準物質は必要とせず, *N*-結合型糖鎖, *O*-結合型糖鎖に関わらず, 高感度かつ迅速に結合糖鎖の有無, 糖鎖の結合位置及びシアル酸結合数等の糖鎖構造の概略や部位特異的糖鎖の不均一性について等, 多くの情報を得ることが可能である. また, LC/MS/MS のプリカーサーイオンスキャン測定を併用することによって, 試料中の他の成

分が糖ペプチドと同時に溶出する場合や, 多数のペプチドピークによって糖ペプチドが特定できない場合に簡単に糖ペプチドを特定できるため, 解析を簡便化及び迅速化することができる.

マイクロ LC/MS 及びマイクロ LC/MS/MS (プリカーサーイオンスキャン測定) は, 他の糖タンパク質性医薬品にも応用可能であるので, 今後, 品質の評価, 品質の維持・管理等に応用されることが期待される.

謝 辞

本研究は, 創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業の支援を受けて行われたものである.

文 献

- 1) 森本和滋, 内田恵理子, 川崎ナナ, アハメド・アドブ・サイド, 徳永裕司, 春日井勲, 早川堯夫: 医薬品研究, **25**, 405-425(1994)
- 2) 森本和滋, 内田恵理子, 川崎ナナ, アハメド・アドブ・サイド, 徳永裕司, 春日井勲, 早川堯夫: 医薬品研究, **25**, 501-523(1994)
- 3) Hayakawa, T.: "Drug Biotechnology Regulation", eds. by Chiu, YH. and Gueriguian, JL., MARCEL DEKKER, INC., New York, pp.468-498(1991)
- 4) Imai, N., Higuchi, M., Kawamura, A., Tomonoh, K., Oh-eda, M., Fujiwara, M., Shimonaka, Y. and Ochi, N.: *Eur. J. Biochem.*, **194**, 457-462(1990)
- 5) Misaizu, T., Matsuki, S., Strickland, TW., Takeuchi, M., Kobata, A., and Takasaki, S.: *Blood*, **86**, 4097-104(1995)
- 6) Kawasaki, N., Ohta, M., Hyuga, S., Hashimoto, O. and Hayakawa, T.: *Anal. Biochem.* **269**, 297-303(1999)
- 7) Kawasaki, N., Ohta, M., Hyuga, S., Hyuga, M., and Hayakawa, T.: *Anal. Biochem.* **285**, 82-91(2000)
- 8) Ohta, M., Kawasaki, N., Hyuga, S., Hyuga, M., and Hayakawa, T.: *J. Chromatogr. A*, **910**, 1-11(2001)
- 9) Huddleston, MJ., Bean, MF., and Carr, SA.: *Anal. Chem.*, **65**, 877-884(1993)
- 10) Carr, SA., Huddleston, MJ., and Bean, MF.: *Protein Sci.*, **2**, 183-196(1993)
- 11) Annan, RS. and Carr, SA.: *J. Protein Chem.*, **16**, 391-402(1997)
- 12) 川崎ナナ, 森本和滋, 早川堯夫: 衛生試験, **113**, 69-73(1995)
- 13) 川崎ナナ, 太田美矢子, 日向須美子, 橋本統, 森本和滋, 早川堯夫: 衛生試験, **116**, 117-121(1998)
- 14) Kotani, N., and Takasaki, S.: *Anal. Biochem.* **252**, 40-47(1997)

平成12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*・海野有紀子・天倉吉章・中村優美子・外海泰秀

Estimated Production by the Official Inspection of Tar Colors
(Including Aluminum Lakes) in Fiscal Year 2000

Sumiko Tsuji*, Yukiko Umino, Yoshiaki Amakura,
Yumiko Nakamura and Yasuhide Tonogai

There were 176 official inspections of tar colors and their lakes in fiscal year 2000, and 175 samples were qualified.

The quantity of tar colors that passed inspection in Japan in fiscal year 2000 reached 137.5 tons. Tar color production is estimated by month and by manufacturer. The food tar color produced in the largest quantity was Food Yellow No. 4, accounting for 43.4% during this period.

Keywords : production, food color, tar color, official inspection, aluminum lake

食品用の着色料は近年天然着色料の使用が延びてきているが、合成着色料としては主にタール色素が今だ汎用されている。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、一括して、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。申請件数はタール色素のロットサイズの規制が無制限になった¹⁾平成10年度(F. Y. 1998) 284件から徐々に減少傾向であり²⁾、平成11年度(F. Y. 1999) 260件、平成12年度(F. Y. 2000)は176件に減少し

Table 1. Application number according to prefecture on the official inspections of tar colors

Prefecture	F. Y. 2000		F. Y. 1999	
	Application times	Sample number	Application times	Sample number
Osaka	20	78	25	130
Saitama	20	71	18	87
Tokyo	9	12	8	20
Kanagawa	5	11	8	21
Shiga	2	4	2	2
Total	56	176	61	260

* 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

Table 2. Monthly permission quantities of tar colors (Unit:kg)

Dye	Application month												F. Y. 2000		F. Y. 1999		
	2000												Total	Ratio(%)	Total	Ratio(%)	
	April	May	June	July	August	September	October	November	December	January	February	March					
R-2	---	---	---	---	---	---	500	---	---	770	---	---	---	1270	0.92	2335	1.54
R-3	580	250	920	300	1120	860	300	---	---	300	---	400	---	5030	3.66	5311.15	3.50
R-40	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	0	895.2	0.59
R-102	5155	2400	4040	2670	2275	2100	6210	---	---	3200	4420	3530	900	36900	26.84	32325.25	21.27
R-104	400	700	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	500	1600	1.16	2200	1.45
R-105	---	---	---	---	90	---	---	---	---	---	---	---	---	90	0.07	58	0.04
R-106	360	200	---	300	200	400	721	600	---	---	---	450	500	3731	2.71	4726.4	3.11
Y-4	5730	4335	8800	5695	2935	5625	3125	2700	4904	6970	2700	6080	2700	59599	43.35	67137.25	44.18
Y-5	2040	800	2580	600	2515	859.9	2160	1200	1320	1590	1390	1860	1390	18914.9	13.76	21960.2	14.45
G-3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	0	0	0
B-1	645	380	500	1145	300	---	598	---	100	---	---	900	---	4568	3.32	5044.65	3.32
B-2	---	---	300	---	---	---	---	---	---	450	---	500	---	1250	0.91	820	0.54
R-2A1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	0	0	0
R-3A1	601	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	720	---	1321	0.96	1101	0.72
R-40A1	---	---	38	---	---	5.4	---	---	---	---	---	---	---	43.4	0.03	34.3	0.02
Y-4A1	---	---	---	---	---	5.4	---	---	850	---	---	---	---	855.4	0.62	3139.425	2.07
Y-5A1	---	---	---	910	---	---	---	---	---	---	---	---	---	910	0.66	2879	1.90
G-3A1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	0	0	0
B-1A1	---	863	---	---	---	350	---	---	---	---	---	---	---	1213	0.88	1671.85	1.10
B-2A1	---	---	---	---	---	3.6	---	---	---	---	---	200	---	203.6	0.15	307	0.20
F. Y. 2000																	
Total	15511	9928	17178	11620	9435	10209.3	13614	4500	11594	13280	6390	14240	137499.3	---	---	---	---
Monthly ratio(%)	11.28	7.22	12.49	8.45	6.86	7.43	9.90	3.27	8.43	9.66	4.65	10.36	100.00	---	---	---	---
F. Y. 1999																	
Total	15915.25	12380.15	11714.3	19570.7	5185	14025	11635	17747.9	13561	14377.7	2443.975	13390.2	151946.175	---	---	---	---
Monthly ratio(%)	10.47	8.15	7.71	12.88	3.41	9.23	7.66	11.68	8.93	9.46	1.61	8.81	100.00	---	---	---	---

Table 3. The permission quantities of tar colors according to manufacturers (Unit:kg)

Dye	Manufacturer										
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
R-2	770	---	500	---	---	---	---	---	---	---	---
R-3	2710	600	300	620	---	800	---	---	---	---	---
R-40	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
R-102	7160	18300	6025	1050	---	---	4365	---	---	---	---
R-104	---	800	---	---	---	800	---	---	---	---	---
R-105	---	---	90	---	---	---	---	---	---	---	---
R-106	796	900	450	760	---	300	525	---	---	---	---
Y-4	13744	30200	9395	1190	---	1000	4390	---	450	---	---
Y-5	8620	3300	3390	2280	---	---	550	---	---	4.9	---
G-3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B-1	1943	1500	570	80	---	---	---	300	175	---	---
B-2	300	150	800	---	---	---	---	---	---	---	---
R-2A1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
R-3A1	1321	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
R-40A1	38	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Y-4A1	850	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Y-5A1	910	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
G-3A1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B-1A1	1063	150	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B-21	200	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
						3.6					
F. Y. 2000											
Total	40425	55900	21520	5980	14.4	2900	9830	300	625	4.9	
Ratio(%)	29.400	40.655	15.651	4.349	0.010	2.109	7.149	0.218	0.455	0.004	
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	

(Table 1), 合格検体は175件であった。また、各保健所からの申請手続き回数も、平成10年度(F. Y. 1998)68回²⁾、平成11年度(F. Y. 1999)61回、平成12年度(F. Y. 2000)56回と減少した。

平成12年度(F. Y. 2000)に申請された検体の内訳は、食用赤色2号(R-2), 2; 食用赤色3号(R-3), 11; 食用赤色102号(R-102), 37; 食用赤色104号(R-104), 4; 食用赤色105号(R-105), 1; 食用赤色106号(R-106), 12; 食用黄色4号(Y-4), 52; 食用黄色5号(Y-5), 24; 食用青色1号(B-1), 16; 食用青色2号(B-2), 4; 食用赤色3号アルミニウムレーキ(R-3A1), 2; 食用赤色40号アルミニウムレーキ(R-40A1), 2; 食用黄色4号アルミニウムレーキ(Y-4A1), 2; 食用黄色5号アルミニウムレーキ(Y-5A1), 2; 食用青色1号アルミニウムレーキ(B-1A1), 3; 食用青色2号アルミニウムレーキ(B-2A1), 2検体であり、Y-5A1の1検体が不合格であった。

タール色素及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(JSFA-VII)³⁾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(ろ紙クロマトグラフィーによる)、副成色素、未反応原料及び反応中間体[高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による]]及び乾燥減量の規格値が設定されている。タール色素中アゾ色素及びアゾ色素レーキの内、食用赤色40号(R-40)及びR-40A1にはHPLCによる純度試験法が設定されていた⁴⁾が、JSFA-VIIでは新たにR-40以外の4つのアゾ色素(R-2, R-102, Y-4, Y-5)の純度試験としてHPLCによる試験法が追加された⁵⁾。他の4つのアゾ色素レーキの純度試験はろ紙クロマトグラフィーによる他の色素の規制のみである。JSFA-VIIに追加された試験法³⁾は施行に際し1年間の猶予期間が設けられていたため、平成12年度から製品検査の1項目として実施された。

申請されたY-5A1の2検体のうち1検体にろ紙クロマトグラフィーによる他の色素のスポットが認められ不合格となった⁶⁾が、製造に使用したY-5はJSFA-VIIの規格に合致していると考えられ、Y-5A1についてJSFA-VIIの早急な改正が必要であると思われた。

合格した検体の中で、R-40A1の確認試験の1つである極大吸収波長測定においてJSFA-VIIの方法に従っても測定条件によっては規格からはずれる問題⁶⁾が生じ、測定試料溶液調製法の改善が必要であった。したがって、Y-5A1の純度試験と同様、R-40A1の確認試験についてもJSFA-VIIの改正が必要と考えられた。

平成12年度(F. Y. 2000)に申請された176検体の内、合格した175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。

総量は160.7トン(平成9年度;F. Y. 1997)⁷⁾、150.3トン(平成10年度;F. Y. 1998)²⁾、151.9トン(平成11年度;

F. Y. 1999)⁸⁾と少しずつ減少傾向を示したが、平成12年度(F. Y. 2000)は137.5トンと前年度と比較して14.4トン減少した。

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、前年度と同じであった。前年度製造されていたR-40は製造されなかった。また、食用緑色3号(G-3)、食用赤色2号アルミニウムレーキ(R-2A1)及び食用緑色3号アルミニウムレーキ(G-3A1)は前年度と同様製造されなかった。

色素別製造量は、第1位のY-4が67.1トン(色素別比率44.2)から59.6トン(43.4%)と減少したのに対して、第2位のR-102は32.3トン(21.3%)から36.9トン(26.8%)と増加した。第3位のY-5は22.0トン(14.5%)から18.9トン(13.8%)と減少した。上位5色素の製造量合計は115.4トンで総製造量の83.9%であった。

製造者別では製造量の多い順にB, A, C, G, D, F社であり、前年度との比較ではA社, B社が逆転し、他は同順位であった。また、申請製造者は前年度と同様10社であった。

製造者別製造量は、B社が55.9トン(製造者別比率40.7%)と、前年度とほぼ変わらなかったのに対し、A社は40.4トン(29.4%)と前年度に比して17.1トンの著明な減少であった。C社は3.4トンの増加で21.5トン(15.7%)であり、G社は逆に5.3トンの減少の9.8トン(7.1%)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) Tsuji, S., Okada, M., Matsumura, I., Nakamura, Y. and Tonogai, Y.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 185-188 (1999)
- 3) "Japan's Specifications and Standards for Food Additives, 7th ed.", eds. by Ministry of Health and Welfare, Japan pp. 25-34, 294-315 (1999)
- 4) "The Japanese Standards for Food Additives, 6th ed.", eds. by Ministry of Health and Welfare, Japan pp. 29-38, 307-333 (1992)
- 5) Tsuji, S., Umino, Y., Nakamura, Y. and Tonogai, Y.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **119**, 77-80 (2001)
- 6) 辻 澄子, 海野有紀子, 天倉吉章, 外海泰秀: 平成12年度食品等試験検査費食品添加物基準及び改良『第7版食品添加物公定書—タール色素試験法等—の見直し』
- 7) Ishimitsu, S., Mishima, I., Tsuji, S., Tonogai, Y. and Shibata, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **116**, 153-156 (1998)
- 8) Tsuji, S., Okada, M., Amakura, Y. and Tonogai, Y.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **118**, 135-138 (2000)

食用黄色5号 (サンセットイエローFCF) アルミニウムレーキの 不適事例について

辻 澄子[#]・海野有紀子・中村優美子・外海泰秀

Studies on Rejected Food Yellow No. 5 (Sunset Yellow FCF) Aluminum Lake

Sumiko Tsuji[#], Yukiko Umino,
Yumiko Nakamura and Yasuhide Tonogai

One out of two sunset yellow FCF aluminum lakes (Y-5AIs) did not comply with the specifications in JSFA-VII in the official inspection of tar colors in fiscal year 2000. A sub-spot was detected in the paper chromatography test. This rejected sample was analyzed by HPLC for the subsidiary color, raw materials and intermediates in Y-5. The sub-spot was identified as sulfanilic acid azo R salt color, and its content was estimated at 4.5% as the content of Y-5 in Y-5AI being 100.0%.

Keywords : sunset yellow FCF, aluminum lake, subsidiary color, paper chromatography, HPLC

緒 言

平成12年度の製品検査において食用黄色5号アルミニウムレーキ(Y-5AI)2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(PC)による〕で付随色素すなわち副成色素が検出され不合格と判定された。

ところで、第7版食品添加物公定書(食添VII)¹⁾では食用黄色5号(Y-5)などのアゾ色素の純度試験として、副成色素、未反応原料及び反応中間体など(有機性不純物)の含量を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により測定して規制することになり、食添VIIの施行から1年間の猶予期間を終え、平成12年度から、それらアゾ色素のHPLC測定を行っている。しかし、アルミニウムレーキでは、純度試験でHPLC法による規制があるのは、現在、食用赤色40号アルミニウムレーキ(R-40AI)のみであり、他のレーキについては、変更されておらず、副成色素をPCで測定するに過ぎない。また、我々はR-40AI中の有機性不純物を測定する際、試験液中のアルミニウム(AI)がHPLCの再現性に悪影響を及ぼすことを指摘し、アンモニアアルカリ性で煮沸する試験液調製法で改善されることを提示し、Y-5AIにも適用できることを明らかにした²⁾。

そこで、今回のY-5AIの不合格品中の有機性不純物について、著者らの提案したアンモニアアルカリ性による試験液調

製法²⁾を用いてHPLCにより測定したところ興味深い結果を得たので報告する。

実験方法

1. 試料

平成12年度製品検査Y-5AI検体2試料(A及びB)。

2. 標品

未反応原料、反応中間体及び副成色素標品：4-アミノベンゼンスルホン酸(スルファニル酸, SA)は試薬特級を、7-ヒドロキシ-1,3-ナフタレンジスルホン酸=二ナトリウム塩(GS), 3-ヒドロキシ-2,7-ナフタレンジスルホン酸=二ナトリウム塩(RS), 6-ヒドロキシ-2-ナフタレンスルホン酸=一ナトリウム塩(SS), 6,6'-オキシピス(2-ナフタレンスルホン酸)=二ナトリウム塩(DONS), 4,4'-(ジアゾアミノ)ジベンゼンスルホン酸=二ナトリウム塩(DAADBS), スルファニル酸アゾG塩色素(SA-G), スルファニル酸アゾR塩色素(SA-R), スルファニル酸アゾβ-ナフトール色素(SA-2N)及びアニリンアゾシェファー塩色素(AN-S)は三栄源エフ・エフ・アイ(株)標品を使用した^{*)}。Y-5標準品：サンセットイエローFCF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用を用いた。その他の試薬は全て

[#] 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

^{*)} 現在、和光純薬工業(株)より合成色素純度試験用標準品(三栄源エフ・エフ・アイ(株))として販売されている。

JIS 特級品を使用した。

4. PC

食添 VII¹⁾に従った。すなわち、試料のタール色素として 0.10g を含む量を量り、酢酸 (1→3) 60ml を加え、沸騰するまで加熱した後、放冷した。次にアセトンを加え 100ml とし、上澄み液を検液とした。検液 2 μl をろ紙にスポットし、n-ブタノール・1%アンモニア溶液・無水エタノール混液 (6:3:2) を展開溶媒としてろ紙クロマトグラフィーを行った。ただし、Y-5 標準品は 0.10g を量り、他の標品は 10mg を量り、水を加えて 100ml とした。

5. HPLC

食添 VII¹⁾のタール色素試験法に準じて Y-5A1 の有機性不純物の HPLC 測定^{2,3)}を行った。

カラム：化学物質評価研究機構製 L-column ODS-5 μm (4.6 mm i. d. × 250mm)、流速：1.0ml/min、検出波長：220nm～600 nm (定量波長：239nm, 358nm, 482nm)、注入量：20 μl。

移動相：A 液, 0.02mol/l 酢酸アンモニウム溶液；B 液, アセトニトリル-水混液 (7:3)。

HPLC 条件 I：カラム温度 30℃で、A:B (100:0) から (42:58) までの直線濃度勾配を 50 分間行い、そのまま 5 分間保持した。

HPLC 条件 II：カラム温度 45℃で、A:B (100:0) で 10 分間保持した後、A:B (100:0) から (42:58) までの直線濃度勾配を 40 分間行い、そのまま 5 分間保持した。

いずれの HPLC 条件においても、次の分析再開前 A 液で 15 分間、カラムの平衡化を行った。

6. 試験液の調製

著者らの提案したアンモニアアルカリ性による試験液調

製法²⁾に従った。すなわち、試料 0.10g を量り、1%アンモニア溶液 60ml を加え、沸騰するまで加熱し、約 40ml に濃縮した後、放冷して遠心した。その上澄み液を採り、残さに水 10ml を加えて、よく混和し、再度遠心分離した。両上澄み液に 0.1mol/l 酢酸アンモニウム溶液 (pH8.0) を加えて、全量を正確に 100ml とし、試験液とし、20 時間以内に HPLC に注入した。

7. 装置

HPLC 装置：日本分光製マルチチャンネル検出器 JASCO

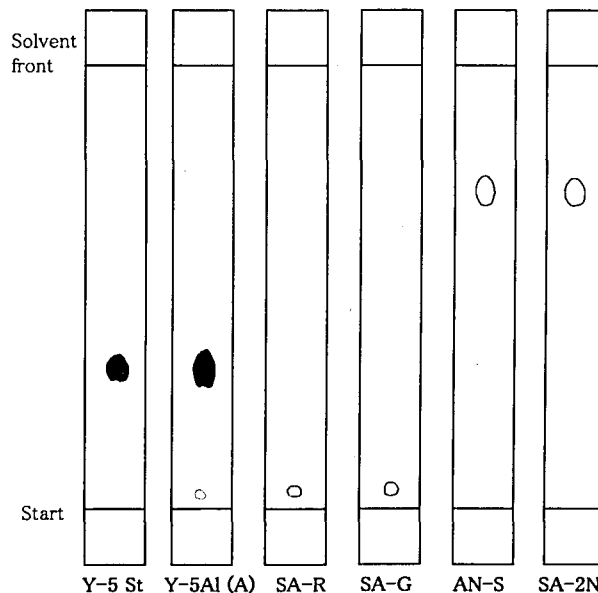


Fig.1. Paper chromatograms of the rejected sample and standards
Substance: standard of Y-5, 1.0 mg/ml; the rejected sample (A) of Y-5A1, 100 mg as Y-5/100 ml; other standards, 0.1 mg/ml each.
Conditions: developing solvent, a mixture of n-butanol, 1% ammonia solution and absolute ethanol (6: 3: 2); sample size, 2 μl.

Table 1. Analytical result of rejected sample of sunset yellow FCF aluminum lake

Tests	Specifications of JSFA-VII ^{a)}	Result (2 samples of one lot)
Description	Normal	Normal
Identification	Normal	Normal
Absorption maximum	480-484 nm	482 nm
Purity		
Heavy metals	Not more than 20 μg/g as Pb	Passed
Barium	Not more than 500 μg/g as Ba	Passed
Arsenic	Not more than 4.0 μg/g as As ₂ O ₃	Passed
Other coloring matters	Only one spot	Two spots
Loss on Drying	Not more than 30.0 %	20.1 %
Assay	Not less than 10.0 %	22.4 %

^{a)}JSFA-VII: Japan's Specifications and Standards for Food Additives, Seventh Edition.

MD1515 付 JASCO 2000 シリーズ HPLC 装置.

実験結果及び考察

1. 試験成績

Table 1 に Y-5A1 の規格値及び不適検体 A の試験成績を示した. “他の色素” の項 (PC による) 以外は全て規格に適合していた.

2. PC

食添 VII に従って PC を行った結果, Fig. 1 に示したように, A は主色素のスポット以外に原点近くにスポットを認めた. 主色素に対して 10% 濃度の副成色素標品のスポットと比較

したところ, それらの Rf から A の主色素以外のスポット (他の色素) は SA-R 又は SA-G と推測された.

3. HPLC

Y-5 の有機性不純物の標準液及び Y-5A1 (A) の試験液の HPLC 条件 I 及び II でのクロマトグラムを Fig. 2 に示した.

標準液の SA-R は HPLC 条件により保持時間 (Rt) が異なるが, 当該検体 A 中の巨大ピーク 1 の Rt はいずれの条件でも標準液の SA-R に一致し, その Rt における吸収スペクトルも SA-R のそれに一致した. したがって, 当該検体 A 中の他の色素は SA-R と同定された. また, Table 2 に示したように, Y-5A1 中の Y-5 の含量を 100.0% と換算したとき, SA-R の含

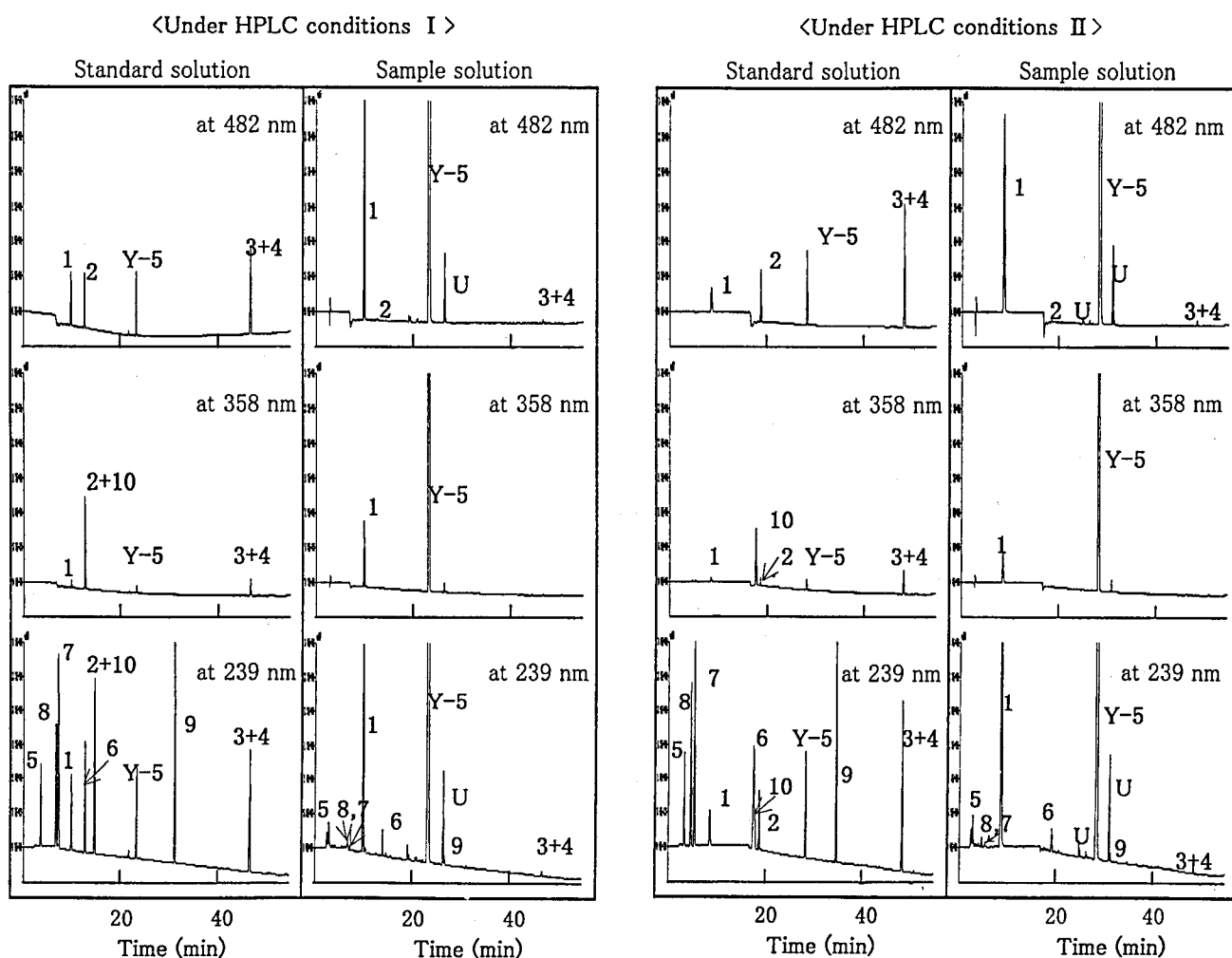


Fig.2. HPLC chromatograms of standards and the rejected sample

1: SA-R; 2: SA-G; 3: SA-2N; 4: AN-S; 5: SA; 6: SS; 7: RS; 8: GS; 9: DONS; 10: DAADBS; U: unknown.

Common conditions on HPLC are as follows. Column: L-column ODS (4.6 mm i.d. × 250 mm); eluent: A, 0.02 mol/l ammonium acetate, B, acetonitrile/water (7/3); flow rate: 1.0 ml/min; sample size: 20 μl; concentration of standard solution (left side), 1.0 μg/ml each; concentration of sample solution (right side): 1.0 mg/ml. Column was equilibrated with eluent A for 15 min before a injection.

Specific conditions are as follows. HPLC conditions I: column temperature, 30°C; gradient profile, 0 min → 50 min (A: 100% → 42%), 50 min ~ 55 min (A: 42%). HPLC conditions II: column temperature, 45°C; gradient profile, 0 min ~ 10 min (A: 100%), 10 min → 50 min (A: 100% → 42%), 50 min ~ 55 min (A: 42%).

Table 2. Contents of subsidiary colors, raw materials and intermediates in tested sunset yellow FCF aluminum lakes by HPLC^{a)}

		Contents in Y-5Al ^{b)} (%)		Specifications of Y-5
		Sample A	Sample B	
Subsidiary colors ^{c)}	1. SA-R	4.485 ± 0.491	ND ^{d)}	
	2. SA-G	0.028 ± 0.028	ND	
	3. SA-2N + 4. AN-S	0.034 ± 0.007	0.109 ± 0.031	
	Sum of 2~4 in sample	0.062 ± 0.011	0.109 ± 0.031	Not more than 2%
	Sum of 1~4 in sample	4.547 ± 0.496	0.109 ± 0.031	Not more than 5%
Raw materials ^{c)}	5. SA	0.018 ± 0.003	ND	
	6. SS	0.049 ± 0.026	0.048 ± 0.023	
	7. RS	0.009 ± 0.001	ND	
	8. GS	0.025 ± 0.003	ND	
Intermediates ^{c)}	9. DONS	0.011 ± 0.003	0.010 ± 0.003	
	10. DAADBS	ND	ND	
	Sum of 5~10 in sample	0.112 ± 0.027	0.058 ± 0.024	Not more than 0.5%
Y-5 in each sample ^{e)}	22.4	20.1	Specification of Y-5Al	Not less than 10.0%

^{a)}HPLC was performed according HPLC conditions II.

^{b)}Each value represents the average and standard deviation of three determinations.

^{c)}The contents of subsidiary colors, raw materials and intermediates in sample were calculated as the content of Y-5 in Y-5Al being 100.0%.

^{d)}ND<0.005%

^{e)}The content of Y-5 in sample was determined by titanium trichloride method as directed in the assay of Y-5Al in JSFA-VII¹⁾.

量は 4.5% であり、4 種及び 3 種の副成色素のそれぞれの合計値並びに未反応原料及び反応中間体の含量は、食添 VII の Y-5 の規格に適合していた。すなわち、規格外の Y-5Al 検体 A は規格に適合する Y-5 を用いて製造されたと考えられる。これは両品目の規格の矛盾を示しており、食添 VII の Y-5Al の規格を早急に改正することが望まれる。

我々は以前 Y-5 の不適合体について HPLC 測定を行った⁴⁾が、そのクロマトグラムでは規制対象の有機性不純物以外の未知の不純物のピークを多数観察した。今回の当該検体 A での HPLC クロマトグラムは SA-R 以外の有機性不純物は少なかった。なお、本検体は輸入品であり、海外の規格^{5,6)}に基づいて検定合格した Y-5 を用いて製造されたものと考えられる。平成 12 年度のもう一方の Y-5Al (B) は Table 2 に示したようにいずれの有機性不純物もその含量は少なく、平成 11 年度の Y-5Al の結果²⁾と同様であった。

まとめ

平成 12 年度の製品検査中 Y-5Al において、“他の色素”の項 (PC による) で付随色素が検出され不適と判定された検体が 1 件認められた。当該 Y-5Al 中の副成色素、未反応原料及び反応中間体の含量を HPLC により測定した結果、他の色素は SA-R であり、Y-5Al 中の Y-5 の含量を 100.0% と換算したとき、SA-R の含量は 4.5% であり、JSFA-VII の Y-5 の規格 (SA-R を含む 4 種の色素:5% 以下, SA-R 以外の 3 種色素:2%

以下) 以内であり、当該 Y-5Al の製造に用いた Y-5 は規格に適合していたと考えられた。したがって、Y-5Al の規格を早急に改正すべきであることが示唆された。

文 献

- 1) "Japan's Specifications and Standards for Food Additives, 7th ed.", eds. by Ministry of Health and Welfare, Japan, pp. 25-34, 294-295, 298-302, 305-310 (1999)
- 2) 海野有紀子, 辻 澄子, 中村優美子, 外海泰英, 日本食品衛生学会第 81 回講演要旨集, p. 44, (2001); Tsuji, S., Umino, Y., Amakura, Y., Tonogai, Y., *J. Food Hyg. Soc.*, **42**, in press (2001).
- 3) Tsuji, S., Matsumura, I., Nakamura, Y., Tonogai, Y., *J. Food Hyg. Soc.*, **41**, 357-363 (2000).
- 4) Tsuji, S., Mishima, I., Nakamura, Y., Tonogai, Y., *Bulletin of Natl Inst. Health Sci.*, **117**, 180-184 (1999).
- 5) The Office of the Federal Register National Archives and Records Administration: "Code of Federal Regulations, Title 21, Parts 82.51, 82.706" U.S. Government Printing Office, Washington, DC., 1996, p. 398.
- 6) Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), "Compendium of Food Additives Specifications", Vol. 1, ANNEX 2, p.1, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 1992.

国立医薬品食品衛生研究所リン酸ベタメタゾ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

Betamethasone 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 of betamethasone sodium phosphate was examined for the preparation of the "Betamethasone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 001)". The analytical data obtained were : melting point, 207.2°C ; pH, 8.1 ; optical rotation, $[\alpha]_D^{20} = +104.4^\circ$; UV spectrum, λ max of 242 nm and specific absorbance in water at 242 nm = 272.9 ; IR spectrum, specific absorptions at 3386.9, 1721.7, 1663.3, 1620.4, 1605.0, 1094.3, 985.8, 889.8 cm^{-1} ; free phosphoric acid, 0.3% ; thin-layer chromatography, one impurity was detected until 200 μg ; high-performance liquid chromatography, total amount of impurities estimated to be less than 0.5% ; water, 9.2 %.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Betamethasone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 001) of the National Institute of Health Sciences.

Keywords : betamethasone sodium phosphate, quality evaluation, authorization, reference standard

「リン酸ベタメタゾンナトリウム」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“リン酸ベタメタゾンナトリウム標準品(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

標準品原料は塩野義製薬株式会社より入手した。同社による試験成績は次のとおりである。旋光度： $[\alpha]_D^{20} = +101.9^\circ$ ，pH：8.3，水分：6.2%，HPLC法による純度試験：99.7%，定量：100.5%

2. 参照物質及び試薬

日本薬局方リン酸ベタメタゾンナトリウム標準品(Control 885；日局標準品)¹⁾及びベタメタゾン標準品(Control 951)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、下記の装置を用いた。

pHメーター：メトローム，713pH Meter

融点測定器：宮本理研 PA-30S

微量水分測定装置：平沼産業 AQ-6

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-317型

液体クロマトグラフ装置：島津製作所のLC-6A型ポンプ，SPD-10AV型検出器，CTO-6A型カラムオープン，東ソー製のAS-8010型オートサンプラー及び資生堂製S-mcデータ処理装置

4. 試験方法

特に記するもののほかは、第十三改正日本薬局方の一般試験法及び医薬品各条「リン酸ベタメタゾンナトリウム」の試験法を準用した。

1) 紫外吸収スペクトル

標準品原料約0.02gを精密に量り、水を加えて正確に100mlとする。この液5mlを正確に量り、水を加えて50mlとし、試料溶液とする。

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0.015gずつを量り、それぞれをメタノール10ml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った。

操作条件

検出法：紫外吸光度計(波長：254nm)

カラム：Inertsil ODS-3 (4.6mm ϕ × 250mm)

移動相：臭化テトラ n-ブチルアンモニウム1.6g，リン酸一水素ナトリウム3.2g及びリン酸二水素カリウム6.9gを水

[#] 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

1000ml に溶かした液にメタノール 1500ml を加える

流量 : 0.8ml / min

カラム温度 : 35°C

カラムの選定 : 日局 13 「リン酸ベタメタゾンナトリウム」の定量法におけるカラムの選定を準用する。

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紙の感度を調整する。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, リン酸ベタメタゾンナトリウムの保持時間の 2 倍の範囲

5. 試験結果

1) 性状 : 白色の粉末ではない。

2) 融点 : 207.2 ± 0.7°C (n=3)

3) pH : 8.1 (0.005g, 水, 10ml)

4) 旋光度

標準品原料の比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$ は +104.4 ± 1.2° (n=3) (脱水物換算 0.15g, 水, 15ml, 100mm) であった。

5) 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

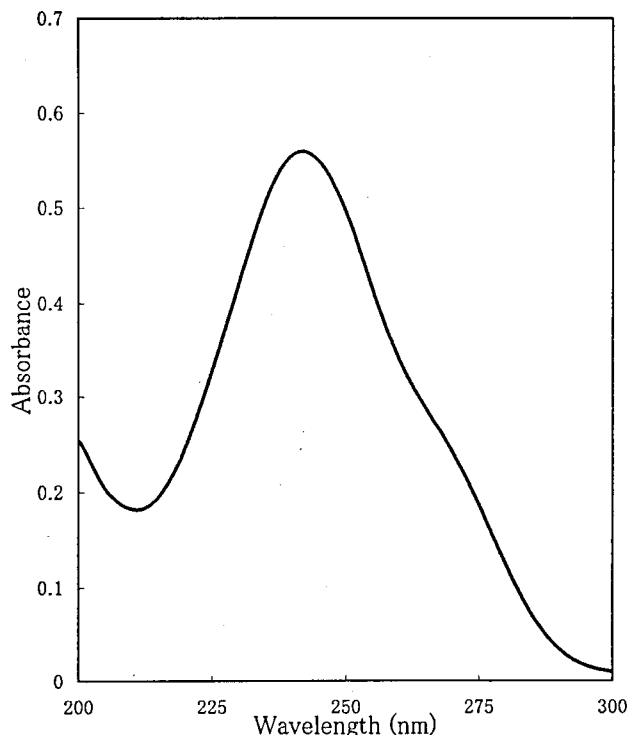


Fig.1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Betamethasone Sodium Phosphate Reference Standard

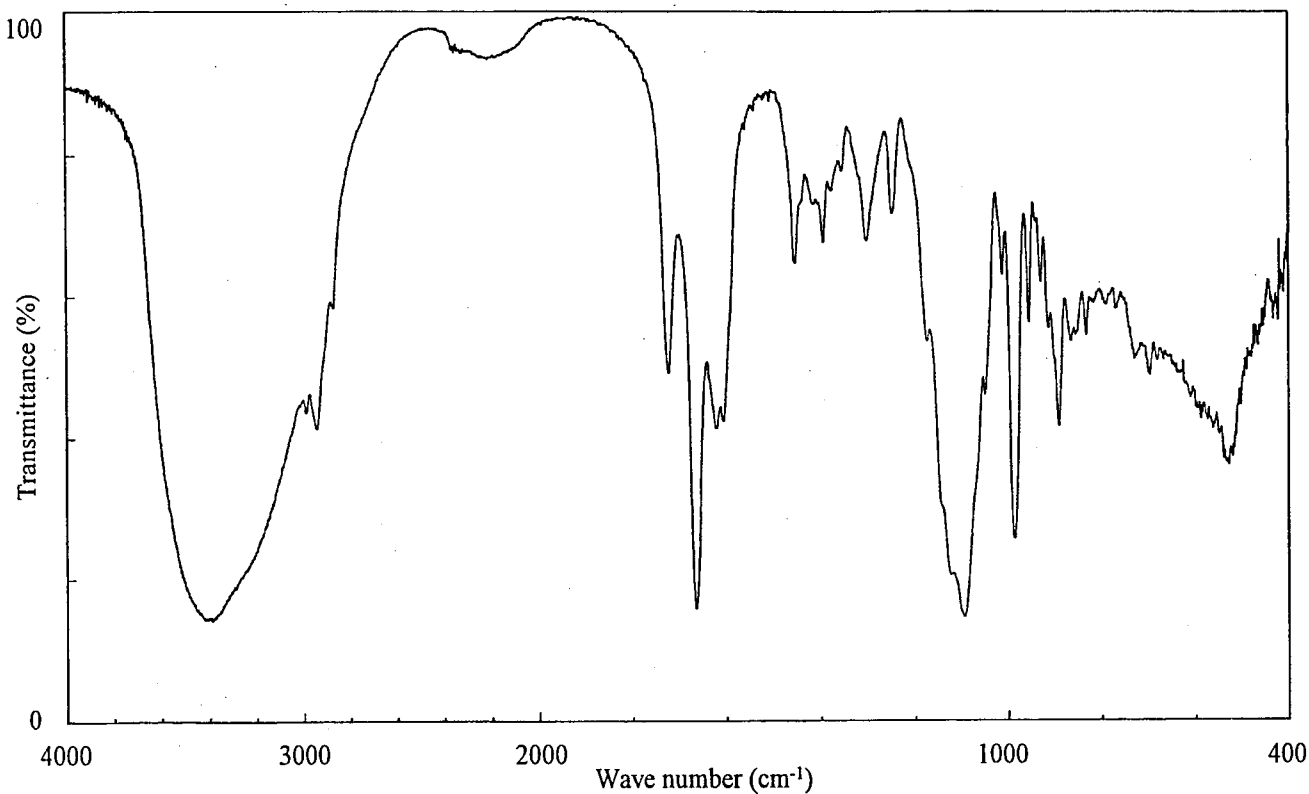


Fig.2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Betamethasone Sodium Phosphate Reference Standard

長242nm付近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 $E_{1\%}^{1cm}$ (242nm)は272.9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。

6) 赤外吸収スペクトル

標準品原料につき、赤外吸収スペクトル法の臭化カリウム錠剤法により測定するとき、3386.9, 1721.7, 1663.3, 1620.4, 1605.0, 1094.3, 985.8, 889.8 cm^{-1} 付近に特異吸収を示した。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。

7) 遊離リン酸: $0.3 \pm 0.003\%$ (n=3)

8) 薄層クロマトグラフ法 (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フをFig. 3に示す。スポット量200 μg で1個の異種スポット(ベタメタゾン)を検出したが、2 μg のベタメタゾンのスポットより濃くなかったため、その量は1%以下であった。また、本法によるリン酸ベタメタゾンナトリウムの検出限界は0.06 μg であった。なお、TLC法における純度試験は、日局13「リン酸ベタメタゾンナトリウム」の純度試験「ベタメタゾン」を準用した。

9) 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に微量の不純物ピークが確認された。面積百分率法で求めた不純物の総和は、標準品原料で $0.5 \pm 0.07\%$ (n=3)、日局標準品で0.4%と推定された。

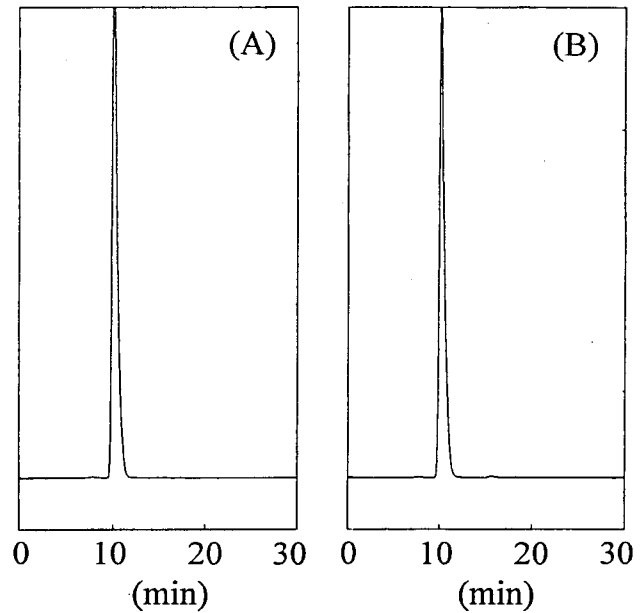
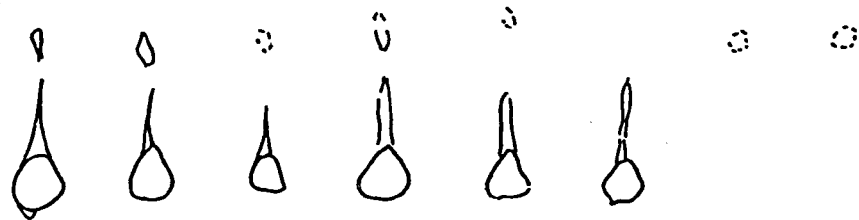


Fig.4 High-performance liquid chromatograms of the raw material(A) and Betamethasone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 885) (B)

Solvent front



Start

A B C D E F G H

Fig.3 Thin-layer chromatograms of the raw material for Betamethasone Sodium Phosphate Reference Standard, Betamethasone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 885) and Betamethasone Reference Standard (Control 951)

Solvent system : n-butanol/water/acetic acid (3:1:1)

Spot : A to C are 200, 100 and 50 μg of Betamethasone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 885), respectively.

D to F are 200, 100 and 50 μg of the raw material, respectively.

G to H are 2 and 0.5 μg for Betamethasone Reference Standard (Control 951), respectively.

10) 水分含量

電量滴定法により測定した結果, 本標準品原料の水分含量は $9.2 \pm 0.3\%$ (n=3)であった。

結 論

リン酸ベタメタゾンナトリウム標準品原料につき, 日局標準品(Control 885)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 001として製造・配布を開始した。

文 献

- 1) Okada, S., Hiroshige, T., Murai, M., and Kimura, T. : *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **108**, 141 (1990)

国立医薬品食品衛生研究所リン酸ヒドロコルチゾ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

Hydrocortisone 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 of hydrocortisone sodium phosphate was examined for the preparation of the "Hydrocortisone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 001)". The analytical data obtained were: pH, 8.3; optical rotation, $[\alpha]_D^{20} = +126.2^\circ$; UV spectrum, λ max of 248 nm and specific absorbance in water at 248 nm = 338.6; IR spectrum, same as that of the Hydrocortisone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 891); free phosphoric acid, 0.2%; free hydrocortisone, 0.01%; thin-layer chromatography, no impurity was detected until 200 μ g; high-performance liquid chromatography, total amount of impurities estimated to be less than 0.2%; residual solvent, 0.0% (acetone) and 0.02% (ethanol); loss on drying, 1.5%.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Hydrocortisone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 001) of the National Institute of Health Sciences.

Keywords: hydrocortisone sodium phosphate, quality evaluation, authorization, reference standard

「リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム」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「リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム標準品(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

標準品原料は萬有製薬株式会社より入手した。同社による試験成績は次のとおりである。旋光度: $[\alpha]_D^{20} = +128^\circ$, pH: 8.7, 遊離リン酸: 0.1%, 乾燥減量: 2.9%, 定量: 99.4%

2. 参照物質及び試薬

国立医薬品食品衛生研究所リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム標準品(Control 891; 日局標準品)¹⁾及びヒドロコルチゾン標準品(Control 904)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、下記の装置を用いた。

pHメーター: メトローム, 713pH 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-317型

液体クロマトグラフ装置: 島津製作所のLC-6A型ポンプ, SPD-10A型検出器, CT0-6A型カラムオープン, 東ソー製のAS-8010型オートサンプラー及び資生堂製S-mc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C-R6A型データ処理装置

4. 試験方法

特に記するもののほかは、第十三改正日本薬局方の一般試験法及び医薬品各条「リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム」の試験法を準用した。

1) 紫外吸収スペクトル

標準品原料約0.01g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

標準品原料及びヒドロコルチゾン標準品約0.01gをメタノール2mlに溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。次の条件でTLC法により試験を行う。

薄層板: 蛍光剤入りプレコーテッド薄層板シリカゲル60F₂₅₄(20×20cm, 層厚0.25mm, メルク社)

展開溶媒: n-ブタノール/水/氷酢酸混液(10:2:1)

操作法及び検出法: 試料溶液及びその希釈液1~40 μ l(リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム0.04~200 μ g相当量),

[#] 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 1 μl(ヒドロコルチゾン 5μg相当量)を薄層板にスポットし, 約15cm展開した後, 薄層板を取り出し風乾する。これを紫外線(主波長 254nm)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

標準品原料及び日局標準品約0.015gずつを量り, それぞれを移動相 10ml 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う。

操作条件

検出法: 紫外吸光度計(波長: 254nm)

カラム: Lichrosorb Rp-18-5 (4.0mm φ × 250mm)

移動相: 0.05mol/l リン酸二水素ナトリウム試液(pH2.6) / メタノール混液(1:1)

流量: 0.7ml / min

カラム温度: 35°C

カラムの選定: 日局 13「リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム」の定量法におけるカラムの選定を準用する。

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紙の感度を調整する。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, リン酸ヒドロコルチゾンナトリウムの保持時間の2倍の範囲

4) ガスクロマトグラフ法(GC法)による残留溶媒試験

標準品原料約0.1gを精密に量り, 内標準液0.125mlを正確に加えて溶かし, 更に水を加えて正確に5mlとする。この液 5 μl につき, 下記の操作条件で分析を行う。

内標準液: メチルエチルケトン0.1mlを量り取り, 水を加えて100mlとする。

i) アセトン

アセトン標準原液: アセトン(99.7%, 比重=0.7905)0.2mlを量り取り, 水を加えて正確に50mlとする。

操作条件

検出器: 水素炎イオン化検出器

カラム: 内径3.2mm, 長さ2mのガラス管にPORAPAK TypeQ(mesh80-100, Waters社製)を充填する。

キャリアーガス: 窒素

カラム温度: 180°C

流量: 内標準物質の保持時間が約13分となるように調整する。

ii) エタノール

エタノール標準原液: エタノール(99.5%, 比重=0.790)0.1mlを量り取り, 水を加えて正確に50mlとする。

操作条件

アセトンの操作条件を準用する。

5. 試験結果

1) 性状: 白色～淡黄色の粉末でにおいはない。

2) pH: 8.3 (0.05g, 水, 5ml)

3) 旋光度

標準品原料の比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$ は $+126.2 \pm 0.02^\circ$ (n=3) (乾燥物換算 0.2g, pH7.0のリン酸緩衝液, 20ml, 100mm)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248nm付近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 $E_{1\%}^{1cm}$ (248nm)は338.6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。

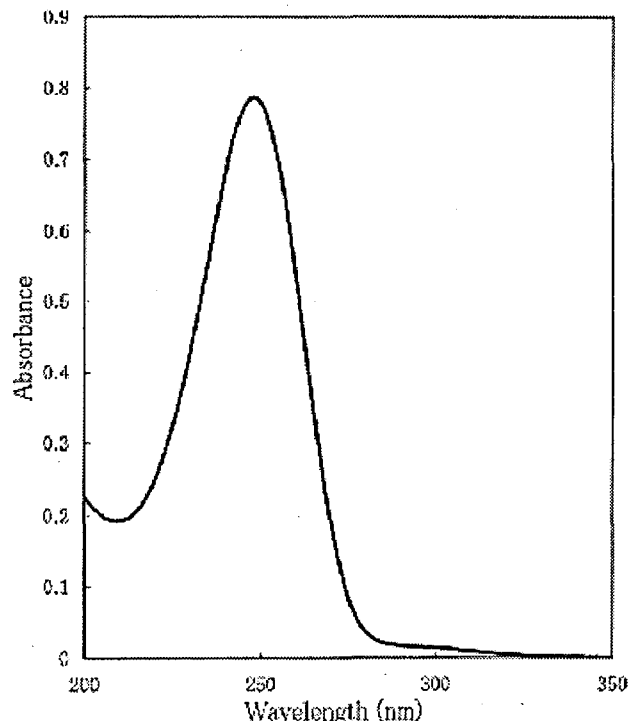


Fig.1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Hydrocortisone Sodium Phosphate Reference Standard

5) 赤外吸収スペクトル

標準品原料及び日局標準品につき, 赤外吸収スペクトル法のペースト法により測定し, 両者のスペクトルを比較するとき, これらのスペクトルに差が認められた。

そこで, それぞれをメタノールに溶かした後, メタノールを蒸発し, 残留物につき同様の試験を行った結果, 同一波長のところに同様の強度の吸収を認めた。メタノール処理後の標準品原料のペースト法による赤外吸収スペクトルをFig.2に示す。

6) 遊離リン酸: $0.2 \pm 0.004\%$ (n=3)

7) 遊離ヒドロコルチゾン

HPLC法による測定を行った結果, 標準品原料溶液はヒドロコルチゾン標準溶液よりヒドロコルチゾンのピーク面積は大きくなかった。なお, 標準品原料のヒドロコルチゾン量

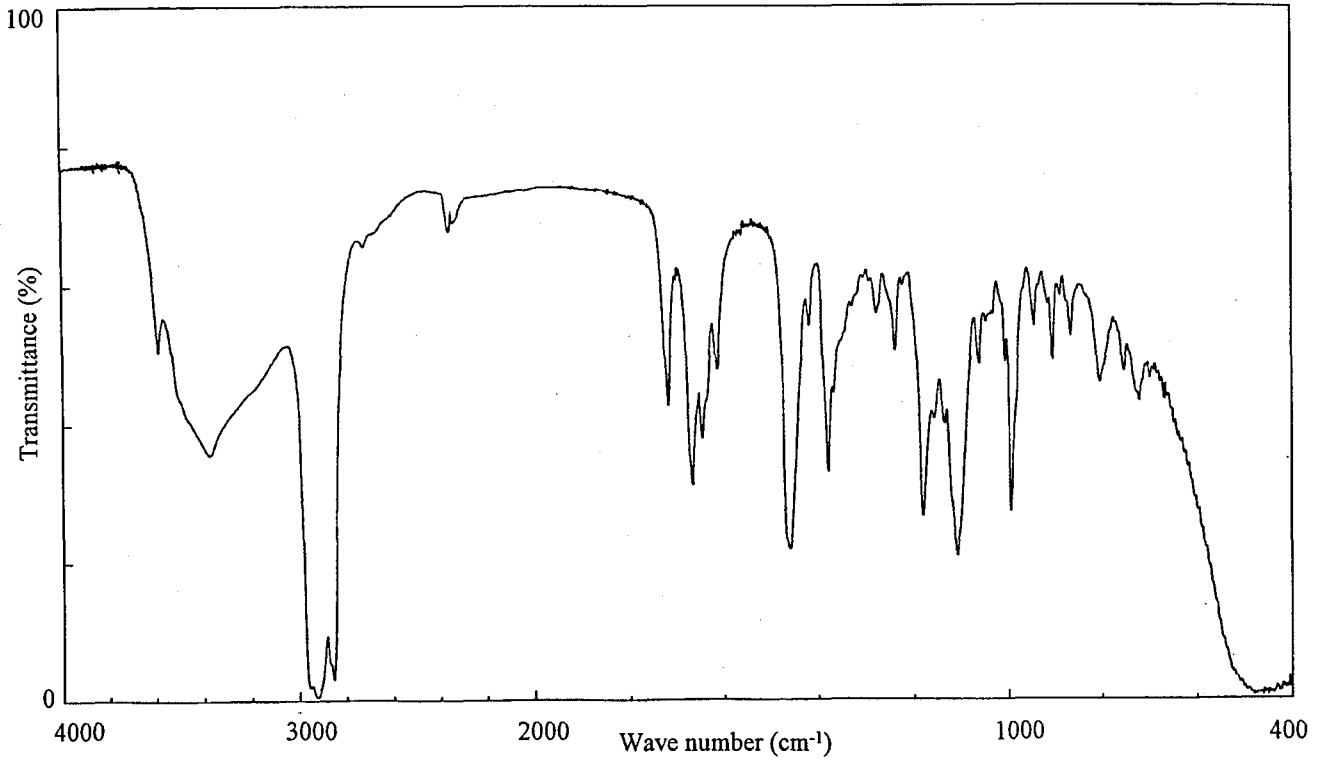


Fig.2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Hydrocortisone Sodium Phosphate Reference Standard

は $0.01 \pm 0.002\%$ ($n=3$) であった。

8) TLC 法による純度試験

標準品原料の薄層クロマトグラフを Fig. 3 に示す。スポット量 $200 \mu\text{g}$ まで異種スポットは認められなかった。また、本法によるリン酸ヒドロコルチゾンナトリウムの検出限界は $0.07 \mu\text{g}$ であった。

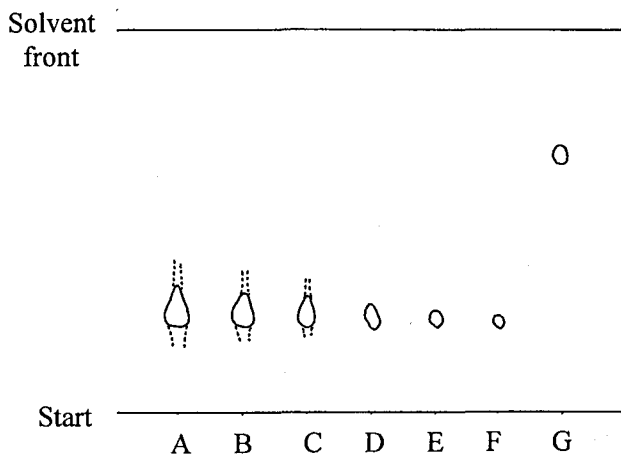


Fig.3 Thin-layer chromatograms of the raw material for Hydrocortisone Sodium Phosphate Reference Standard and Hydrocortisone Reference Standard (Control 904)

Solvent system: n-butanol/water/acetic acid (10 : 2 : 1)

Spot : A to F are 200, 100, 50, 20, 10 and $5 \mu\text{g}$ of the raw material, respectively.

G is $5 \mu\text{g}$ Hydrocortisone Reference Standard (Control 904).

9) 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クロマトグラムを Fig. 4 に示す。標準品原料及び日局標準品ともに微量の不純物ピークが確認された。面積百分率法での不純物の総和は標準品原料で $0.20 \pm 0.003\%$ ($n=3$)、日局標準品で 0.30% と推定された。

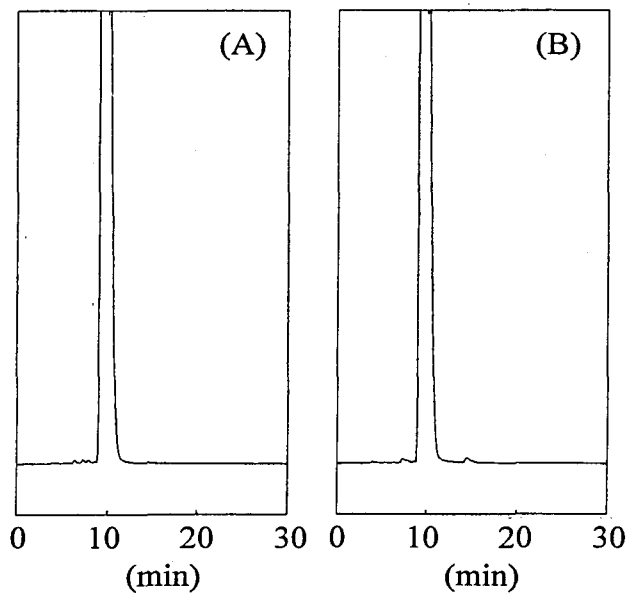


Fig.4 High-performance liquid chromatograms of the raw material (A) and Hydrocortisone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 891) (B)

10) 残留溶媒

本標準品原料中に $0.02 \pm 0.0004\%$ ($n=3$) の残留エタノールを認めたと、アセトンの残留は認められなかった。

11) 乾燥減量

本標準品原料の乾燥減量は $1.5 \pm 0.06\%$ ($n=3$) (0.2g, 減圧, 80°C , 5時間) であった。

結 論

リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム標準品原料につき、日

局標準品 (Control 891) 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 001 として製造・配布を開始した。

文 献

- 1) Okada, S., Hiroshige, T., Murai, M., and Kimura, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **108**, 150 (1990)

国立医薬品食品衛生研究所プロピオン酸ベクロメタゾン標準品(Control 011)

岩田美保・小出達夫・前川京子・斎藤博幸
谷本 剛[#]・岡田敏史

Beclometasone Dipropionate Reference Standard
(Control 011) of National Institute of Health Sciences

Miho Iwata, Tatsuo Koide, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito,
Tsuyoshi Tanimoto[#] and Satoshi Okada

The raw material of beclometasone dipropionate was examined for the preparation of the "Beclometasone Dipropionate Reference Standard (Control 011)". The analytical data obtained were : melting point, 208.8°C ; optical rotation, $[\alpha]_D^{20} = +91.7^\circ$; IR spectrum, same as that of the Beclometasone Dipropionate Reference Standard (Control 865) ; thin-layer chromatography, one impurity was detected until 40 μg ; high-performance liquid chromatography, total amount of impurities estimated to be less than 0.5% ; loss on drying, 0.6%.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Beclometasone Dipropionate Reference Standard (Control 011) of the National Institute of Health Sciences.

Keywords : beclometasone dipropionate, quality evaluation, authorization, reference standard

「プロピオン酸ベクロメタゾン」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「プロピオン酸ベクロメタゾン標準品(Control 011)」(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

標準品原料はシェリングプラウ株式会社より入手した。

2. 参照物質及び試薬

国立医薬品食品衛生研究所プロピオン酸ベクロメタゾン標準品(Control 865 : 日局標準品)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、下記の装置を用いた。
融点測定器 : 宮本理研, PA-30S型
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-317型
液体クロマトグラフ装置 : 島津製作所のLC-6A型ポンプ, SPD-10AV型検出器, CTO-6A型カラムオープン, 東ソー製の

AS-8010型オートサンプラー及び資生堂製S-mcデータ処理装置

4. 試験方法

特に記するもののほかは、第十三改正日本薬局方の一般試験法及び医薬品各条「プロピオン酸ベクロメタゾン」の試験法を準用した。

・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0.010gずつを量り、それぞれをメタノール10mlに溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。これらの液20 μl につき、次の条件で分析を行った。

操作条件

検出法 : 紫外吸光光度計(波長 : 254nm)

カラム : TSK-GEL ODS-80Ts (4.6mm ϕ \times 250mm)

移動相 : アセトニトリル/水混液(3:2)

流量 : 1.5ml/min

カラム温度 : 30°C

カラムの選定 : 日局「プロピオン酸ベクロメタゾン」の定量法におけるカラムの選定を準用する。

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紙の感度を調整する。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、プロピオン酸ベクロメタゾンの保持時間の2倍の範囲

[#] 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

5. 試験結果

1) 性状：白色の粉末ではない。

2) 融点：208.8 ± 0.3°C (n=5)

3) 旋光度

標準品原料の比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$ は+91.7 ± 0.5° (n=3) (乾燥したもの0.1g, ジオキサン, 10ml, 100mm) であった。

4) 赤外吸収スペクトル

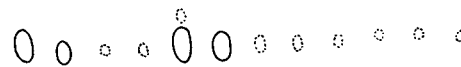
標準品原料の臭化カリウム錠剤法による赤外吸収スペクトルをFig.1に示す。

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を認めた。

5) 薄層クロマトグラフ法 (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フをFig.2に示した。日局標準品はスポット量40 µgまで異種スポットは認められなかったが、本標準品原料ではスポット量40 µgで0.4%以下の不純物スポットを1個検出した。また、本法によるプロピオン酸ベクロメタゾンの検出限界は0.08 µg以下であった。なお、TLC法による純度試験は、日局13「プロピオン酸ベクロメタゾン」の純度試験「他のステロイド」を準用した。

Solvent front



Start

A B C D E F G H I J K L

Fig.2 Thin-layer chromatograms of the raw material and Beclometasone Dipropionate Reference Standard (Control 865)

Solvent system : 1,2-dichloroethane/methanol/water (475 : 25 : 1)

Spot : A to D are 40, 20, 0.8 and 0.4 µg of Beclometasone Dipropionate Reference Standard (Control 865), respectively.

E to L are 40, 20, 0.8, 0.4, 0.32, 0.24, 0.16 and 0.08 µg of the raw material, respectively.

6) 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クロマトグラムをFig.3に示す。標準品原料及び

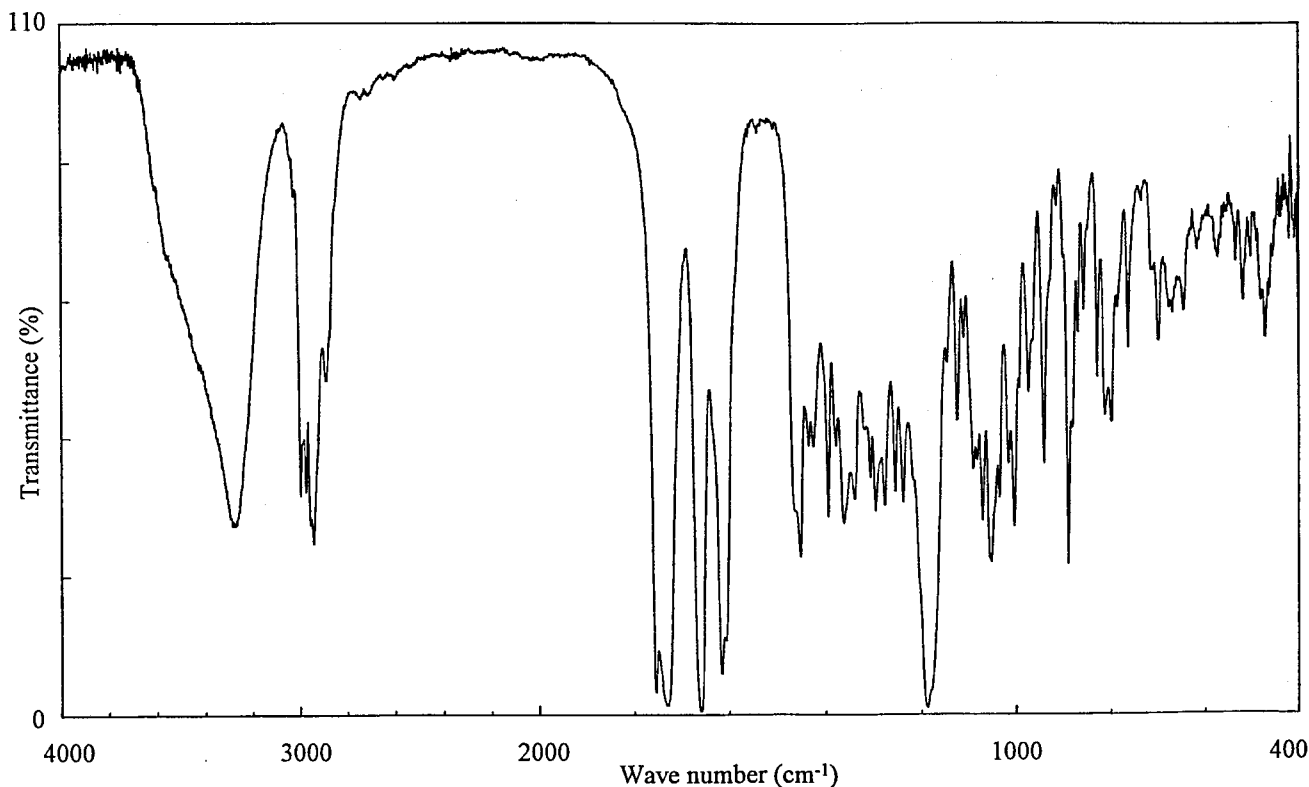


Fig.1 Infrared absorption spectrum of the raw material for Beclometasone Dipropionate Reference Standard

日局標準品とも、微量の不純物ピークが確認された。面積百分率法で求めた不純物の総和は、標準品原料で $0.4 \pm 0.007\%$ ($n=3$)、日局標準品で1.6%と推定された。

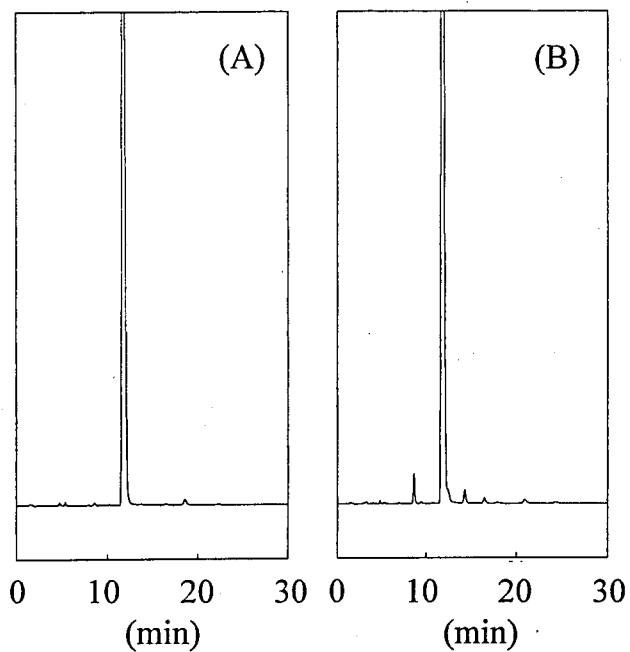


Fig.3 High-performance liquid chromatograms of the raw material (A) and Beclometasone Dipropionate Reference Standard (Control 865) (B)

7) 乾燥減量

本標準品原料の乾燥減量は $0.6 \pm 0.04\%$ (0.1g, 105°C, 3時間) ($n=3$)であった。

結 論

プロピオン酸ベクロメタゾン標準品原料につき、国立医薬品食品衛生研究所標準品(Control 865)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はなく、標準品原料の純度は99.5%以上であることを確認した。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(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 011として製造・配布を開始した。

国立医薬品食品衛生研究所リン酸デキサメタゾ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

Dexamethasone 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 dexamethasone sodium phosphate was examined for the preparation of the "Dexamethasone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 001)". The analytical data obtained were : pH, 8.0 ; optical rotation, $[\alpha]_D^{20} = +79.6^\circ$; UV spectrum, λ max of 242 nm and specific absorbance in water at 242 nm = 313.6 ; IR spectrum, same as that of the Dexamethasone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 893) ; free phosphoric acid, 0.06% ; free dexamethasone, 0.07% ; thin-layer chromatography, no impurities were detected until 100 μ g ; high-performance liquid chromatography, total amount of impurities estimated to be less than 0.2% ; residual solvent, 4.3% (ethanol) ; water, 7.3%.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Dexamethasone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 001) of the National Institute of Health Sciences.

Keywords : dexamethasone sodium phosphate, quality evaluation, authorization, reference standard

「リン酸デキサメタゾンナトリウム」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“リン酸デキサメタゾ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入手した。同社による試験成績は次のとおりである。旋光度： $[\alpha]_D^{20} = +82^\circ$, pH : 8.7, 遊離リン酸 : 0.1%, 遊離デキサメタゾン : 0.1%, エタノール : 4.4%, 水分 : 10.8% (エタノール+水), 定量 : 99.8%

2. 参照物質及び試薬

国立医薬品食品衛生研究所リン酸デキサメタゾンナトリウム標準品(Control 893; DMNaP標準品)¹⁾及びデキサメタゾン標準品(Control 931)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、下記の装置を用いた。

PHメーター：メトローム, 713pH 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
微量水分測定装置：平沼 AQ-6型
旋光計：日本分光, DIP-317型
液体クロマトグラフ装置：島津製作所のLC-6A型ポンプ, SPD-10AV型検出器, CT0-6A型カラムオープン, 東ソー製のAS-8010型オートサンプラー及び資生堂製S-mc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C-R6A型データ処理装置

4. 試験方法

特に記するもののほかは、第十三改正日本薬局方の一般試験法及び日本薬局方外医薬品成分規格(1997)「リン酸デキサメタゾンナトリウム」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0.020gを精密に量り、水を加えて正確に20mlとする。この液1mlを正確に量り、水を加えて正確に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

標準品原料約0.01g及びデキサメタゾン標準品0.005gを量り、それぞれメタノール1mlを正確に加えて溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。次の条件で薄層クロマトグラフ法により試験を行う。

[#] 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：蛍光剤入りプレコート薄層板シリカゲル 60F₂₅₄ (20 × 20cm, 層厚0.25mm, メルク社)

展開溶媒：n-ブタノール/水/氷酢酸混液 (3:1:1)

操作法及び検出法：試料溶液, 試料溶液の10倍希釈液10及び5 μ l (リン酸デキサメタゾン100及び50 μ g相当量), 試料溶液の100倍希釈液5 μ l (リン酸デキサメタゾン5 μ g相当量) 及び標準溶液1 μ l (デキサメタゾン5 μ g相当量)を薄層板にスポットし, 約10cm展開した後, 薄層板を取り出し風乾する. これを紫外線 (主波長254nm) 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DMNaP標準品約0.01gずつを量り, それぞれをメタノールに溶かし正確に10mlとし, 試料溶液及び標準溶液とする. これらの液10 μ lにつき, 次の条件でHPLC法により試験を行う.

操作条件

検出法：紫外吸光度計 (波長：240nm)

カラム：TSK-GEL ODS-80Ts (4.6mm ϕ × 250mm)

移動相：0.05mol/l リン酸二水素ナトリウム試液 (pH2.6) /メタノール混液 (1:1)

流量：1.0ml / 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紙の感度を調整する. 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, リン酸デキサメタゾンナトリウムの保持時間の2倍の範囲

4) ガスクロマトグラフ法 (GC法) による残留溶媒試験

・エタノール

標準品原料約0.050gを精密に量り, 内標準液1mlを正確に加えて溶かし, 更に水を加えて正確に50mlとする. この液3 μ lにつき, 下記の操作条件で測定を行う.

内標準液：イソプロピルアルコール1mlを量り取り, 水を加えて50mlとする.

エタノール標準原液：エタノール (99.5%, 比重=0.790) 1mlを量り, 水を加えて正確に25mlとする.

操作条件

検出器：水素炎イオン化検出器

カラム：内径3.2mm, 長さ2mのガラス管にPOORAPAK TypeQ (mesh80-100, Waters社製)を充填する

キャリアーガス：窒素

カラム温度：150°C

流量：内標準物質の保持時間が約10分となるような一定流量

5. 試験結果

1) 性状：白色の結晶性粉末ではない.

2) pH：8.0 (0.1g, 水, 10ml)

3) 旋光度

標準品原料の比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$ は $+79.6 \pm 0.90^\circ$ (n=3) (脱エタノール及脱水物換算0.1g, 水, 10ml, 100mm)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242nm付近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 $E_{1\%}^{1cm}$ (242nm)は313.6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.

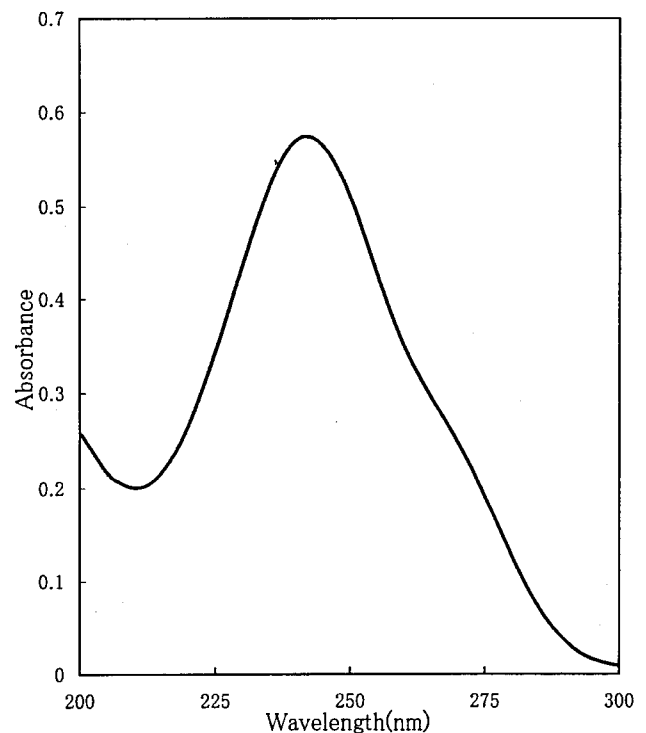


Fig.1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Dexamethasone Sodium Phosphate Reference Standard

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DMNaP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.

6) 遊離リン酸：0.06 \pm 0.0005% (n=3)

7) 遊離デキサメタゾン

吸光度測定法による測定を行った結果, 標準品原料中のデキサメタゾン量は0.07 \pm 0.03% (n=3)であった. なお, 遊離デキサメタゾンの測定は, 局外規「リン酸ヒドロコルチゾンナトリウムの純度試験「遊離デキサメタゾン」を準用した.

8) TLC法による純度試験

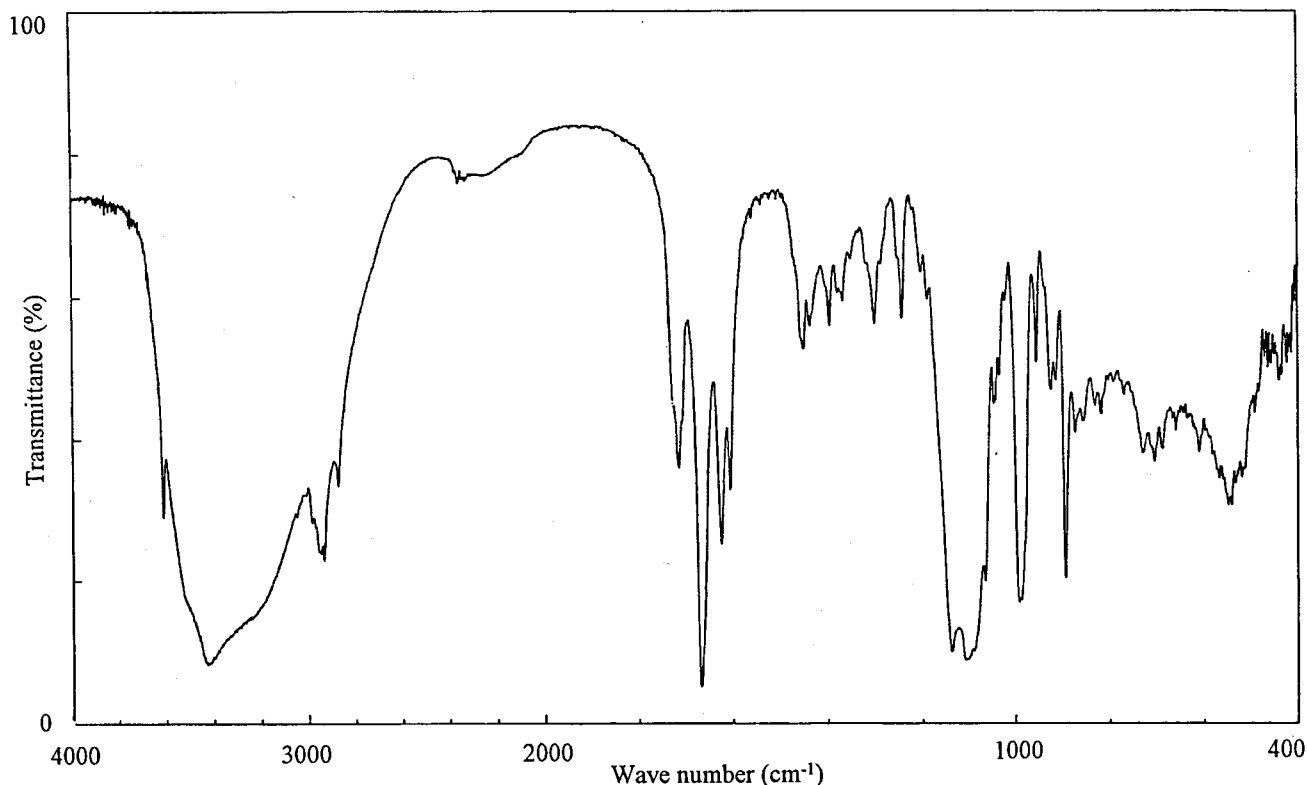


Fig.2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Dexamethasone Sodium Phosphate Reference Standard

標準品原料の薄層クロマトグラフをFig. 3に示す。本標準品原料はスポット量 100 μ gまで異種スポットは認められなかった。なお、本法によるリン酸デキサメタゾンナトリウムの検出限界は 0.04 μ gであった。

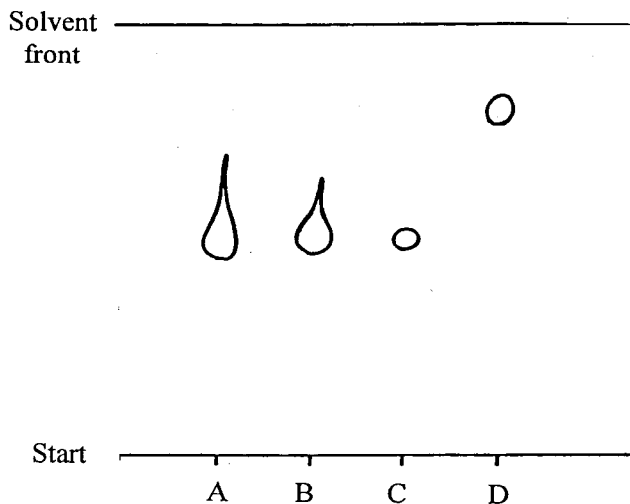


Fig.3 Thin-layer chromatograms of the raw material for Dexamethasone Sodium Phosphate Reference Standard and Dexamethasone Reference Standard (Control 931)

Solvent system : n-butanol/water/acetic acid (3:1:1)

Spot : A to C are 100, 50 and 5 μ g of the raw material, respectively.

D is 5 μ g of Dexamethasone Reference Standard (Control 931).

9) HPLC 法による純度試験

標準品原料及びDMNaP標準品につき、HPLC法による純度試験で得られたクロマトグラムをFig. 4に示す。標準品原料及びDMNaP標準品とも、微量の不純物ピークが確認された。面積百分率法で求めた不純物の総和は、標準品原料で 0.2 \pm 0.02% (n=3), DMNaP 標準品で 2.0%と推定された。

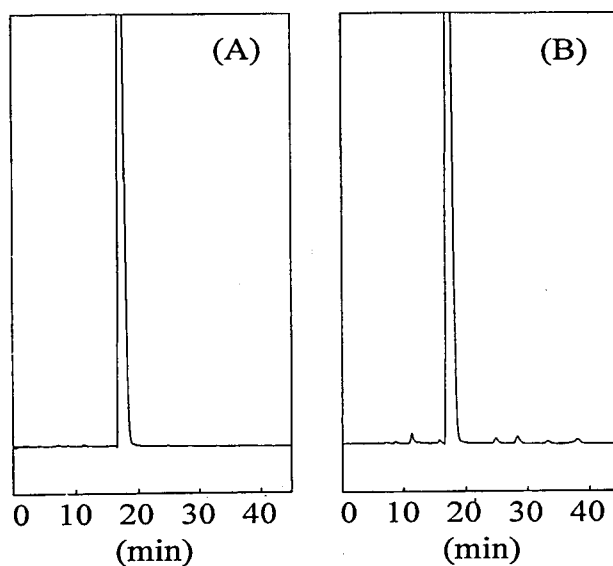


Fig.4 High-performance liquid chromatograms of the raw material (A) and Dexamethasone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 893) (B)

10) 残留溶媒

本標準品原料中に $4.3 \pm 0.1\%$ (n=3) の残留エタノールを認めた。

11) 水分含量

電位差滴定法により測定した結果, 本標準品原料の水分含量は $7.3 \pm 0.5\%$ (n=3) であった。

結 論

リン酸デキサメタゾンナトリウム標準品原料につき, 国立医薬品食品衛生研究所標準品 (Control 893) 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はなく, 標準品原料の純度は99.5%以上であることを確認した。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認定し, Control 001として製造・配布を開始した。

文 献

- 1) Okada, S., Hiroshige, T., Murai, M., and Kimura, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **108**, 144 (1990)

国立医薬品食品衛生研究所グリチルリチン酸標準品 (Control 001)

小出達夫・岩田美保・前川京子・斎藤博幸
谷本 剛[#]・岡田敏史

Glycyrrhizinic Acid Reference Standard
(Control 001) of National Institute of Health Sciences

Tatsuo Koide, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito,
Tsuyoshi Tanimoto[#], and Satoshi Okada

The raw material of glycyrrhizinic acid was examined for preparation of the "Glycyrrhizinic Acid Reference Standard". The analytical data obtained were: UV spectrum: λ max, 251 nm; and specific absorbance ($E_{1\%}^{1\text{cm}}$) in ethanol at 251 nm, 146; IR spectrum, specific absorptions at 1714, 1655, 1215, and 1170 cm^{-1} ; and the spectrum of raw material was consistent with that of Standard (Control 991). Also, thin-layer chromatography, no impurity was detected; high-performance liquid chromatography, several impurities were detected. The amount of each impurity was estimated at less than 0.2% and total amount of impurities was less than 0.4%.

Based on the above results, the candidate material was authorized as the Glycyrrhizinic Acid Reference Standard (Control 001) of the National Institute of Health Sciences.

Keywords: glycyrrhizinic acid, quality evaluation, authorization, NIHS Reference Standard

第十三改正日本薬局方に収載されている「カンゾウ」, 「カンゾウ末」, 「カンゾウエキス」及び「カンゾウ粗エキス」中のグリチルリチン酸含量の定量に用いられる国立医薬品食品衛生研究所「グリチルリチン酸標準品 (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

標準品原料は丸善製薬株式会社より入手した。同社による試験成績は次のとおりである。水分: 0.65%, 比吸光度 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (λ max): 148.5, HPLCによる純度試験: 純度 99.7%。

2. 参照物質及び試薬

日本薬局方グリチルリチン酸標準品 (Control 991; 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。

水分測定器: 平沼産業, AQ-6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-10A 型検出器, CT0-6A 型カラムオープン及び資生堂製データ処理装置 S-mc。

4. 試験方法

特に記すもののほかは, 日局一般試験法を準用した。

1) 紫外吸収スペクトル

標準品原料をデシケーター中で 12 時間以上乾燥し (減圧 0.67kPa 以下, 五酸化リン, 50°C), その約 4mg を精密に量り, 希エタノール 30ml を加えて溶かした後, 希エタノールを加えて正確に 100ml とし, 試料溶液とする。この液につき, 希エタノールを対照にして吸光度測定法により, 210 ~ 300nm の波長範囲における吸収スペクトルを測定し, 吸収極大波長における吸光度より比吸光度 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ を求める。

2) 赤外吸収スペクトル

標準品原料をデシケーター中で 12 時間以上乾燥し (減圧 0.67kPa 以下, 五酸化リン, 50°C), その 2mg を量り, 赤外吸収スペクトル測定用臭化カリウム 0.2g と混合, 磨砕した後, 打錠する。この臭化カリウム錠剤につき, 空気を対照に 4000 ~ 400 cm^{-1} の範囲で赤外吸収スペクトルを測定する。

3) 薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験

標準品原料 5mg を希エタノール 2.5ml に溶かし, 試料溶液とする。この液 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.5ml を量り, 希エタ

[#] 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

ノールを加えてそれぞれ正確に50mlとし、標準溶液1, 2, 3, 4, 5とする。試料溶液及び各標準溶液10 μ lにつき、以下の条件で薄層クロマトグラフ法による試験を行う。

薄層板：メルク社製プレコート薄層板シリカゲル60 F₂₅₄ (厚さ, 0.25mm)。

展開溶媒：1-ブタノール/水/酢酸(100)混液(7:2:1)。

展開距離：10 cm

検出：1) 紫外線照射(主波長：254nm)

2) 薄めた硫酸(1→2)を噴霧し、105°C, 10分間加熱

不純物スポットの蛍光または呈色の強さを標準溶液1～5のスポットのそれと比較し、不純物量を推定する。

4) 液体クロマトグラフ(HPLC)法による純度試験

標準品原料約5mgを精密に量り、希エタノール5mlを加えて溶かし、試料溶液とする。この液1mlを正確に量り、希エタノールを加えて正確に100mlとし、標準溶液とする。標準溶液5mlを正確に量り、希エタノールを加えて正確に100mlとし、希釈標準溶液とする。試料溶液、標準溶液及び希釈標準溶液20 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。それぞれの液の各々のピーク面積を自動積分法により測定し、全ピーク面積に対する相対面積百分率を求める。

操作条件

検出器：紫外吸光度計(測定波長：254nm)

カラム：TSK-GEL ODS-80Ts(4.6mm ϕ × 150mm)

カラム温度：30°C付近の一定温度

移動相：薄めた酢酸(100)(1→50) / アセトニトリル混液(3:2)

流量：0.7ml/min

カラムの選定：グリチルリチン酸5mg及びパラオキシ安息香酸プロピル1mgを希エタノールに溶かして20mlとする。この液20 μ lにつき、上記の条件で操作するとき、グリチルリチン酸、パラオキシ安息香酸プロピルの順に溶出し、それぞれのピークが完全に分離するものを用いる。

検出感度：希釈標準溶液20 μ lにつき分析するとき、グリチルリチン酸のピーク面積が自動積分法により確実にカウントされるように調整する。また、標準溶液20 μ lから得られるグリチルリチン酸のピーク高さがフルスケールの20%前後となるようにデータ処理装置の感度を調整する。

面積測定範囲：溶媒ピークの後、グリチルリチン酸の保持時間の3倍の範囲

試験の再現性：上記の条件で標準溶液につき、試験を5回繰り返すとき、グリチルリチン酸のピーク面積の相対標準偏差は1.5%以下である。

5) 水分

標準品原料約5mgを精密に量り、電量滴定法によるカールフィッシャー水分測定法により本候補品中の水分含量を測定する。

5. 試験結果

1) 紫外吸収スペクトル

標準品原料の希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251nm付近に吸収の極大が観察され(Fig. 1)、極大吸収波長における比吸光度(251nm)は146.3 \pm 1.0(n=11)であった。

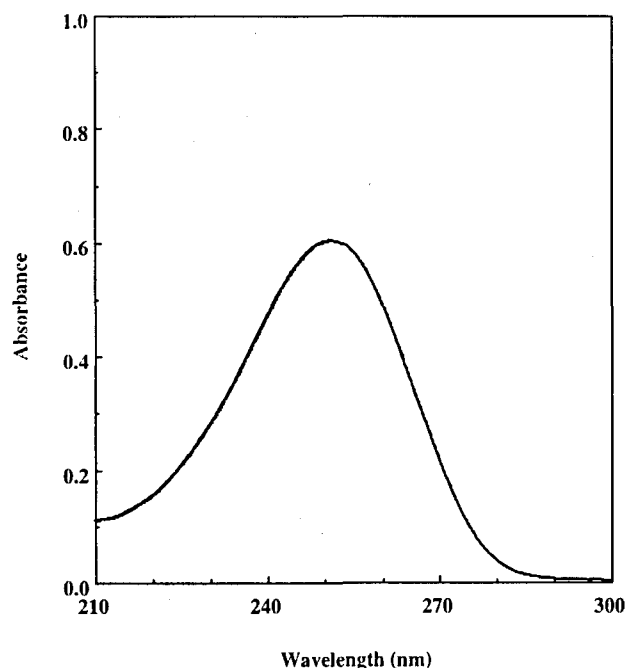


Fig.1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Glycyrrhizinic Acid Reference Standard

2) 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日局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。

3) 純度試験

(a) TLC法：標準品原料及び日局標準品の薄層クロマトグラムをFig. 3に示した。標準品原料及び日局標準品とも、それらの試料溶液からは主スポット以外のスポットは検出されなかった。また、本法によるグリチルリチン酸の検出限界は、0.06 μ gであった。

(b) HPLC法：標準品原料及び日局標準品の液体クロマトグラムをFig. 4に示した。標準品原料及び日局標準品とも、微量の不純物ピークが観察された。面積百分率で0.01%以上の不純物ピークの総量は、標準品原料で0.32 \pm 0.02%(n=3)、日局標準品で0.30%(n=2)と推定された。

4) 水分

標準品原料のカールフィッシャー法による水分含量は1.35 \pm 0.08%(n=3)であった。

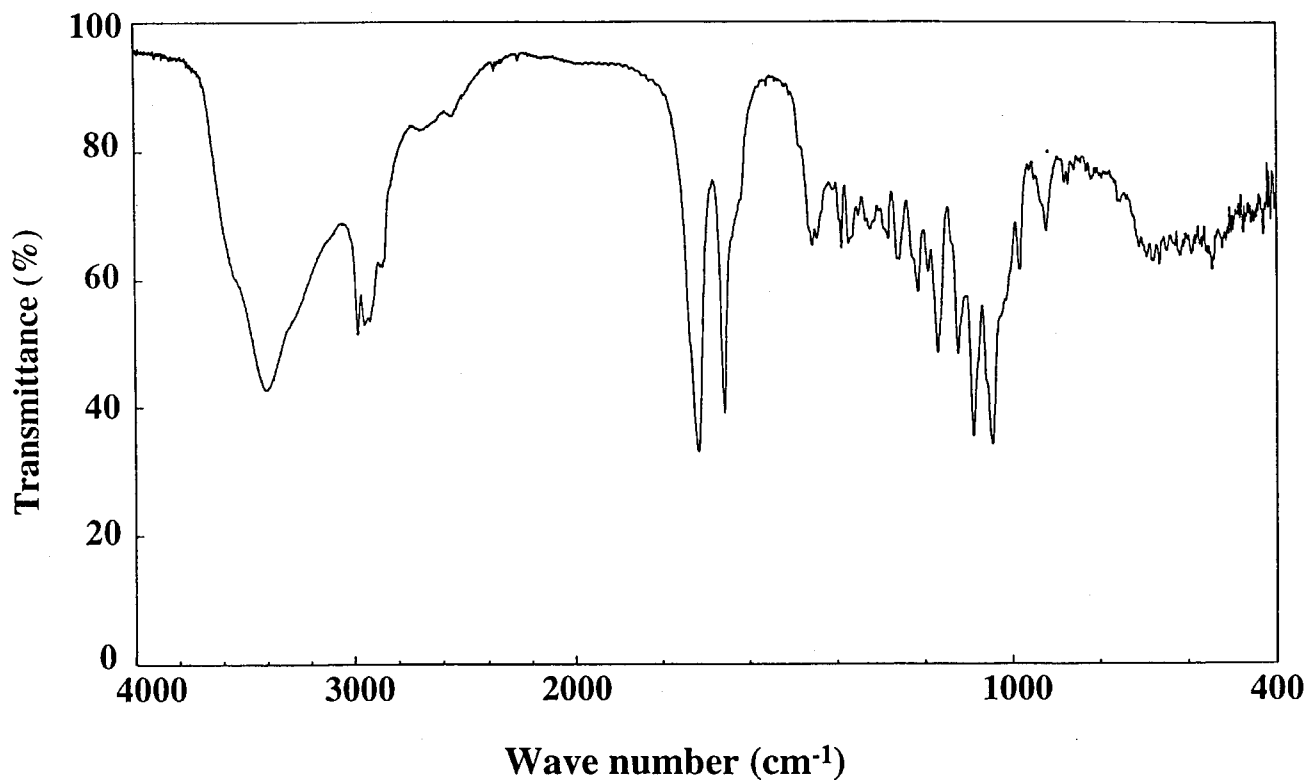


Fig.2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Glycyrrhizinic Acid Reference Standard

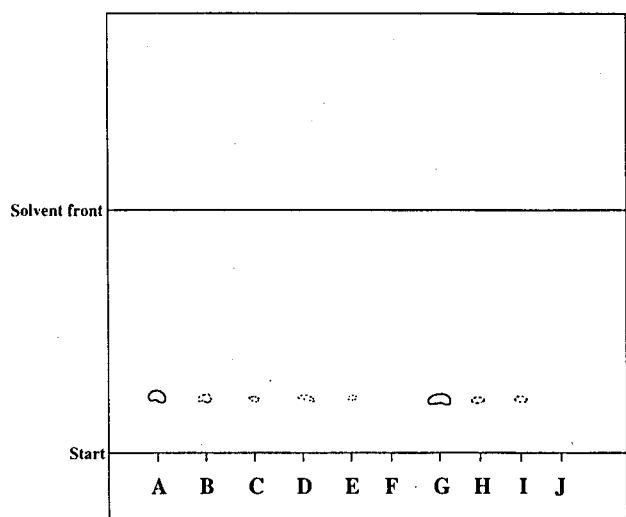


Fig.3 Thin-layer chromatograms of the raw material for Glycyrrhizinic Acid Reference Standard

Spot : 20 μg (A), 0.2 μg (B), 0.1 μg (C), 0.08 μg (D), 0.06 μg (E) and 0.04 μg (F) of the raw material; 20 μg (G), 0.2 μg (H), 0.1 μg (I) and 0.04 μg (J) of Glycyrrhizinic Acid Reference Standard (Control 991).

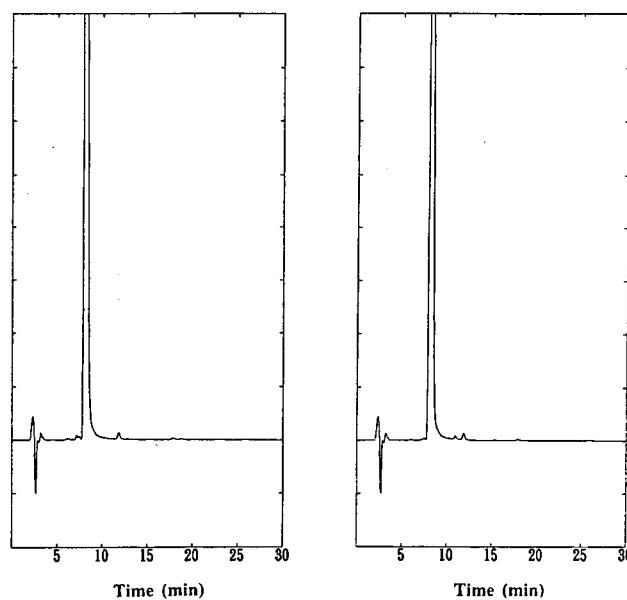


Fig.4 High-performance liquid chromatograms of the raw material (A) and Glycyrrhizinic Acid Reference Standard (Control 991) (B)

結 論

グリチルリチン酸標準品原料につき、日局標準品(Control 991)を対照にその品質を比較検討した結果、両者の間に物質特性の差はなく、標準品原料の純度は99.5%以上であることを認めた。これらの結果から、本標準品原料は国立医薬品食品衛生研究所標準品(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・配布することとした。

文 献

- 1) Hiroyuki Saito, Wako Kawaguchi, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Tsuyoshi Tanimoto, and Satoshi Okada : *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 195-198 (1999)

国立医薬品食品衛生研究所塩化ベルベリン標準品 (Control 001)

小出達夫・岩田美保・前川京子・斎藤博幸
谷本 剛[#]・岡田敏史

Berberine Hydrochloride Reference Standard
(Control 001) of National Institute of Health Sciences

Tatsuo Koide, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito,
Tsuyoshi Tanimoto[#], and Satoshi Okada

The raw material of Berberine Hydrochloride was examined for preparation of the "Berberine Hydrochloride Reference Standard". The analytical data obtained were: UV spectrum: λ_{\max} , 420, 345, 263 and 228 nm and specific absorbance ($E_{1\%}^{1\text{cm}}$) in ethanol at each λ_{\max} , 155, 724, 796 and 820, respectively; IR spectrum, specific absorptions at 2844, 1635, 1569, and 1506 cm^{-1} ; and the spectrum of raw material was consistent with that of Standard (Control 941). Also, thin-layer chromatography, an impurity was detected; high-performance liquid chromatography, several impurities were detected. The amount of each impurity was estimated at less than 0.1% and the total amount of impurities was less than 0.2%.

Based on the above results, the candidate material was authorized as the Berberine Hydrochloride Reference Standard (Control 001) of the National Institute of Health Sciences.

Keywords: berberine hydrochloride, quality evaluation, authorization, NIHS Reference Standard

第十三改正日本薬局方に収載されている「オウバク」、「オウバク末」、「オウレン」及び「オウレン末」中のベルベリン含量の定量に用いられる国立医薬品食品衛生研究所「塩化ベルベリン標準品 (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

標準品原料はアルプス薬品工業株式会社より入手した。同社による試験成績は次のとおりである。水分：12.43%，比吸光度 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (λ_{\max}): 648, HPLCによる純度試験：純度99.7%。

2. 参照物質及び試薬

日本薬局方塩化ベルベリン標準品 (Control 941；日局標準品と略称)¹⁾を対照物質とした。試薬及び溶媒は特級品又は特級相当品を用いた。

3. 装置

本標準品原料の品質評価試験にあたり、下記の測定装置を用いた。

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.

水分測定器：平沼産業, AQ-6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-10A型検出器, CT0-6A型カラムオープン及び資生堂製データ処理装置S-mc.

4. 試験方法

特に記すもののほかは、日局一般試験法を準用した。

1) 紫外吸収スペクトル

標準品原料約5mgを精密に量り、水10mlを加え、加温して溶かし、冷後、水を加えて正確に100mlとする。この液10mlを正確に量り、水を加えて正確に50mlとし、試料溶液とする。この液につき、210～500nmの波長範囲で紫外及び可視吸収スペクトルを測定する。吸収極大波長を求め、その吸光度より比吸光度を求める。別途、水分量を求め、無水物換算を行う。

2) 赤外吸収スペクトル

標準品原料を乾燥し(60℃, 1時間)、その2mgを量り、赤外吸収スペクトル測定用臭化カリウム0.2gと混合、磨砕した後、打錠する。この臭化カリウム錠剤につき、空気を対照に4000～400 cm^{-1} の範囲で赤外吸収スペクトルを測定する。

3) 薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験

標準品原料5mgをメタノール1mlに溶かし、試料溶液とする。この液40, 20, 10, 5 μl を量り、メタノールを加えてそれ

[#] 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

ぞれ正確に20mlとし、標準溶液1,2,3,4とする。試料溶液及び各標準溶液5 μ lにつき、以下の条件で薄層クロマトグラフ法による試験を行う。

薄層板：メルク社製プレコート薄層板シリカゲル60 F₂₅₄ (厚さ,0.25mm)。

展開溶媒：1-ブタノール/水/酢酸(100)混液(7:2:1)。

展開距離：10 cm

検出：1) 紫外線照射(主波長：254nm)

不純物スポットの蛍光または呈色の強さを標準溶液1~4のスポットのそれと比較し、不純物量を推定する。

4) 液体クロマトグラフ(HPLC)法による純度試験

標準品原料約5mgを精密に量り、メタノール10mlを加えて溶かし、試料溶液とする。この液1mlを正確に量り、メタノールを加えて正確に100mlとし、標準溶液とする。標準溶液5mlを正確に量り、メタノールを加えて正確に100mlとし、希釈標準溶液とする。試料溶液、標準溶液及び希釈標準溶液20 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。それぞれの液の各々のピーク面積を自動積分法により測定し、全ピーク面積に対する相対面積百分率を求める。

操作条件

検出器：紫外吸光度計(測定波長：345nm)

カラム：Tskgel ODS-80Ts(4.6mm ϕ ×150mm)

カラム温度：40℃付近の一定温度

移動相：ラウリル硫酸ナトリウム2g及び酒石酸0.4gを水450mlに溶かし、アセトニトリルを加えて1000mlとする。

流量：1.0ml/min

カラムの選定：塩化ベルベリン及び塩化パルマチン1mgずつをメタノールに溶かして10mlとする。この液20 μ lにつき、上記の条件で操作するとき、パルマチン、ベルベリンの順に溶出し、それぞれのピークが完全に分離するものを用いる。

検出感度：希釈標準溶液20 μ lにつき分析するとき、ベルベリンのピーク面積が自動積分法により確実にカウントされるように調整する。また、標準溶液20 μ lから得られるベルベリンのピーク高さがフルスケールの20%前後となるようにデータ処理装置の感度を調整する。

面積測定範囲：溶媒ピークの後、ベルベリンの保持時間の2倍の範囲

試験の再現性：上記の条件で標準溶液につき、試験を5回繰り返すとき、ベルベリンのピーク面積の相対標準偏差は1.5%以下である。

5) 水分

標準品原料約5mgを精密に量り、電量滴定法によるカールフィッシャー水分測定法により本候補品中の水分含量を測定する。

5. 試験結果

1) 紫外吸収スペクトル

標準品原料のメタノール溶液の紫外吸収スペクトルを測定するとき、波長420, 345, 263, 228nm付近に吸収の極大が観察され(Fig. 1)、極大吸収波長における比吸光度E_{1%}^{1cm}はそれぞれ155.24 \pm 2.24, 724.47 \pm 8.60, 796.49 \pm 9.73, 820.41 \pm 10.70, (n=11)であった。

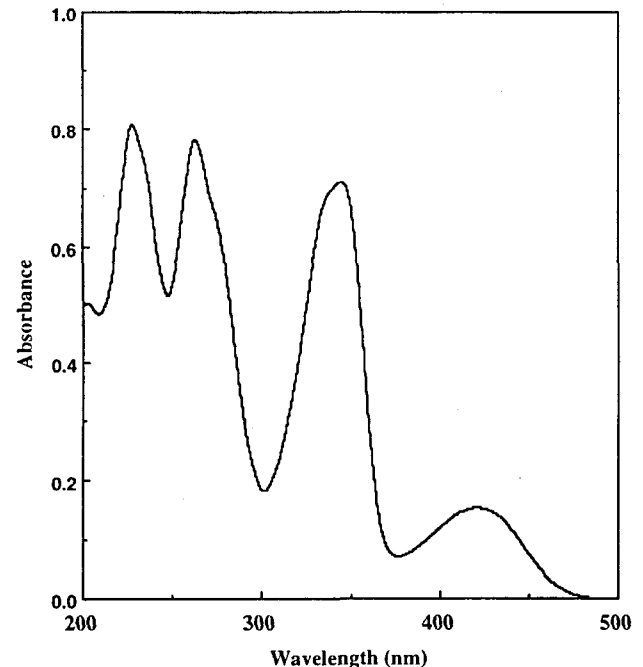


Fig.1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Berberine Hydrochloride Reference Standard

2) 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日局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。

3) 純度試験

(a) TLC法：標準品原料及び日局標準品の薄層クロマトグラムをFig.3に示した。標準品原料及び日局標準品とも、それらの試料溶液から1個の不純物スポットを検出したが、0.025%以下と推定され本標準品原料の純度に大きな影響をあたえるものではなかった。

(b) HPLC法：標準品原料及び日局標準品の液体クロマトグラムをFig.4に示した。標準品原料及び日局標準品とも、微量の不純物ピークが観察された。面積百分率で0.01%以上の不純物ピークの総量は、標準品原料で0.19 \pm 0.00%(n=3)、日局標準品で0.12%(n=2)と推定された。

4) 水分

標準品原料のカールフィッシャー法による水分含量は12.41 \pm 0.55%(n=5)であった。

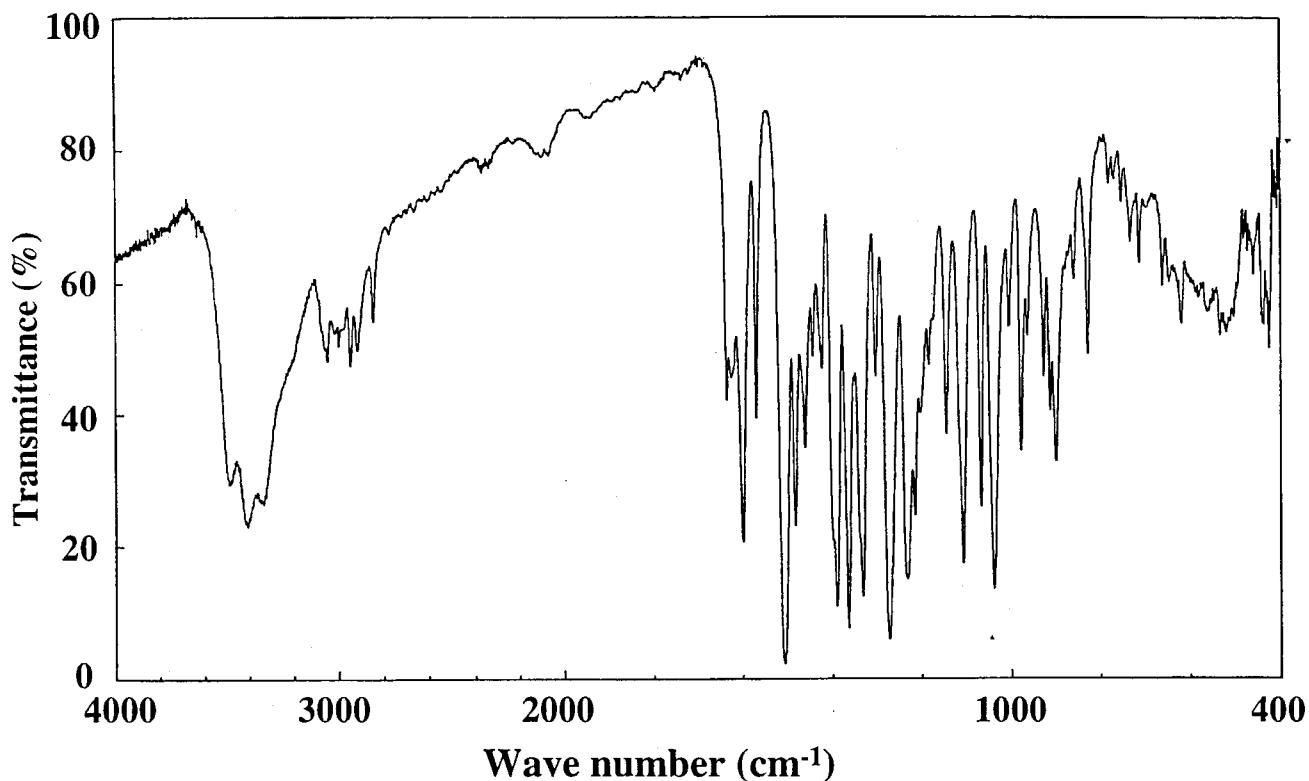


Fig.2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Berberine Hydrochloride Reference Standard

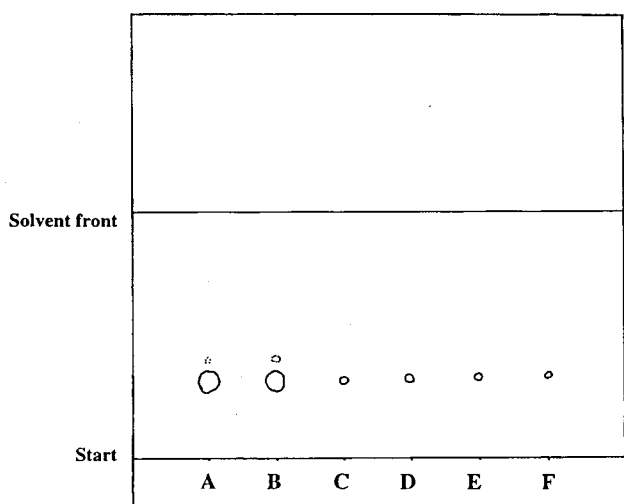


Fig.3 Thin-layer chromatograms of the raw material for Berberine Hydrochloride Reference Standard

Spot : 25 μg (A) of Berberine Hydrochloride Reference Standard (Control 941), 25 μg (B), 0.2 % (C), and 0.1 % (D) 0.05 % (E) and 0.025 % (F) of the raw material.

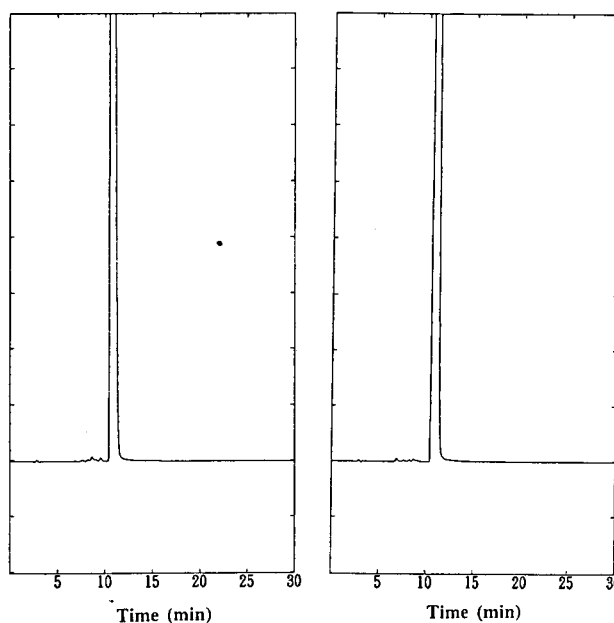


Fig.4 High-performance liquid chromatograms of the raw material (A) and Berberine Hydrochloride Reference Standard (Control 941) (B)

結 論

塩化ベルベリン標準品原料につき、日局標準品 (Control 941) を対照にその品質を比較検討した結果、両者の間に物質特性の差はなく、標準品原料の純度は99.5%以上であることを認めた。これらの結果から、本標準品原料は国立医薬品食品衛生研究所標準品 (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

布することとした。

文 献

- 1) Satoshi Okada, Aya Kitajima, Tsuyoshi Tanimoto, Hideyo Suzuki and Motokichi Satake : *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **113**, 121-126 (1995)

国立医薬品食品衛生研究所エルゴカルシフェロール標準品(Control 001)

前川京子・岩田美保・小出達夫・斎藤博幸
谷本 剛[#]・岡田敏史

Ergocalciferol Reference Standard (Control 001) of National Institute of Health Sciences

Keiko Maekawa, Miho Iwata, Tatsuo Koide, Hiroyuki Saito,
Tsuayoshi Tanimoto[#], and Satoshi Okada

The raw material of ergocalciferol was examined for the preparation of "Ergocalciferol Reference Standard (Control 001)". Analytical data obtained were: melting point, 114.8°C; UV and infrared spectra, the same as those of JP Ergocalciferol Reference Standard (Control 971); specific absorbance, $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 471(265 \text{ nm})$; optical rotation, $[\alpha]_D^{20} = +102.4^\circ$; thin-layer chromatography, no impurities were detected until 100 μg ; high-performance liquid chromatography (HPLC), total amount of impurities estimated to be less than 0.1%.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Ergocalciferol Reference Standard (Control 001).

Keywords : ergocalciferol, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard

第十三改正日本薬局方「エルゴカルシフェロール」の確認試験および定量法に用いられる“国立医薬品食品衛生研究所エルゴカルシフェロール標準品 (Control 001)” (日本薬局方標準品) をを製造したので報告する。

1. 標準品原料

標準品原料は第一製薬株式会社より入手した。本標準品原料は、高純度のエルゴカルシフェロール約100mgをアンプルに小分け・充填し、窒素置換した後、溶封されたものである。

2. 参照物質および試薬

日本薬局方エルゴカルシフェロール標準品 (Control 971; 日局標準品と略称)¹⁾を対照に試験を行った。試薬は特級品又は特級相当品を用いた。

3. 装置

標準品原料の品質評価試験にあたり、下記の測定装置を用いた。

セミマイクロ上皿電子天秤: メトラー, AE-240 型。

自記分光光度計: 島津製作所, UV-2500 (PC) S 型。

赤外分光光度計: 日本分光, FT-IR VALOR- III。

旋光計: 日本分光, DIP-370 型。

融点測定器: 宮本理研, PA-20S 型。

液体クロマトグラフ装置: 島津製作所製の LC-6A 型ポンプ, SPD-10A 型検出器, CTO-6A 型カラムオープン, 東ソー製の AS-8010 型オートサンプラー, 資生堂製データ処理装置 S-MC 及び恒温水槽 (東洋科学, TE-104S 型)。

4. 試験方法

特に記すもののほかは、第十三改正日本薬局方の一般試験法および医薬品各条「エルゴカルシフェロール」の試験法を準用した。

1) 薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験

薄層板: メルク社製プレコート薄層板シリカゲル 60F254 (厚さ, 0.25mm)。

展開溶媒: シクロヘキサン/ジエチルエーテル混液 (1:1)。

試料溶液及び標準溶液: 標準品原料及び日局標準品約 10mg を精密に量り、それぞれにクロロホルム 1ml を正確に加えて溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。

操作法及び検出法: 試料溶液及び標準溶液の 5~10 μl (エルゴカルシフェロール 50~100 μg 相当量) をシリカゲル薄層板に窒素ガスを吹きつけながらスポットし、暗所で約 15cm 展開した後、風乾する。薄層板に濃硫酸を均等に噴霧した後、100°C で 5 分間加熱し、直ちに肉眼で観察する。

2) 液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験

標準品原料及び日局標準品約 5mg ずつを精密に量り、それ

[#] To whom correspondence should be addressed:

Tsuayoshi 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

それぞれにイソオクタン 4ml を正確に加えて溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。これらの液 10 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：254nm）

カラム：Chemcosorb 5Si（4.0mm ϕ x 150mm）

移動相：ヘキサン/n-アミルアルコール混液（997:3）

流量：2.0ml/min

カラム温度：20 $^{\circ}$ C

カラムの選定：日局「エルゴカルシフェロール」の定量法におけるカラムの選定を準用する。

検出感度：標準溶液 1ml を正確に量り、イソオクタンを加えて正確に 100ml とした液 10 μ l から得たエルゴカルシフェロールの高さが記録紙のフルスケールの約 10% の高さになるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整する。更に、標準溶液 1ml を正確に量り、イソオクタンを加えて正確に 2000ml とした液 10 μ l から得たエルゴカルシフェロールのピーク面積が自動積分法で測定されるように装置の分析パラメーターを設定する。

面積測定範囲：溶媒ピークの後、エルゴカルシフェロールの保持時間の 2 倍の範囲。

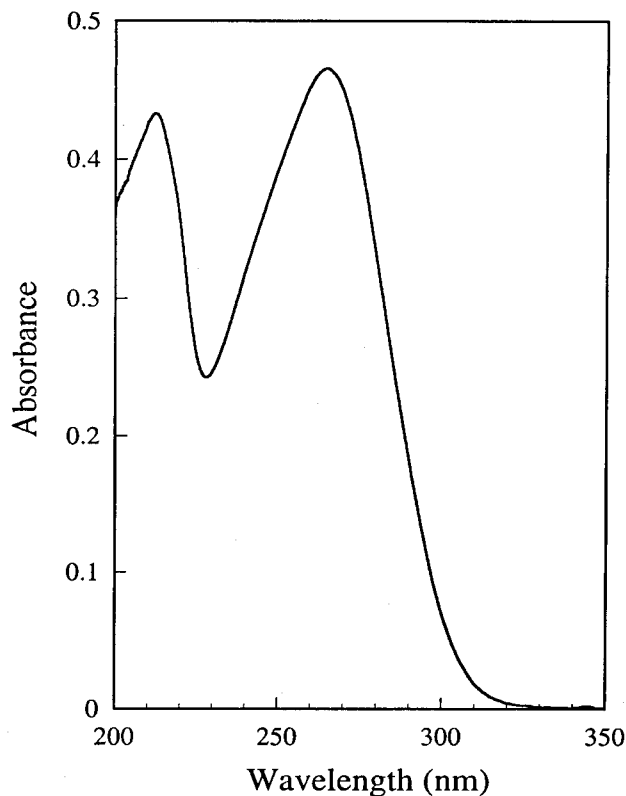


Fig.1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Ergocalciferol Reference Standard

5. 試験結果

1) 性状：白色の結晶で、においはない。

2) 融点：114.8 $^{\circ}$ C

3) 紫外吸収スペクトル及び比吸光度

標準品原料のエタノール溶液の紫外吸収スペクトルを測定するとき、波長 265nm に吸収の極大が認められた (Fig. 1)。

この波長における比吸光度 $E_{1\%}^{1cm}(265nm)$ は 471 であった。日

局「エルゴカルシフェロール」における比吸光度規格は 445 ~ 485 であることから、本標準品原料の比吸光度 = 471 は日局規格に適合した。

4) 赤外吸収スペクトル

標準品原料及び日局標準品の赤外吸収スペクトルを臭化

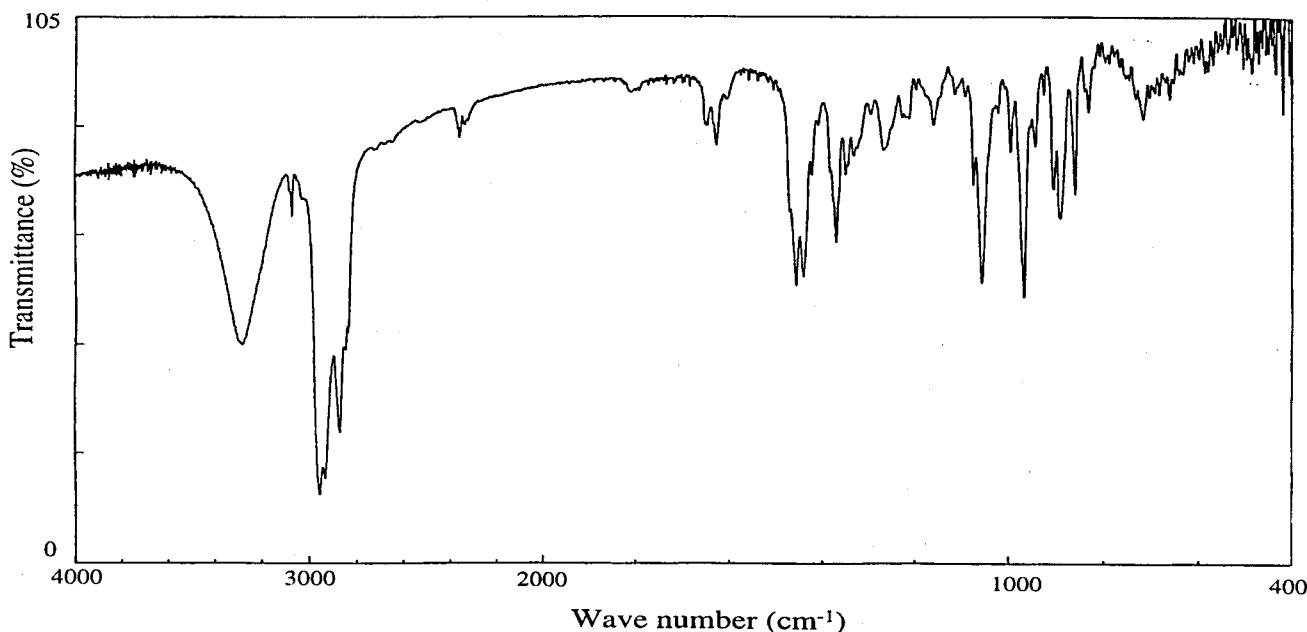


Fig.2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Ergocalciferol Reference Standard

カリウム錠剤法により測定し、両者のスペクトルを比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収が認められた。Fig. 2 に標準品原料の赤外吸収スペクトルを示す。

5) 旋光度

$[\alpha]_D^{20} = +102.4^\circ$ (0.05g, エタノール, 1000ml) . 日局「エルゴカルシフェロール」の旋光度規格は、同一条件下で $+102 \sim +107^\circ$ であり、標準品原料の旋光度は日局規格に適合した。

6) TLC 法による純度試験

標準品原料と日局標準品について得られた薄層クロマトグラムを Fig. 3 に示す。標準品原料及び日局標準品ともスポット量100 μ gまで不純物スポットは観察されなかった。なお、本法によるエルゴカルシフェロールの検出限界は0.10 μ gであった。

7) HPLC 法による純度試験

標準品原料と日局標準品の液体クロマトグラムの一例を Fig. 4 に示す。標準品原料及び日局標準品ともに微量の不純物ピークが検出された。面積百分率で求めた不純物ピークの総量は標準品原料で $0.072 \pm 0.011\%$ (n=3), 日局標準品で $0.068 \pm 0.002\%$ (n=2) と推定された。

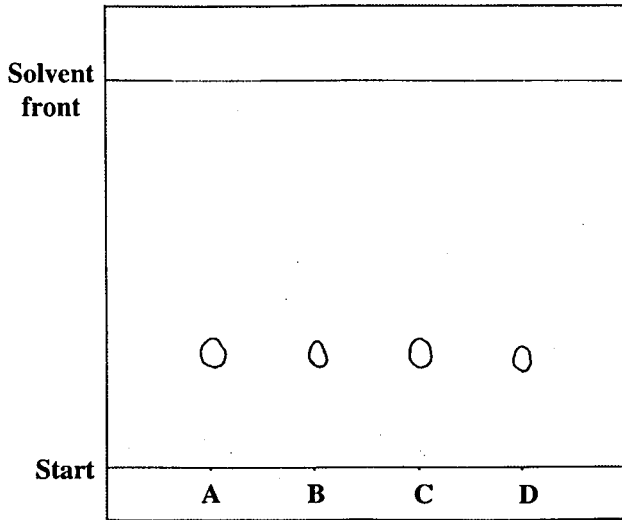


Fig.3 Thin-layer chromatogram of the raw material and Ergocalciferol Reference Standard (control 971)

Solvent system: cyclohexane/diethylether (1:1)

Spot: A and B are 100 μ g and 50 μ g of the raw material, respectively.

C and D are 100 μ g and 50 μ g Ergocalciferol Reference Standard (control 971), respectively.

結 論

標準品原料として入手したエルゴカルシフェロールを日局標準品を対照に比較検討した結果、本標準品原料は、液体クロマトグラフ法による定量法及び赤外吸収スペクトル測定法による確認試験のための標準品として十分な品質を有することが明らかとなったので、国立医薬品食品衛生研究所エルゴカルシフェロール標準品(Control 001) (日本薬局方標準品) として製造・配布することとした。

文 献

- 1) 岩田美保, 北島 文, 前川京子, 斉藤博幸, 谷本 剛, 岡田敏史: 衛生研報, 116, 180 (1998)

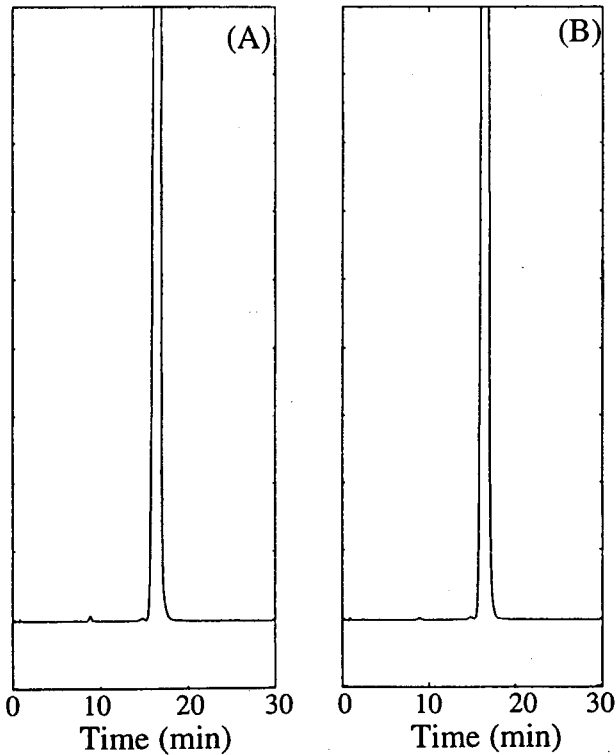


Fig.4 High-performance liquid chromatograms of the raw material (A) and Ergocalciferol Reference Standard (Control 971) (B)

国立医薬品食品衛生研究所アルプロスタジル標準品 (Control 001)

前川京子・岩田美保・小出達夫・斎藤博幸
谷本 剛[#]・岡田敏史

Alprostadil Reference Standard (Control 001) of National
Institute of Health Sciences

Keiko Maekawa, Miho Iwata, Tatsuo Koide, Hiroyuki Saito,
Tsuyoshi Tanimoto[#], and Satoshi Okada

The raw material of Alprostadil was examined for the preparation of "Alprostadil Reference Standard (Control 001)". Analytical data obtained were: IR spectrum, same as that of the Alprostadil Reference Standard (Control 923); thin-layer chromatography, no impurities were detected until 20 µg; high-performance liquid chromatography (HPLC), total amount of impurities estimated to be less than 0.2%.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Alprostadil Reference Standard (Control 001).

Key words: Alprostadil, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard

第十三改正日本薬局方「アルプロスタジル アルファデクス」の液体クロマトグラフ (HPLC) 法による定量法に用いられる国立医薬品食品衛生研究所「アルプロスタジル標準品 (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

本標準品原料は、小野薬品工業株式会社より供給された。本品の保存は、遮光気密容器中、冷所 (5℃以下) 保存とした。同社による主な試験成績は以下のとおりである: 純度試験 (TLC), 主スポット以外のスポットは認めない; 純度試験 (HPLC), 不純物ピークを認めない; 定量 (滴定法) 100.1%。

2. 参照物質および試薬

日本薬局方アルプロスタジル標準品 (Control 923; 日局標準品と略称) ¹⁾ を対照に試験を行った。試薬は特級品又は特級相当品を用いた。

3. 装置

本標準品原料の品質評価試験にあたり、下記の測定装置を用いた。

セミマイクロ上皿電子天秤: メトラー, AE-240 型。

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-10A 型検出器, CTO-6A 型カラムオープン, 東ソー製の AS-8010 型オートサンプラー, 資生堂製データ処理装置 S-MC。

4. 試験方法

1) 赤外吸収スペクトル測定

標準品原料又は日局標準品の 2mg と赤外吸収スペクトル測定用臭化カリウム 120mg をめのう乳鉢中で混合磨砕した後、マイクロ錠剤成形器により試料及び日局標準品を含有する臭化カリウム錠剤を調製する。これらの試料及び対照標準品につき、日局一般試験法「赤外吸収スペクトル測定法」により、吸収スペクトルを測定する。

2) TLC 法による純度試験

薄層板: プレコーテッド薄層板シリカゲル 60 (厚さ, 0.25mm; メルク社製)

展開溶媒: 酢酸エチル・ヘキサン・氷酢酸混液 (10:2:1)

試料溶液及び標準溶液: 標準品原料及び日局標準品 2.0mg を正確に量り、酢酸エチル 1.0ml に正確に溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。さらにこれらの液 0.1ml を正確に量り、酢酸エチルを加えて 10ml する。

操作法及び検出法: 試料溶液及び標準溶液の 10 µl (アルプロスタジル 20 µg 相当量) 及びその希釈液 1~10 µl (0.02~0.2 µg 相当量) をシリカゲル薄層板にスポットし、約 10cm 展開した後、風乾する。薄層板にリンモリブデン酸のエタノ

[#] To whom correspondence should be addressed:

Tsuyoshi Tanimoto; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-941-1533; Fax: 06-942-0716;
E-mail: tanimoto@nihs.go.jp

ール溶液 (1→4) を噴霧し, 100°C, 5 分間加熱し, 直ちに肉眼で観察する.

3) HPLC 法による純度試験

標準品原料及び日局標準品 4.0mg を正確に量り, エタノール 4ml に溶かし, 試料溶液及び標準溶液とする. これらの液 10 µl につき, 次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う.

操作条件

検出器: 紫外吸光度計 (測定波長: 205nm)

カラム: TSK-GEL ODS-80Ts (4.6mm φ x 150mm)

カラム温度: 25°C

移動相: 0.02mol/l リン酸二水素カリウム試液・アセトニトリル混液 (3:2)

流量: 1.0ml/min

カラムの選定: 日局標準品 3.0mg を正確に量り, エタノール 5ml に溶かし, 内標準溶液 5ml を正確に加え, 水を加えて 15ml とする. この液 10 µl につき, 上記の条件で操作するとき, アルプロスタジル, 内標準物質の順に溶出し, その分離度が 5 以上であることを確認する.

内標準溶液: パラオキシ安息香酸プロピルの希エタノール溶液 (1→15000)

検出感度: 試料注入量の 1/100 に相当する量を注入するとき, 得られる主ピークの高さがフルスケールの約 10% になるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整する. さ

らに, この条件で試料注入量の 1/2000 に相当する量を注入するとき, 得られる主ピークの面積が必ず検出されるように分析パラメーターを設定する.²⁾

5. 試験結果

1) 赤外吸収スペクトル測定法による確認

Fig. 1 に標準品原料の赤外吸収スペクトルを示す. 標準品原料および日局標準品の赤外吸収スペクトルを比較するとき, 同一波数のところに同様の強度の吸収が認められた.

2) 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. 2 に示す. 標準品原料及び日局標準品とも 20 µg のスポット量まで不純物スポットは認められなかった. なお, 本法によるアルプロスタジルの検出限界は 0.04 µg であった.

3) HPLC 法による純度試験

標準品原料および日局標準品につき, HPLC 法による純度試験で得られたクロマトグラムの一例を Fig. 3 に示した. 標準品原料及び日局標準品ともに微量の不純物ピークが検出された. 面積百分率で求めた不純物ピークの総量は標準品原料で 0.124 ± 0.008% (n=3), 日局標準品で 0.167 ± 0.002% (n=2) と推定された. なお, 液体クロマトグラム上の 5.0 分付近のピークは移動相由来のゴーストピークであることを確認している.

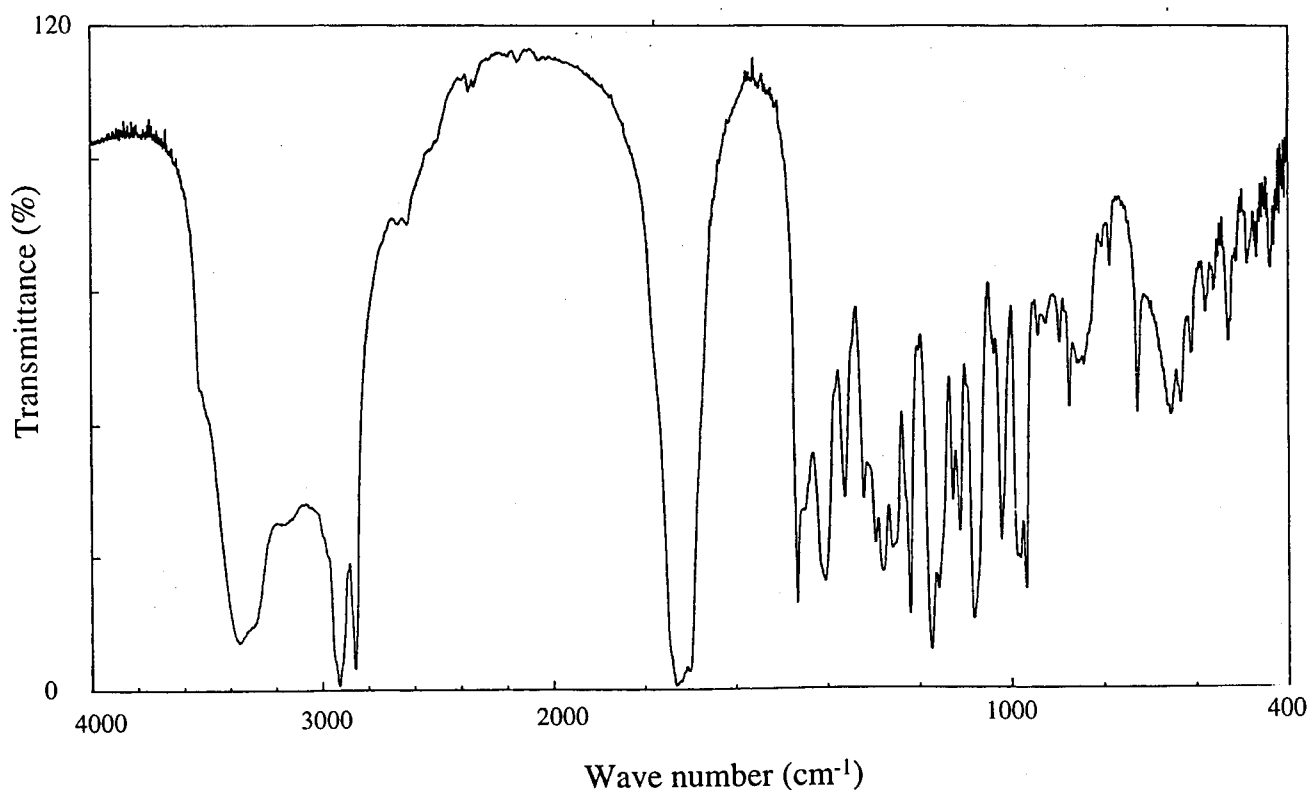


Fig.1 Infrared absorption spectrum of the raw material for Alprostadil Reference Standard

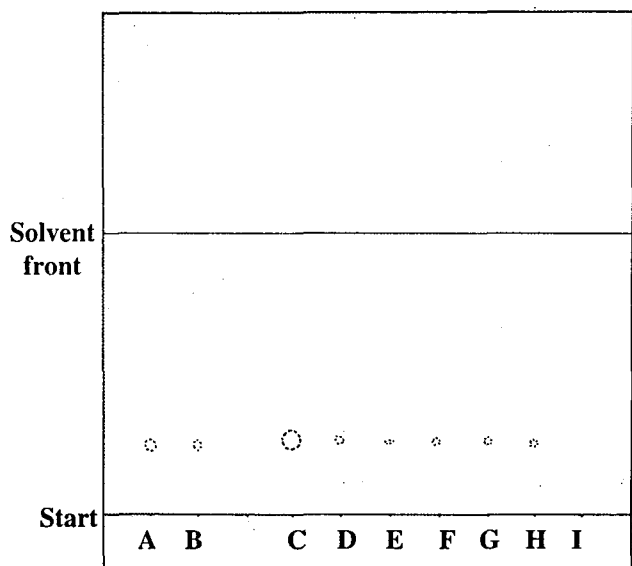


Fig.2 Thin-layer chromatogram of the raw material and Alprostadil Reference Standard (control 923)

Solvent system : ethyl acetate/hexane/acetic acid (10:2:1)

Spot: A and B are 20 μg , 0.2 μg Alprostadil Reference Standard (control 923)

C to I are 20 μg , 0.2 μg , 0.1 μg , 0.08 μg , 0.06 μg , 0.04 μg , 0.02 μg of the raw material, respectively.

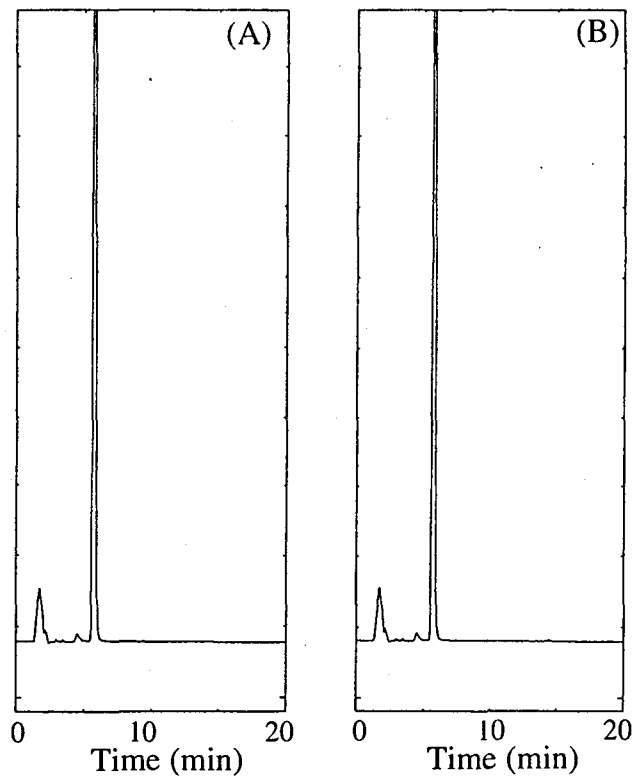


Fig. 3 High-performance liquid chromatograms of the raw material (A) and Alprostadil Reference Standard (control 923) (B)

結 論

標準品原料として入手したアルプロスタジルを日局標準品を対照に比較検討した結果、本標準品原料は、HPLC法による定量用標準物質として十分な品質を有することが明らかとなったので、国立医薬品食品衛生研究所アルプロスタジル標準品(Control 001)(日本薬局方標準品)として製造・配布することとした。

文 献

- 1) 北島 文, 吉井公彦, 小松裕明, 石光 進, 岡田敏史: 衛生試報, **112**, 188 (1994)
- 2) 木村俊夫, 綱川延孝, 中川律夫: 副腎皮質ステロイドの標準品について, 医薬品研究, **17**, 143 ~ 173 (1986)

国立医薬品食品衛生研究所コレカルシフェロール標準品 (Control 001)

前川京子・岩田美保・小出達夫・斎藤博幸
谷本 剛[#]・岡田敏史

Cholecalciferol Reference Standard (Control 001) of National Institute of Health Sciences

Keiko Maekawa, Miho Iwata, Tatsuo Koide, Hiroyuki Saito,
Tsuyoshi Tanimoto[#], and Satoshi Okada

The raw material of cholecalciferol was examined for the preparation of "Cholecalciferol Reference Standard (Control 001)". Analytical data obtained were: melting point, 83.2°C ; UV and infrared spectra, the same as those of JP Cholecalciferol Reference Standard (Control 971), respectively; specific absorbance at 265 nm, $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 478$; optical rotation, $[\alpha]_D^{20} = +108.6^\circ$; thin-layer chromatography, no impurities were detected until 100 µg ; high-performance liquid chromatography (HPLC), total amount of impurities estimated to be less than 0.05%.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Cholecalciferol Reference Standard (Control 001).

Keywords: cholecalciferol, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard

第十三改正日本薬局方「コレカルシフェロール」の確認試験及び定量法に用いられる“国立医薬品食品衛生研究所コレカルシフェロール標準品 (Control 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

標準品原料は第一製薬株式会社より入手した。本標準品原料は、高純度のエルゴカルシフェロール約100mgをアンプルに小分け・充填し、窒素置換した後、溶封されたものである。

2. 参照物質および試薬

日本薬局方コレカルシフェロール標準品 (Control 971 ; 日局標準品と略称)¹⁾を対照に試験を行った。試薬は特級品又は特級相当品を用いた。

3. 装置

本標準品原料の品質評価試験にあたり、下記の測定装置を用いた。

セミマイクロ上皿電子天秤：メトラー，AE-240型。

自記分光光度計：島津製作所，UV-2500(PC)S型。

赤外分光光度計：日本分光，FT-IR VALOR-Ⅲ。

旋光計：日本分光，DIP-370型。

融点測定器：宮本理研，PA-20S型。

液体クロマトグラフ装置：島津製作所製のLC-6A型ポンプ，SPD-10A型検出器，CTO-6A型カラムオープン，東ソー製のAS-8010型オートサンプラー，資生堂製データ処理装置S-MC及び恒温水槽（東洋科学，TE-104S型）。

4. 試験方法

特に記すもののほかは、第十三改正日本薬局方の一般試験法および医薬品各条「コレカルシフェロール」の試験法を準用した。

1) 薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験

薄層板：メルク社製プレコート薄層板シリカゲル60F254 (厚さ，0.25mm)。

展開溶媒：シクロヘキサン/ジエチルエーテル混液 (1:1)。

試料溶液及び標準溶液：標準品原料及び日局標準品約10mgを精密に量り、それぞれにクロロホルム1mlを正確に加えて溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。

操作法及び検出法：試料溶液及び標準溶液の5~10 µl (コレカルシフェロール50~100 µg相当量) をシリカゲル薄層板に窒素ガスを吹きつけながらスポットし、暗所で約15cm展開した後、風乾する。薄層板に濃硫酸を均等に噴霧した後、100°Cで5分間加熱し、直ちに肉眼で観察する。

1) 液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験

標準品原料及び日局標準品約5mgずつを精密に量り、それ

[#] To whom correspondence should be addressed:
Tsuyoshi Tanimoto ; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006,
Japan ; Tel : 06-941-1533 ; Fax : 06-942-0716 ;
E-mail : tanimoto@nihs.go.jp

それにイソオクタン4mlを正確に加えて溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。これらの液10 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：254nm）

カラム：Chemcosorb 5Si（4.0mm ϕ x 150mm）

移動相：ヘキサン/n-アミルアルコール混液（997:3）

流量：2.0ml/min

カラム温度：20°C

カラムの選定：日局「コレカルシフェロール」の定量法におけるカラムの選定を準用する。

検出感度：標準溶液1mlを正確に量り、イソオクタンを加えて正確に100mlとした液10 μ lから得たコレカルシフェロールの高さが記録紙のフルスケールの約10%の高さになるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整する。更に、標準溶液1mlを正確に量り、イソオクタンを加えて正確に2000mlとした液10 μ lから得たコレカルシフェロールのピーク面積が自動積分法で測定されるように装置の分析パラメーターを設定する。

面積測定範囲：溶媒ピークの後、コレカルシフェロールの保持時間の2倍の範囲。

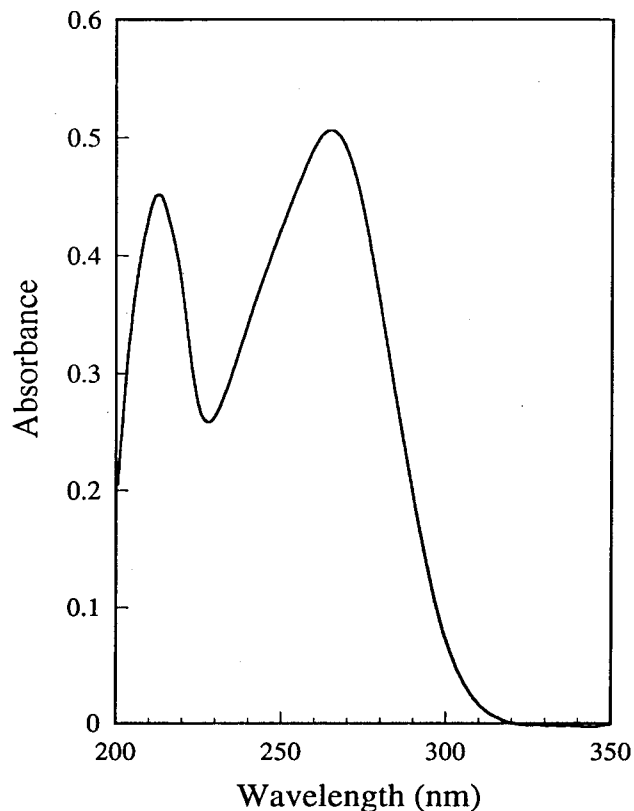


Fig. 1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Cholecalciferol Reference Standard

5. 試験結果

1) 性状：白色の結晶で、においはない。

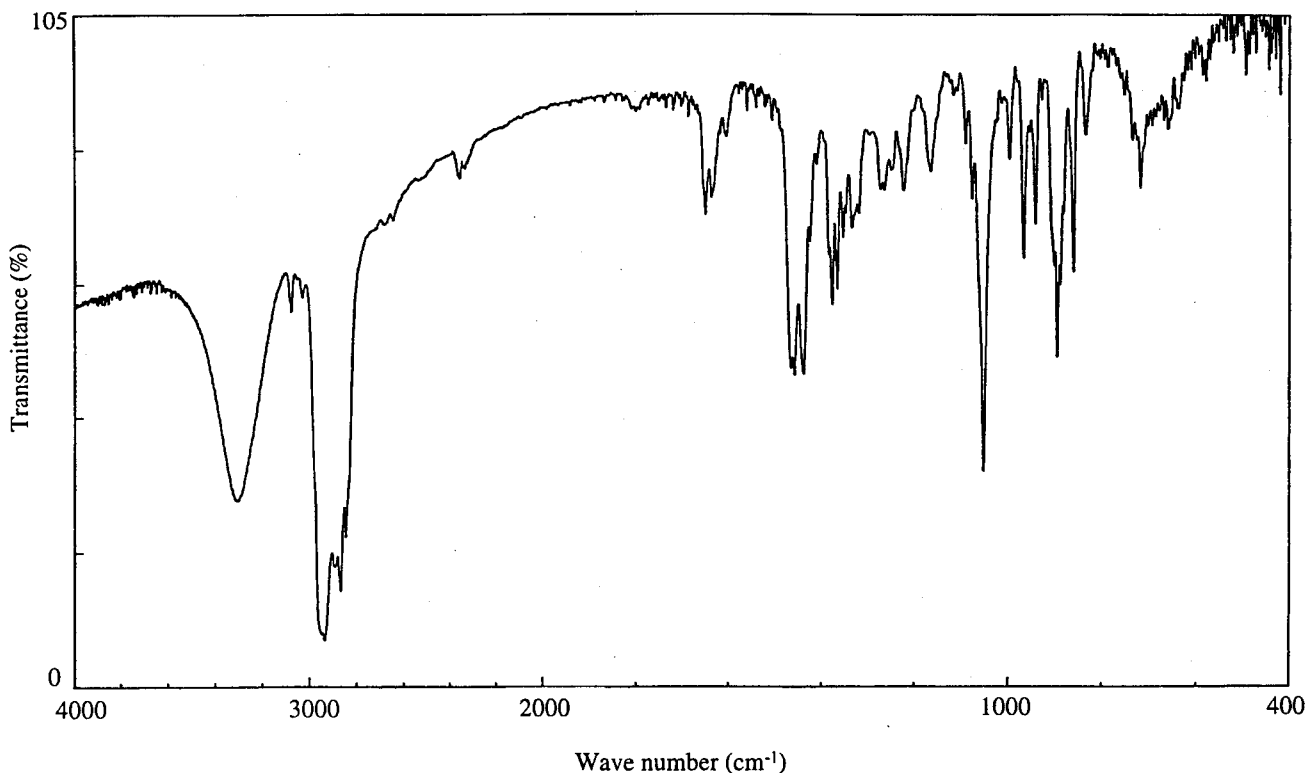


Fig. 2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Cholecalciferol Reference Standard

2) 融点 : 83.2°C

3) 紫外吸収スペクトル及び比吸光度

標準品原料のエタノール溶液の紫外吸収スペクトルを測定するとき、波長265nmに吸収の極大が認められた (Fig. 1)。この波長における比吸光度 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (265nm) は478であった。日局「コレカルシフェロール」の比吸光度の規格は、同一条件で450～490であることから、本標準品原料の比吸光度478は日局規格に適合した。

4) 赤外吸収スペクトル

標準品原料及び日局標準品の赤外吸収スペクトルを臭化カリウム錠剤法により測定し、両者のスペクトルを比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収が認められた。Fig. 2に標準品原料の赤外吸収スペクトルを示す。

5) 旋光度

$[\alpha]_D^{20} = +108.6^\circ$ (0.05g, エタノール, 1000ml)。日局「コレカルシフェロール」の旋光度規格は、同一条件下で $+103^\circ \sim +112^\circ$ であり、標準品原料の旋光度は日局規格に適合した。

6) 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に示す。標準品原料及び日局標準品とも100 μg のスポット量まで不純物スポットは認められなかった。なお、本法によるコレカルシフェロールの検出限界は0.1 μg であった。

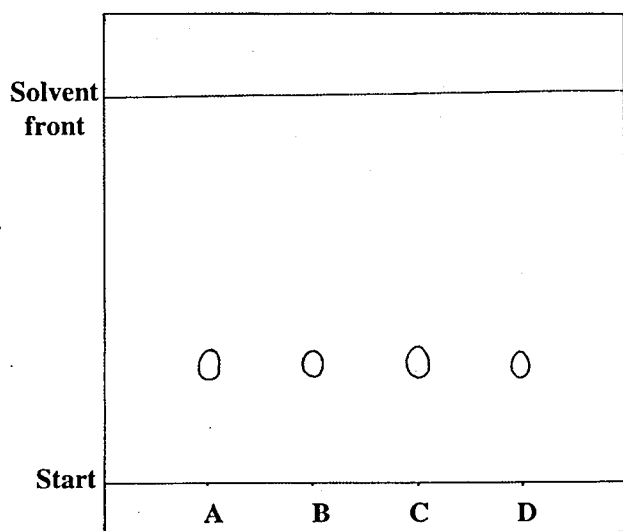


Fig. 3 Thin-layer chromatogram of the raw material and Cholecalciferol Reference Standard (control 971)

Solvent system: cyclohexane/diethylether (1:1)

Spot: A and B are 100 μg and 50 μg of the raw material, respectively.

C and D are 100 μg and 50 μg Cholecalciferol Reference Standard (control 971), respectively.

7) TLC法による純度試験

標準品原料及び日局標準品の液体クロマトグラムの一例をFig. 4に示す。標準品原料及び日局標準品ともに面積百分率法で0.05%以上の不純物は検出されず、本標準品原料は極めて高純度に精製されたものであることが明らかとなった。面積百分率で求めた不純物ピークの総量は標準品原料で $0.027 \pm 0.005\%$ (n=3), 日局標準品で $0.043 \pm 0.004\%$ (n=2)と推定された。

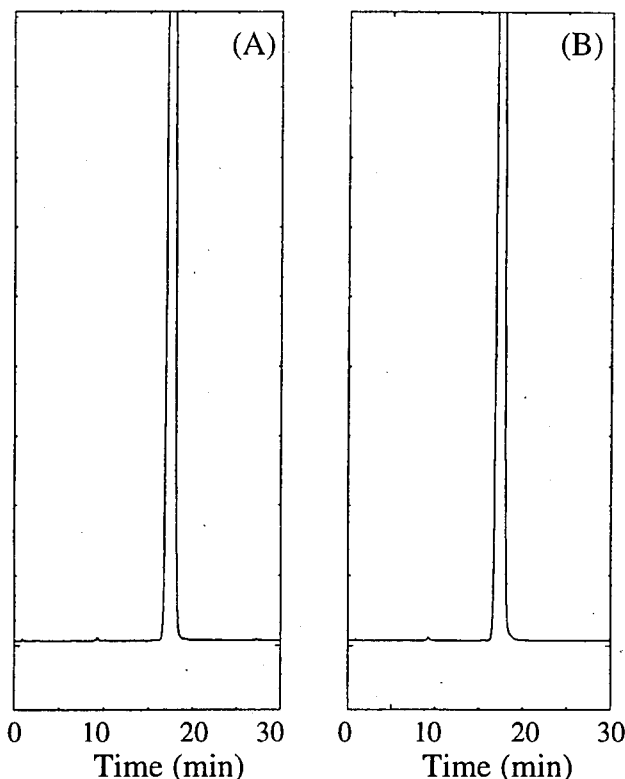


Fig. 4 High-performance liquid chromatograms of the raw material (A) and Cholecalciferol Reference Standard (control 971) (B)

結 論

標準品原料として入手したコレカルシフェロールを日局標準品を対照に比較検討した結果、本標準品原料は、液体クロマトグラフ法による定量法及び赤外吸収スペクトル測定法による確認試験のための標準品として十分な品質を有することが明らかとなったので、国立医薬品食品衛生研究所コレカルシフェロール標準品 (Control 001) (日本薬局方標準品) として製造・配布することとした。

文 献

- 1) 岩田美保, 北島 文, 前川京子, 斎藤博幸, 谷本 剛, 岡田敏史: 衛生研報, 116, 174 (1998)

国立医薬品食品衛生研究所エンドトキシン100標準品
(日本薬局方エンドトキシン100標準品) (Control 0101)

中川ゆかり[#]・前田秀子・村井敏美・堀内善信^{*}

The Endotoxin 100 Reference Standard of the National Institute of Health Sciences
(the Japanese Pharmacopoeia Endotoxin 100 Reference Standard) (Control 0101)

Yukari Nakagawa[#], Hideko Maeda, Toshimi Murai, Yoshinobu Horiuchi^{*}

To establish the second lot (Control 0101) of the Endotoxin 100 Reference Standard of the National Institute of Health Sciences (the Japanese Pharmacopoeia Endotoxin 100 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 100 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 second lot of the Endotoxin 100 Reference Standard containing 100 EU of endotoxin per vial.

Keyword : endotoxin, reference standard

国立医薬品食品衛生研究所エンドトキシン100標準品(日本薬局方エンドトキシン100標準品)の新ロット(第2回標準品, Control 0101)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。

実験材料及び方法

1. 標準品原料及び製造

国立医薬品食品衛生研究所エンドトキシン10000標準品(1バイアル当たりエンドトキシン2 μ g, マンニトール40 mg/ml 含む)をエンドトキシン試験用水で溶解し, 安定剤として新たにポリエチレングリコール及びトリエタノールアミンを添加した。希釈により最終的に0.5 ml 当たりエンドトキシン12.9 ng, ポリエチレングリコール#6000 0.02 mg, グリセロール0.5 μ l, トリエタノールアミン0.005 μ l, マンニトール0.26 mgを含む溶液を調製した。この溶液を1バイアル当たり0.5 ml ずつ無菌的に充てんして凍結乾燥し, 窒素置換して打栓したものを標準品候補品とした(生化学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(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)関係企業として生化学工業株式会社, 和光純薬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(Endospey ES-50M, lot 36M037; 生化学工業, Limulus ES-II Test Wako, lot EMM2101; 和光純薬工業, Kinetic-QCL Kit, lot 0L126A; 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-比濁法, Endospey ES-50M及びKinetic-QCL Kitはカイネティック-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(140 EU/vialと仮定)をエンドトキシン試験用水に溶解し, 前者については5,000 EU/ml, 後者については100 EU/mlの原液を調製した。なお, これら

^{*}国立感染症研究所

[#]To Whom correspondence should be addressed:

Yukari Nakagawa; 1-1-43, Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-6941-1533 ext. 21; Fax: 06-6941-5672; E-mail: yukari@nihs.go.jp

についてバイアル間でば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。

$$wM = \{ \sum (Mi/Vmi) \} / \sum (1/Vmi)$$

結果及び考察

標準品候補品の力価を 140 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ールに準拠し、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。プロトコー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 = -0.1360 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 0.7311 と算定された。この成績より、標準品候補品の力価は 102 EU/vial と推定された。

以上の成績に基づき、本標準品候補品の力価を 100 EU/vial と決定した。

	LAL reagent/Laboratory ¹⁾								
	ES-II			Endospey			Kinetic-QCL		
	A	B	E	A	C	E	A	D	E
M ^{a)}	0.0011	-0.1703	-0.0264	-0.1335	-0.2113	-0.1610	-0.1551	-0.2322	-0.1777
Ve ^{b)}	0.0000037	0.0000103	0.0000757	0.0052373	0.0012513	0.0029202	0.0001008	0.0001974	0.0002727
Vm ^{c)}	0.000095	0.000070	0.000126	0.000398	0.000090	0.000186	0.000113	0.000183	0.000245
w ^{d)}	10554.8	14352.2	7942.7	2510.5	11074.3	5371.4	8887.4	5451.9	4085.4
wM ^{e)}	-0.1360								
antilog wM	0.7311								

^{a)} M: mean log R.P. (n=9), R.P.: relative potency.
^{b)} Ve: error variance.
^{c)} Vm: variance of M.
^{d)} w: weight.
^{e)} wM: weighted mean of M.
¹⁾ A-E: laboratories participated in the collaborative study.

Table 1. Summary of the collaborative study for determining relative potency of the candidate standard against USP endotoxin reference standard

結 論

今回新たに製造したエンドトキシン100標準品候補品の力価について、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、候補品の力価は100 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100標準品（日本薬局方エンドトキシン100標準品）(Lot 2, Control 0101) とし、その1バイアル中にエンドトキシン100 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生化学工業株式会社、和光純薬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)

平成12年度国立医薬品食品衛生研究所 業務報告にあたって

所 長 首 藤 紘 一

国立衛生試験所は医薬品医療機器審査センターの設置を契機に、平成9年7月に国立医薬品食品衛生研究所と名称を変更した。本研究所は従来から行政に密着した業務に多大な力を注いできている。そのなかにあつての名称変更には、試験業務に加えて研究業務の実績が評価されたことであるとともに、研究業務の一層の充実強化の必要性がここに込められていると考える。医薬品、食品、化学物質の品質や安全性という国民衛生を支える研究を先導的に牽引する高度な研究が求められているのである。

名称変更の後この3年余の間には多数の特記すべき問題に対処してきた。たとえば、O157大腸菌による食品の汚染や未承認遺伝子組み換え食品の混入問題があり、本研究所はこれらの突然の事態に対して適切な対応ができたと思っている。医薬品に関してはICH（日米欧医薬品承認審査ハーモニゼーション国際会議）の場において、我が国が欧米諸国と同じ水準をもって技術的な取り組みができたのは本研究所あつてのことである。急速な進展のみられる遺伝子治療薬、組織や細胞を利用した医薬品などの品質や安全性に関わる研究に対しても世界の水準に伍した理解と判断をもって対応できている。

本研究所がこれらの社会的で行政に関わる事柄に科学的な対応が可能であるのは、本研究所が品質や安全性に関わる単なる日常業務のみを行なう試験だけを業務としていたからではない。ひとえに日頃の高度な研究、それらは一見したところ業務に無関係に見えるものが多いのだが、それらがあつて初めて可能であつたことである。進化する科学に遅れをとらないためには、また突然発生する事態に対面する時にあわてないために、「試験所」ではなく「研究所」でなければならないということである。現在の本研究所は、十分とはいえないまでも、「研究所」としての責務を果たしていることができる。研究部や研究者によって濃淡はあるものの、行政に関わる試験業務が列をなしている中にあつて、多くの研究者は基礎的あるいは応用的な研究に携わっているのが現状である。内外の関係者にはこのような研究の必要性についての認識をもっと高めて欲しい。所員の一層の努力に加え、関係部局の真摯な支援と理解があつて、変わりゆく社会の新しい要請にいつでも応えられる状況が作っていけるのである。

平成11年度の補正予算において発足したミレニアムプロジェクトでは本研究所は薬剤反応性に関わる遺伝子解析研究を担当することとなった。これは医薬品の有効性に関わ

る研究であり、本研究所において欠けていた部分を補う先端的研究と考えてよい。この傾向は平成13年度に開始が予定されているメディカルフロンティアプロジェクトについてもいえることである。これらの研究は新医薬品の創製のための基盤となる新しい医学薬学領域の研究である。このような領域での十分な知識の習得と科学的展開は医薬品、食品の評価における必須の背景技術となるものでもある。

このように、本研究所は行政支援研究という要請に応えていると自負しており、国民の安全と安心のために不可欠の役割を果たしている。しかしながら、業務の遂行のために本研究所は現在いくつもの難しい課題を抱えている。平成14年度の組織再編に伴う所掌の変更に関わる技術的な問題がある。業務の整理に関しては、和歌山薬用植物栽培試験場を第一候補と考え計画をすすめてきたところであるが、伊豆薬用植物栽培試験場が先行することとなった。一方、大阪支所の発展的改組が具体化し、医薬基盤技術研究所（仮称）が平成16年度に設立される予定となった。そのための予算措置も講じられ、大阪支所の業務の整理を具体的にすすめるべきではない。

本研究所の建物に関しては耐用年限をすぎたものが多い。あまりにもひどい。しかるに、移転計画は昭和63年の閣議決定事項であつて、平成12年には移転予定であつたにもかかわらず、いまだ目途すら立たない状況といつてよい。そのために増築はおろか改修もままならず、なんとか業務をこなしてはいるが、業務に支障を来しているというほうが正確である。高度化する技術の取りいれや、効率の面からの支障ばかりでなく、このままでは一般に要請されている研究室基準の確保も難しくなり、業務に関わる研究の信頼性まで損なわれかねない。本研究所の移転は厚生労働省として優先した措置を講ずべき事項である。

平成9年に発足した医薬品医療機器審査センターもまもなく満4年を迎える。本センターの定員は発足当所の45名から69名に増員されている。定員に関する一般の現況を考えると関係者の理解に感謝したい。審査の方法はおおよそ確立し、申請の内容にはかなりの深い考察が加えられるようになってきている。しかし、現状をみると業務量は過剰であり審査官は心身共に疲れがでている状況にある。審査業務はますます高度化しており、定員増に加え、処遇の改善が緊急である。申請資料として海外資料の受け入れや海外の臨床試験の査察等に伴う業務量の増加に対しても人的資源に困窮している。

以下に各研究部の業務が報告される。本研究所がいかに厚生行政における支援をしているかご理解いただきたい。

また、国際的な共同研究や国際協力事業団のプロジェクトへの参加に加え、WHOの諸機関、OECDやICHなど行政に関わる国際会議へ頻繁に参加し、世界のため、また、我が国のために主張をし議論をしており、国際化した

薬事, 衛生および環境行政においても大きな役目を担っていることも読みとって欲しい。

総 務 部

部 長 持 田 秀 男

1. 組織・定員

(1) 組織

平成7年1月に厚生大臣の私的諮問機関より国立試験研究機関の組織再編の基本構想が公表され、同年4月厚生科学課から「国立試験研究機関の重点整備・再構築(案)」が示された。これらを踏まえ、平成12年3月の国立研究機関長会議で各機関の組織改正を平成14年4月1日の予定で進める提案がなされ、合意された。

再構築に基づく組織再編により、国立公衆衛生院及び国立感染症研究所より組織・定員の受入を行う予定である。

また、これに併せ、薬用植物栽培試験場の一部の振替廃止等を含めた再編成も行う予定である。

(2) 定員

平成11年度末定員は、325名であったが、器具・容器包装中の内分泌かく乱化学物質に係る研究に伴う増として1名、医療用具審査体制の充実強化に伴う増として1名、計2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く減として2名、再編に伴う合理化減として2名、計4名の定員が削減されたことにより、平成12年度末定員は、指定職2名、行政職(一)48名、行政職(二)17名、専門行政職61名、研究職195名、計323名となった。

2. 人事異動

平成12年4月1日付けで首藤紘一医薬品医療機器審査センター長を所長に迎えた。同年7月1日付けで米谷民雄食品添加物部第二室長が同部長に、同年10月1日付けで土屋利江薬品部第三室長が同部長に昇任した。

医薬品医療機器審査センターにおいては、平成12年4月1日付けで豊島 聡星薬科大学教授を同センター長に、橋爪 章国際協力事業団医療協力部医療協力第一課長を審査第三部長に迎えた。同年7月1日付けで池谷壮一審査第一部長が医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構審議役への就任に伴い、審査第一部長に医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構平山 佳伸治験指導部治験相談第一課長を迎えた。平成13年1月6日付けで古澤 康秀審査第二部長が環境省総合環境政策局環境保健部企画課保健業務室長への就任に伴い、審査第二部長に山本 弘史厚生省医薬安全局企画課課長補佐を迎えた。

平成13年3月31日付けで佐竹 元吉生薬部長、神沼 二真化学物質情報部長及び畠山 好雄筑波薬用植物栽培試

験場長が定年退職した。

また、平成12年4月21日付けで寺尾允男前所長を、同年5月19日付けで内山充元所長を名誉所長に推戴した。

3. 予算

(1) 平成12年度予算の概要は、別紙のとおりである。

(2) 医薬基盤技術研究施設

平成7年1月、国立試験研究機関の再編の一つとして、画期的な医薬品の開発に必要な基盤技術の開発等を目的として、国立医薬品食品衛生研究所の大阪支所を発展改組し、医薬基盤技術研究施設の創設を厚生省として決定した。

平成12年8月には、厚生科学研究費「画期的な医薬品等の開発促進のための基盤技術研究等のあり方に関する研究(中間報告)」(主任研究者:岸本 忠三(大阪大学総長))が発表され、ゲノム科学、たんぱく質科学等の基礎研究の成果を医薬品開発研究に結びつけるための橋渡しする、基盤的な技術開発等の必要性等を報告した。

平成13年度の予算編成において、設計、工事費として11.5億円が計上され、大阪府の千里地区に平成16年度に発足の予定となった。

平成12年12月に当研究所内に基本構想のためのプロジェクトチームを発足させ建物施設計画(案)を策定した。平成13年2月には、医薬基盤技術研究施設整備検討会(メンバー:厚生労働省大臣官房厚生科学課、国土交通省近畿地方整備局、国立感染症研究所、大阪府、国立医薬品食品衛生研究所)を発足させ第一回会合を行い、3月には、第二回会合が開催された。

4. 国際協力

国際交流としては、厚生行政に関する国際会議への科学専門家としての参加、技術指導、国際学会あるいは外国での学会での発表及び招待講演、並びに外国人研究生の受け入れなどが主なものである。

平成12年度海外派遣研究者は、190名であった。内訳は留学が5名、二国間共同研究、学会への招聘又は参加延べ127名、JICA等のプロジェクトによる外国への技術指導等に12名のほか、行政に関する国際会議等への出席が延べ46名であった。国際会議等への出席内訳は、ICH17名、IPCS14名、OECD5名、FAO/WHO合同会議7名、その他3名であった。

5. 施設整備等の状況

施設整備等については、下記のとおりである。

なお、(1)に係る工事については、予算を翌年度に繰越し、引き続き工事を行うこととしている。

(1) 本所仮設研究棟建築工事

(補正予算額:770,000千円)

(2) 北海道薬用植物栽培試験場作業舎改修工事

(公共事業等予備費:174,165千円)

6. 国立医薬品食品衛生研究所標準品交付の状況

現在、当所が製造し、交付している標準品は医薬品等試

平成12年度予算額

別紙

事 項	平成11年度	平成12年度	対前年度差 引増△減額
	(A)	(B)	(B)-(A)
	(千円)	(千円)	(千円)
(組織) 厚生本省試験研究機関	5,239,630	5,233,559	△ 6,071
(項) 厚生本省試験研究所	4,515,253	4,535,023	19,770
国立医薬品食品衛生研究所に必要な経費	4,515,253	4,535,023	19,770
既定定員に伴う経費	3,170,800	3,179,728	8,928
増員要求に伴う経費	0	5,119	5,119
経常事務費	339,930	346,348	6,418
特別研究費	16,118	16,048	△ 70
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	185,145	184,525	△ 620
薬用植物栽培試験場運営費	97,969	97,539	△ 430
施設管理事務経費	102,383	102,598	215
受託研究費	107,521	107,546	25
乱用薬物基礎研究費	17,010	17,022	12
総合化学物質安全性研究費	118,026	118,086	60
移転調査検討費	1,408	1,415	7
共同利用型高額 研究機器整備費	90,413	90,413	0
培養生物資源保存管理 基盤整備費	38,046	38,077	31
研究情報活動費基盤整備費	78,333	78,343	10
摘出埋植医療用具の適合性 解析法研究費	44,734	44,765	31
遺伝子治療薬の品質、安全性 等確保のための基盤研究費	33,867	33,882	15
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	31,060	31,079	19
(項) 血清等製造及び検定費	698,254	698,536	282
医薬品の国家検定及び 検査等に必要な経費	698,254	698,536	282
一般事務経費	12,986	12,990	4
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	575,277	575,555	278
(項) 厚生本省試験研究所施設費	26,123	0	△26,123
国立医薬品食品衛生研究所施設整備費	26,123	0	△26,123
(移替予算)			
(組織) 厚生本省試験研究機関	185,464	223,690	38,226
(項) 国立機関公害防止等 試験研究費	73,715	106,662	32,947
(項) 国立機関原子力試験研究費	111,749	117,028	5,279

* 予算額については両年度とも当初予算額

験用標準品75品目、色素試験用標準品38品目、計113品目(190,205千円の歳入)である。

7. 移転関係

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。移転に向けてこれまでに、関係省庁(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)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。

平成12年度においても、引き続き関東財務局との事前協議を進めてきたところであるが、東京都・府中市の土地利用計画が凍結され作業に進展が見られない状況である。今後は、厳しい経済情勢の中で移転計画の再構築をし、関東財務局を含めた東京都、府中市、当研究所の4者協議を進め、移転に向けた作業を精力的に進めることとなる。

薬品部

部長 小嶋茂雄

概要

平成12年度には、昨年度に引き続いた研究として、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。また、新たに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)に関連する研究を開始した。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生体試料中の薬物濃度測定の信頼性を確保するための研究、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。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。平成11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)の研究チームに鹿庭、香取両主任研究官が参加し、薬剤反応性遺伝子の多型解析に関する研究の一環として、ターゲットとする疾病の患者における薬物動態の検討

を開始した。

厚生省試験研究機関の再編がいよいよ来年の4月に迫ってきている。この再編では、国立公衆衛生院の衛生薬学部が当所に移管されることになっているが、これを機に同部を医薬品の安全性確保に関する業務を主体とする部として再編する方向が固まりつつある。この新しく設けられようとしている部の業務をどのようなものにするか、また、これまで衛生薬学部で行われてきた業務(特に、GMP関連の業務)をどこが引き継ぐのかなどの検討とも関連して、現在薬品部で行っている業務の見直しが必要となるものと考えられる。さらに、平成16年4月の大阪支所の医薬基盤技術研への再編が動かし難いものになるなど、変化の大波が次々に国立衛研に押し寄せてきており、これらの波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ものと思われる。

人事面に関しては、石橋無味雄第3室長が平成13年3月31日付けで定年退職された。昭和40年以来36年の長きにわたって当所薬品部において医薬品の品質確保に関する職務に精励され、厚生行政に貢献されるとともに、所の発展に尽くされてきたことに感謝の意を表明するものである。石橋室長の後任には、鹿庭なほ子主任研究員が平成13年4月1日付けで就任した。

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・創薬推進事業の医薬品機構からの派遣研究員の中島由起子氏は、平成11年4月から第1室において薬剤反応性遺伝子の多型解析に関する研究に従事している。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たKaren S. Scott氏(英国)は、2年間にわたる研究を終えて平成12年7月帰国した。また、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続けてきた森原元彦氏は、平成13年4月1日付けで小野薬品工業㈱の研究員として採用された。

長期の海外出張では、花尻瑠理主任研究官は、平成12年7月より1年間の予定で米国カンザス大学Lunte教授の下で薬物および生体分子の高感度高性能分析と体内動態特性の解析に関する研究を行っている。

また、短期の海外出張については、次のとおりである(なお、国際協力事業団のフィリピン薬局方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のこと):吉岡室長および阿曾主任研究官は、Millennial World Congress of Pharmaceutical Sciences(平成12年4月)における講演のため、米国に出張した。鹿庭主任研究官および香取主任研究官は、第7回臨床薬理治療学会世界大会(平成12年7月)への参加のため、イタリアに出張した。また、吉岡室長は、米国薬剤学会年会(平成12年10

月)における講演のため、米国に出張した。

小嶋部長および吉岡室長は、ICH 5 準備会議(品質分野)(平成12年7月)に出席するため、ベルギーに出張した。また、ICH 5 準備会議(品質分野)ならびに本会議(平成12年11月)に出席するため、米国に出張した。

業務成績

1. 特別審査試験

新薬59件について試験した。

2. 一斉取締試験

塩酸プロカインアミド錠(溶出試験)2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、医薬局監視指導・麻薬対策課に報告した(国産あへん16件、輸入あへん101件、合計117件)。

4. 国際協力

国際厚生事業団(JICWELS)の第16回アジア諸国薬事行政官研修(平成12年7月)および第11回必須医薬品製造管理研修(平成12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。

石橋室長は、国際協力事業団(JICA)のフィリピン薬局方プロジェクトの短期専門家として、フィリピン食品医薬品局に平成12年6月~7月および平成12年9月~12月の計4ヶ月間出張して、フィリピン薬局方制定のための技術指導を行った。また、平成13年1月~平成13年4月の4ヶ月間、フィリピン食品医薬品局のJocelyn Estacio Balderrama氏を同プロジェクトの研修員として薬品部に受け入れ、薬局方制定に必要な試験技術に関する指導を行った。

5. 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医薬局安全対策課)、日本薬局方の改正作業(医薬局審査管理課)、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(医薬局審査管理課)、地方衛生研究所技術者講習会およびGMP専門分野別研修(医薬局監視指導・麻薬対策課)、麻薬および乱用薬物に関する情報収集(医薬局監視指導・麻薬対策課)ならびに日本工業規格(JIS)の改正作業(通商産業省)などに協力した。

また、ISO/TC 69国内対策委員会に参加し、国際標準規格の作成に協力した。

研究業績

1. 医薬品の分析法に関する研究

稀少疾病(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硫酸クロロキニン錠、プリマキン錠、塩酸メフロキニン錠の品質に関する研究を行い、国内におけるこれらの未承認医薬品の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)。

塩酸シプロフロキサシン、スパルフロキサシンなど14種の合成抗菌薬について、一斉取締試験においてスクリーニング用の一斉分析法として使用できる高速液体クロマトグラフ法による迅速分析法を新たに開発した(医薬局監視指導・麻薬対策課委託研究費)。

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構築された双方向ネットワークの本格的運用に伴い、検査データや試験法などに関する情報交換を実施し、医薬品の品質確保におけるネットワークの有用性を確認した(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

日本薬局方において確認試験に用いられる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の作成のために必要な研究を行った(日本公定書協会/日本薬局方の試験法に関する研究)。

日本薬局方等医薬品基準の規格・試験方法に関する研究の一環として、第14改正日本薬局方で用いられる試薬・試液の名称をIUPACの化合物命名法に基づいた、日本工業規格(JIS)とも整合性のある名称に変更するための検討を行った(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

溶出の速い製剤は、生物学的同等性に問題を生じる可能性が少ないと考えられている。ロキソプロフェンナトリウム製剤をモデル試料として検討を行った結果、パドル法50rpmで溶出試験を行い、生理学的pH範囲で30分間に80%以上溶出するならば、生物学的同等性に著しい問題を生じないことが明らかとなった。また、酸可溶性のリボフラビン顆粒を用いて、日本人の胃液酸度について検討を行い、50代では約40%以上と、高齢者に無酸の人が多いことを明らかとした。しかしながら、無酸の人の割合は年々低下してきており、ピロリ菌の感染率と関係していることが示唆された(厚生科学研究/医薬安全総合研究事業)。

外用皮膚適用製剤の生物学的同等性の評価方法について検討し、動物試験は適当ではないこと、ヒト試験によるテープ・ストリッピング法が一般的にどの薬物にも適用できることが明らかとなった(医薬品機構/生物学的同等性の評価に関する研究)。

リスクの高いサブ集団を検出する方法の確立を目的として、薬剤疫学的手法の一つである母集団ファルマコキネティクス/ファルマコダイナミクス研究を行う際の生体試料中の薬物濃度測定信頼性を確保するため、分析法バリデーションに関する検討を行った(医薬品機構からの受託研究)。

ICHの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)で合意されたスキップ試験など医薬品の品質保証の新しい考え方の我が国における実施体制を

整えるべく、スキップ試験の適用、中止、再開の原則を定めた。また、スキップ試験にはいくつかの方式があることを示すとともに、含量均一性試験などへの具体的適用法ならびに基準を定めた（厚生科学研究／医薬安全総合研究事業）。

4. 薬剤反応性遺伝子の多型解析に関する研究

ミレニアムプロジェクトにおいて、患者から採取した血液中の薬物およびその代謝物の濃度を測定するため、塩酸イリノテカン、タキサン系抗ガン剤、テガフルンについて、その代謝経路を調査して、生体試料中の分析法を確立し、そのバリデーションを行った。また、ヒト肝ミクロゾームによって、塩酸イリノテカンから新規代謝物が生成することを確認した（薬剤反応性遺伝子解析による疾病・創薬推進事業）。

5. 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および¹HパルスNMRを用いて、デキストランなどの高分子を添加剤としたタンパク質凍結乾燥製剤の分子運動性を測定した結果、カーボンおよびプロトンの回転系におけるスピンスピン緩和時間 $T_{1\rho}$ が、スピンスピン緩和時間 T_1 に比較して、運動性の変化をより感度よく測定でき、タンパク質の安定性とより密接に関係することが明らかになり、安定性評価の指標として非常に有用であることが分かった（厚生科学研究／医薬安全総合研究事業）。

ポリビニルピロリドンなどの高分子添加剤と非晶質ニフェジピンの固体分散体について測定した誘電緩和時間およびガラス転移点 T_g の昇温速度依存性に基づく構造緩和時間は、ニフェジピンの結晶化速度と同様の温度依存性を示すことが明らかになり、保存時における結晶化速度を緩和時間に基づいて予測できる可能性が示唆された（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）。

イソプロピルアクリルアミドから γ 線照射によって調製した刺激応答性ハイドロゲルは、重合開始剤を用いる従来法に比較して、より均一なゲルネットワークを有し、その結果、徐放化された薬物放出特性を示すことが明らかになった（国立機関原子力試験研究費）。

医薬品添加剤として用いられる高分子の凍結溶液中での相分離について、その機構とタンパク質などの高分子医薬品の構造に対する影響を検討した。

6. 麻薬および依存性薬物に関する研究

ジヒドロコデイン、アセトアミノフェン、ペンタゾシン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、毛髪から投与薬物及び代謝物を確認した。ジヒドロコデイン、アセトアミノフェンによる薬物中毒のヒト毛髪からも、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。また、ダンシル誘導体化法を用いる生体試料中のフェンフルラミンおよびフェンテルミンのHPLCによる高感度分析法を開発した。

向精神薬(α -methyltryptamine, γ -butyrolactone お

よび zolpidem) 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、ガスクロマトグラフィー、高速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（医薬局監視指導・麻薬対策課委託研究費）。

5種類のアヘンアルカロイド、メコニン、ならびにモルヒネの主代謝物であるモルヒネ-3-および-6-グルクロン酸抱合体について、尿中からの抽出法を検討し、これらの尿中薬物のLC/APCI-MSを用いた同時定量分析法を確立した。さらに、ラットを用いてアヘン気化成分の吸入実験を行い、尿中への各薬物の排泄パターンを検討した結果、メコニンがアヘン喫煙者の尿中薬物分析をする際の薬物マーカーとなる可能性が示唆された（厚生科学研究／医薬安全総合研究事業）。

生 物 薬 品 部

部 長 早 川 堯 夫

概 要

ゲノム解読が一段落し、ポストゲノムの中心課題であるゲノム機能解析研究、そしてゲノム創薬、ゲノム医療という目標に向かう大きなうねりが始まった。こうした中から多くの新規合成医薬品、タンパク質性医薬品、遺伝子治療薬、細胞・組織利用医薬品等の開発が期待されている。こうした研究の渦中にあることや、その動向に絶えず触角を研ぎすましていることは、生物薬品の特性、品質、安全性、有効性等の評価の一端を担う業務を行う上で不可欠な活動である。

ミレニアムプロジェクトにおけるヒトゲノム・再生医療事業の一環として、次世代遺伝子治療薬の開発基盤研究及び細胞・組織加工医薬品・医療用具の品質等の確保に関する基盤研究が開始され、順調な展開をみせている。前者の研究成果に関連して、標的細胞指向性や目的遺伝子発現調節機構を備えたベクターを迅速、簡便に構築できるという遺伝子導入技術が当部で開発されつつあることは、次世代遺伝子治療薬創製のためのバックボーンの提供ということにとどまらず、遺伝子改変細胞や遺伝子改変動物等の評価系の開発、さらには遺伝子関連の各種基礎研究やゲノム機能解析の推進に強力なツールを提供するものとして注目できる。また、細胞・組織加工医薬品等に関する研究において、ウイルス安全性面からは、各種ウイルス検出法の高感度化に資する技術開発が進展しつつある。

一方、糖タンパク質の解析に関して、迅速・簡便化、高精度化、高感度化した手法の開発が着々と進展しつつある。これは、糖タンパク質性医薬品の特性・品質評価法としての応用のみならず、細胞・組織加工医薬品等における有効成分として分泌される糖タンパク質の解析、あるいはプロテオーム

研究にきわめて有用な手段を提供するという点で意義深いと考えられる。

国際調和関係では、ICHのCTD-Qに関する国際調和文書の作成に向け全面協力をした。また、ICHの生物薬品の特性解析、品質確保及び規格及び試験方法に関する国際調和ガイドラインの考え方及び内容をわが国で定着させるための活動にも注力した。さらに、遺伝子治療薬、細胞治療薬、トランスジェニック動物由来医薬品等の新たなバイオ医薬品の品質、安全性確保等に関する国際動向に関して調査研究し、わが国の施策を国際的に調和のとれたものとする作業を進めた。細胞・組織利用医薬品等については、わが国の指針を整備する上での中心として貢献した。その他、最近、欧米を中心にホットな話題となっている生物薬品の同等性/同質性評価 (comparability) に関して検討を進め、本課題に対して科学的にどのようにアプローチするかに関する考え方を提示した。これは、ICH6に向け新たなトピックスとなる。薬局方の国際調和は、一般試験法関係でそれぞれ調和活動に参画したが、特に各種電気泳動法の調和に関して着実な進展がみられた。

最近、タンパク質性医薬品の新薬申請の数が増加しつつあり、特別審査や専門協議などに従事する時間も自ずと増加した。今後、ポストゲノムでの成果が反映されるようになれば、さらに飛躍的な増加が予測される。

人事面では、重点支援協力研究員として派遣されていた日向須美子氏が平成12年10月1日付けでヒューマンサイエンス振興財団ヒトゲノム・再生医療等研究推進事業の流動研究員として採用された。伊藤さつき氏が平成12年10月1日付けで重点支援協力研究員として派遣され、平成13年4月1日付けでヒューマンサイエンス振興財団ヒトゲノム・再生医療等研究推進事業の支援研究員として採用された。ヒューマンサイエンス振興財団よりヒトゲノム・再生医療等研究事業の研究支援者として瓶子宣子氏が平成12年5月1日付けで採用され、平成13年3月31日付けで退所された。平成13年3月31日付けで非常勤職員の村井淳氏が退所された。重点支援研究員として派遣されていた柴山理恵氏及び細野哲司氏が平成13年4月1日付けで非常勤職員に採用された。

海外出張は以下のとおりであった。早川部長：ミレニアム世界薬学大会に出席・講演（米国：平成12年4月16日～平成12年4月22日）、生物薬品2000年会議に出席・講演（米国：平成12年6月3日～平成12年6月11日）、欧州におけるバイオテクノロジー応用医薬品等の品質・安全性の確保方策について最近の動向を調査研究（ベルギー・フランス：平成12年7月15日～平成12年7月26日）、第3回IBC国際会議に出席・講演（米国：平成12年9月16日～平成12年9月23日）、第5回日米EU医薬品規制ハーモナイゼーション国際会議（ICH5）に出席・講演（米国：平成12年11月5日～平成12年11月13日）；山口室長：第3回IBC国際会

議に出席（米国：平成12年9月16日～平成12年9月23日）；川西室長：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調査（米国・英国：平成12年11月30日～平成12年12月10日）；内田室長：第4次韓国食品医薬品安全庁国際シンポジウムに出席・講演（韓国：平成12年9月4日～9月7日）；水口研究員：第3回アメリカ遺伝子治療学会に出席・講演（米国：平成12年5月31日～6月7日）

業務成績

1. 特別審査 12件
2. その他

第14改正日本薬局方作成作業に伴う業務、中央薬事審議会（薬事・食品衛生審議会）各種調査会・部会・専門協議、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）、科学技術会議政策委員会/革新技術審査委員会、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) LC/MSは、産生細胞の異なる3種類のエリスロポエチンの糖鎖構造及び分布の違いを明確にできることから、糖タンパク質性医薬品の特性解析法、糖鎖部分の恒常性評価法、及び同等性/同質性評価法として有用であることが確認された（HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業）。

ii) エリスロポエチンの糖鎖の一部が硫酸化されていることを見出した。また、エキソグリコンダーゼ消化法、及びNMRによって、硫酸基は非還元末端側のGlcNAc-7の6位カーボンの水酸基に結合していることが明らかになった（HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業）。

iii) フォリスタチン(FS)の糖鎖部分の機能を解析するための糖鎖構造の改変を目的として、FS産生CHO細胞にN結合糖鎖のcore mannoseへGlcNAcを転移しbisecting構造を形成させる酵素であるGnT-III遺伝子を導入し、糖鎖にbisecting GlcNAcが付加したFSを得ることができた（HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業）。

iv) ガングリオシドGD1aは、マウスのHGF受容体c-METだけではなくヒトのc-METのチロシンリン酸化も抑制することを見出した。c-METを過剰発現している癌細胞はHGFにより転移能が亢進することから、このような癌細胞に対して、GD1aは転移抑制剤と成り得ることが示唆された（HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業）。

v) バイオテクノロジー応用医薬品の生物活性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して、IL-3、GM-CSF及びIL-6の生物活性を測定する方法を確立した。

vi) 細胞・組織利用医薬品の品質・安全性評価技術開発の一環として、①ウイルス検出法の高感度化を目的としたウイルス濃縮法に関する検討を行い、ポリエチレンイミン磁気

ビーズ等を用いた方法が極めて有用であることを見出した。

②Gバンド解析, Competitive Genome-hybridization解析, マルチカラーFISHを適切に組み合わせることにより, 染色体転座などの細胞特性変化を的確に解析できる手法を確立した。

③細胞由来タンパク質プロファイル迅速・高感度解析法の一環として, 2次元電気泳動での特定タンパク質の帰属決定法を確立した。また, 細胞由来タンパク質のモデルとしてトロンボモジュリン及びフォリスタチンを用い, ミクロLC/MSによるペプチド及び糖ペプチドマッピング, 並びにLC/MS/MSのprecursor-ion scanによる糖ペプチドマッピングを行い, これらの手法が, 微量タンパク質の一次構造, 修飾アミノ酸, 糖鎖結合位置, 糖鎖構造, 及び部位特異的糖鎖の不均一性の解析に応用できること, したがって細胞・組織加工医薬品等の有効成分として分泌されるタンパク質の特性解析法として有用であることを明らかにした。

④組織・細胞加工医薬品等から分泌される目的タンパク質の生体内発現量や体内動態に関する新規評価法の開発研究を開始し, FlAsH (4', 5'-bis (1, 3, 2-dithio- arsolan-2-yl) fluorescein)を用いた血液中の目的タンパク質の簡便な定量的蛍光標識法を開発した。

⑤ヒト血液幹細胞より血管内皮細胞を誘導する系を確立した (厚生科学研究費補助金)。

vii) 医薬品の品質規格に関わる国際動向を踏まえた評価に関する研究の一環として, ①細胞・組織利用医薬品の品質や安全確保のための試験法や基準の設定, さらには規制のあり方について, 特にドナー適正を中心に国際動向について研究を行った。②遺伝子治療薬の品質, 安全性確保の基準や試験法に関する国際動向をウイルスベクターの安全性確保を中心に検討した。③製造方法が変更されたバイオテクノロジー医薬品の変更前の製品との同等性/同質性に関する評価法をわが国において確立するため, 諸外国における現状に関する調査研究を行った (厚生科学研究費補助金)。

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, 多形核白血球よりL-plastinを精製し, L-plastinが食食に関与すると報告されているコロニンと結合する可能性を見いだした。また, L-plastinの単クローン抗体の作製を行った。

ii) プラスミンにより惹起される血小板形態変化には, Ca^{2+} 依存性と非依存性の情報伝達経路が存在し, 後者ではRho-kinaseが働いていること, 両経路がcAMPに感受性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)。

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) GnT-III遺伝子を安定発現するK562細胞及びHepG2細胞を樹立し, アクチビン及びHGFに対する応答能を検討した結果, bisecting GlcNAcは, アクチビンに対しては抑制的, またHGFシグナルに対しては促進的に作用することが示唆さ

れた。

- ii) 細胞由来微量糖タンパク質糖鎖及び糖脂質の構造と機能の關係の解明を目的とした高感度複合糖質糖鎖構造解析法の開発を行った (科学研究費補助金)。
- iii) 食細胞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細胞の好中球分化の過程で出現するトランスフェリン陽性細胞と陰性細胞を用いた分化・増殖シグナルの解析より, 好中球分化にp70 S6キナーゼが重要な役割を担っていることを明らかにした。
- iv) カルシウム蛍光プローブの細胞内局在を利用して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放出を画像解析し, 放出促進物質および放出抑制物質を検索した (HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業)。
- v) アデノウイルスベクターを利用してタンパク質系カルシウム蛍光プローブ Yellow-cameleonを肝細胞あるいは心筋細胞内に発現させることに成功するとともに, 汎用レーザーを用いた共焦点レーザー顕微鏡による細胞内カルシウムイオンの画像化法を確立した (HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業)。
- vi) Src相同ドメインを含む数種のポリペプチドと緑色蛍光タンパク質 (GFP) 類との融合タンパク質の発現プラスミドを作製・発現させ, リン酸化タンパク質を試験管レベルで蛍光変化として捕らえることが可能な蛍光性タンパク質を作製した。
- vii) グルココルチコイドによるチロシンアミノ転移酵素活性の誘導がプロテアソームの阻害剤により抑制されることを明らかにした。
- ## 4. 先端技術を利用した生体成分関連医薬品の有用性確保に関する基礎的研究
- i) トランスジェニック動物/クローン動物を利用して製造された医薬品の品質・有効性・安全性の評価法をまとめ, ガイドライン作成のための基礎資料とした (厚生科学研究費補助金)。
- ii) EBNA1とOriP配列を有したgutlessアデノウイルスベクターを作製し, 培養細胞で目的遺伝子の発現能を評価した (厚生科学研究費補助金)。
- iii) 標的細胞親和性を制御できるファイバーミュータントアデノウイルスベクターシステムを開発した (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) 四塩化炭素投与ラット肝疾患モデルにおいて組織プラスミノゲンアクチベーターmRNAが上昇す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を結合タンパクから分離し, クロマトグラフィー上で分離させる条件について検討を行った (科学技術庁国立機関原子力試験研究費)。

生 薬 部

前部長 佐 竹 元 吉
部長 合 田 幸 広

概 要

当部では、主として生薬の規格・試験法に関する基礎研究、生薬成分、天然有害物質に関する試験、研究及び、生薬薬理学的研究を行っている。また、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ている。

生薬部長として、平成3年4月より、10年間、国内外で活躍された佐竹元吉博士は、平成13年3月31日をもって定年退職され、4月1日付けで食品部第三室長であった合田幸広が昇任した。また、同日付けで、第二室長であった関田節子博士は筑波薬用植物栽培試験場長に昇任し、小野景義主任研究官は、代謝生化学部に転出した。

海外出張は、以下のとおりであった。佐竹部長：民族薬の評価及び研究に関するWHO専門家会議（香港、平成12年4月10日～14日）、第4回国際薬用植物学会議（中国、同年8月20日～27日）、第4回韓国食品医薬品庁国際シンポジウム（韓国、同年9月4日～6日）、国際協力事業団フィリピン薬局方プロジェクト（フィリピン、同年9月10日～16日）、生薬のGMPに関する国際ワークショップ（韓国、同年11月23日～25日）、第14回国際生薬会議（特別講演、ペルー、平成13年1月22日～30日）、ミャンマーの薬用植物資源の確保と利用に関するシンポジウム（招待講演、ミャンマー、同年3月3日～8日）。尾崎第一室長：第7回中国薬理学会中薬薬理討論会（招待講演、中国、平成12年10月13日～22日）。関田第二室長、第4回国際薬用植物学会議（中国、平成12年8月20日～27日）、第4回韓国食品医薬品庁国際シンポジウム（韓国、同年9月4日～6日）、科学技術庁中期在外研究（米国FDA, NIH等、代替医療およびダイエタリーサプリメントにおける生薬利用に関する研究、同年10月7日～平成13年1月6日）、第12回国際照射技術学会（平成13年3月24日～27日）。川原主任研究官：第22回国際天然物化学シンポジウム（ブラジル、平成12年9月2日～11日）。鎌倉主任研究官：第12回国際照射技術学会（平成13年3月25日～31日）。代田研究員：第22回国際天然物化学シンポジウム（ブラジル、平成12年9月2日～11日）、第14回国際生薬会議（ペルー、平成13年1月22日～30日）。

所外研究員等としては、昨年に引き続き、下村祐子東京薬科大学名誉教授を客員研究員に、淵野裕之博士をHS流動研究員（～平成13年3月31日）に、尹永淑博士を長寿科学振興財団リサーチレジデント（～平成13年3月31日）に、

中根孝久博士を日本公定書協会リサーチレジデント（～平成13年3月31日）として受け入れた。また、新たに李書淵氏を笹川日中医学研究交流生（平成12年4月4日～13年3月26日）として、Ms. Jennifer Miranda OribelloをJICA（フィリピン薬局方制定に係わる協力）のカウンターパート研修員（平成12年9月25日～平成13年3月22日）として、高橋真理衣氏をHS研究支援者（平成12年10月1日～平成13年3月31日）として受け入れた。また、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品生物製品検定所副秘書長王国榮氏を平成13年2月26日から3月1日まで、同検定所中薬室副主任魯静氏、同検定所研究員劉燕氏、同検定所中薬室研究員肖新月氏を平成13年2月26日から3月2日まで受け入れ、当部主催の第5回薬局方生薬に関する日中国際共同研究シンポジウム（2月28日、3月1日）で討議を行った。

研究業績

1. 臨床で炎症の治療に繁用されている漢方薬の効能、効果の評価として、数種の漢方薬の抗炎症作用を検討し、漢方処方構成生薬にキキョウを配合しているものに顕著な抗炎症作用があることを明らかにし、キキョウの抗炎症作用成分について検討した。

2. 生菌（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作成し、限度値の設定を計り、第14改正日本薬局方に、微生物限度試験法として記載した。また、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、確認試験法について検討し、局方第二部に記載した。さらに、アリストロキア酸の試験方法について検討し、局方に参考情報として記載した。

3. 理化学試験用標準生薬として、オンジ、カシュウ、キキョウ、サイシン、ショウマ、タクシャ、ハンゲ、ビヤクジュツ、モクソウ、ヨクイニ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、HPLC法を試みた。また、標準生薬シャゼンシ、シャゼンソウを試作した。

4. 生薬製剤による副作用の原因解明のためにアリストロキア酸の標準品を作成し、アリストロキア属ならびに関連生薬中のアリストロキア酸と類縁化合物について定量を行い、作用発現量との相関性を検討した。小柴胡湯については構成生薬中の成分の体内動態等を明らかにした（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）。

5. 米国で死亡例を含む健康障害が報告されているGHB(γ -hydroxybutyric acid)、GBL(γ -butyrolactone)、BD(1,4-butanediol)が脱法ドラッグとして国内に持ち込まれていることから、市場の製品中のGHB、GBL、BD及びAMT(α -methyltryptamine)の含有量を測定した。各都道府県で入手した81製品中、GHB5製品、GBL1製品、BD10製品、AMT1製品に含有が確認された。その他にエフェドリンを含有するものが8製品あった。マジックマッシュルームは乾燥子実体

7 種類すべてからシロシンが0.01~0.6%の含量で検出された。しかし、マジックマッシュルームを模した錠剤やカプセル剤からは検出されなかった。また、成分表示のない数種類の製品について含有成分を検討したところ、3種類のピペラジン誘導体を単離し、構造を明らかにした。(未規制薬物の乱用防止に関する研究)。

6. 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* 及び *Canna angustifolia* の成分検索を行い、前者から2種の新規cucurbitacin配糖体、後者から1種の新規化合物を含む5種のkaurane型ジテルペノイド誘導体を単離し、その化学構造を決定した。また、温湯負荷後の精子形成抑制時の促進作用と性行動障害改善作用を検討し、ツルニンジン(韓国栽培品)のメタノール分画に顕著な改善作用を認められた。また国内の野生品も同様の作用を示すことを確認した。また、ペルー産薬用植物 Cuti-Cuti の成分検索を行い、8種類のトリテルペノイド炭化水素、2種類のスチルベン誘導体と3種類のフラボノイド誘導体をそれぞれ分離または単離同定した。ペルーで Cuti-Cuti と呼ばれるシダは *Cheilanthes nyriophilla* (Pteridaceae) と *Notholaena nivea* (Notholaenaceae) の2種類があり、今回得られた化合物を指標に chemosystematics の観点から後者であることを明らかにした。また、Pedra-ume-caa (*Myrica sphaerocarpa* D. C., Myrtaceae) について抗プラスミン活性が認められたことから、エキスを分配し、酢酸エチル層及びブタノール層について検討した結果、活性本体として ursolic acid を分離同定した (HS 創薬等総合研究)。

7. 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オウゴン、カシュウ等共通テーマで研究を行い試験法の同等性について討議した。その結果、互いの独自性を尊重しながら、共通点について今後両国の追補作成時に記載を統一することとした。またアリストロキア酸等含有成分の安全性に関して国際情勢と対策を討議した(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)。

8. 薬用植物資源の保存法として、種子、栄養繁殖性植物、組織培養法の条件を検討した。また、種鑑別が困難な導入種の正しい鑑別、同定を行うために、DNA鑑別法研究を行った。Ephedra 属植物を対象植物としたところ29検体由来のCh1B 遺伝子の塩基配列には12のタイプが存在することがわかり、これらと、乾燥標本の配列を比較することにより、*E. sinica*, *E. equisetina*, *E. distachya*, *E. gerardiana* であると思われる配列タイプを推定することが出来た。一方、日本国内での麻黄の栽培条件の検討としてフタマタマオウ *E. distachya* の地域差(北海道、筑波、種子島)によるエフェドリン含量の経時変化を検討した。いずれも日本薬局方、生薬、麻黄の項のエフェドリン及びプソイドエフェドリン含量の条件を満たす結果が得られた。また、乾燥条件、温度条件

では成分含量に明白な差異は認められなかった。更に、新しい薬用資源の開拓を試み、南米ペルー産麻黄 *E. americana*, *E. americana* var. *andina*, 北米産麻黄 *E. viridis* と *E. nevadensis*, モンゴル産麻黄 *E. przewalskii* をそれぞれ検討したが、いずれもエフェドリンは検出されなかった(薬用生物資源の種子保存法確立における研究基盤整備に関する総合的研究)。

9. 鑑定法の一環として、乾燥大麻からDNAを抽出し、trn1 (UAA) 3' exon と trnF (GAA) gene 間の intergenic spacer 領域をPCR標的部位とし合成プライマーを基にPCR増幅を行なった。得られた増幅産物は精製後、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を解析した(天然由来の乱用薬物に対する生物学的手法を用いた研究)。

10. 数十種類の南米産薬用植物から抗リーシュマニア活性を有する植物をスクリーニングし、活性の認められたペルー産及びブラジル産キク科植物 *Lingua de vaca* (*Elephantopus mollis* H. B. K.) から既に活性成分として単離されたセスキテルペン類を化学変換し活性発現に必要な部位を特定した。ペルー産ヒルガオ科植物 *Batata de purga* (*Ipomoea operculata*) の活性フラクションから得られた樹脂配糖体の化学構造を解明した。ブラジル産クマツヅラ科植物 *Salva de marajo* (*Lippia glandis* Schau.) からは活性成分として coumarin, ursolic acid を単離した。(HS 国際共同研究)。

11. 生薬の滅菌法の一つとして、放射線照射滅菌の有効性・安全性の検討を行い、照射前後で変化の認められたオウバクの高分子多糖の分離精製を行い、主にガラクトース、グルコースからなる高分子多糖の構成比が、照射前後で異なることを明らかにした。また、治療用ラナリックを用いて照射線量のシュミレーションを作成し、量的解析を行った(科技厅・原子力)。

12. 天然有機化合物をリガンドとするリガンド・レセプター解析のための基礎的研究として、新たなレセプターフィッシング法の開発を目指して、新規フォトアフィニティーラベル化試薬および新規レセプターフィッシングロッドの合成を開始した。また、リガンド物質の誘導体調製にも着手した。(特別研究)

13. 薬用植物栽培・品質評価指針 (part IX) 収載生薬(カラヨモギ、サンショウ、センナ、ヒキオコシ、モッコウ、マオウ)の調査を行い、指針原案を作成した。

14. たばこの煙から発癌性物質の多環性化合物を検出し、品種によりニコチン含有量に差異が認められることを明らかとした。また、バーレー種の葉から17種の既知化合物を同定し、さらに1種の新規cembrane型ジテルペンを単離・構造決定した。その他、*Nicotiana paniculata* L. から初めてニコチン誘導体が単離された(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)。

15. 国立医薬品食品衛生研究所標準品スウェルチアマリン、センノシドA, B について純度試験を行った。

16. フィリピン薬局方収載予定である9種類の生薬について、TLC法を中心とした生薬同定のための条件を検討した。さらに、その内3種類の生薬についてはTLC法にて標準物質となりうる成分の検索を試み、その構造を決定した。

療 品 部

療品部長事務取扱(副所長) 三 瀬 勝 利
部 長 土 屋 利 江

概 要

当部の主要研究業務である医療用具および家庭用品の安全性を中心とした研究に加えて、平成12年度より、新たに、ヒトゲノム・再生医療研究事業がスタートした。すなわち、細胞・組織加工医療用具の品質等の確保・評価技術の開発に関する研究を5年間当部で行うこととなった。当部の広範な研究の進展のためには、めざましい発展と変貌が予測される医療用具の新しい分野にチャレンジする情熱が一層必要となる。また、この領域には、新しい技術が誕生する素地に恵まれている。現在の方針としては、新医療用具の製品化が遅れていることから、従来よりも、開発・市場化を促進することに力点を置いた有効性・安全性確保のための基盤研究へと流れを変えつつある。組織面では、平成13年度から5年間、埋植医療用具評価室長(佐藤道夫室長)の再任が認められ、埋植医療用具製品の市販後の不具合(欠陥)事故を追跡調査し、その要因を解析する研究を引き続き行う。

人事面では、平成12年10月1日付けで、土屋利江療品部第三室長が療品部長に昇任した。平成13年4月1日付けで、林謙主任研究官が化学物質情報部へ異動した。また、同日付で、中岡竜介研究官が、主任研究官に昇任した。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は、「遺伝子組込型人工臓器の安全性・有効性評価に関する研究」を継続して行っている。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、「人工臓器材料の長期間安全性評価に有用な指標に関する基礎的研究」に、2001年3月まで従事した。1999年12月24日付けでSTAフェローとして採用されたMd. Shahidur Rahman博士は、「Studies on the development of useful and safety tissue engineered artificial organ for xeno- and allo-transplantation」の研究について、1年間延期することとなった。2000年4月1日付けで医薬品機構・派遣研究員として採用された長田和浩博士は、「組織工学で用いる基礎骨格材料の前臨床評価に関する研究」を行い、1年間の任期を終えた。

平成12年度の長期海外出張としては、矢上健研究官は、科学技術庁長期在外研究員として平成12年7月15日より、1年間の予定で米国ノースイースタン大学生物学部の

James M. Manning教授と「胎児型ヘモグロビンと成人型ヘモグロビンの間に生理学的な特性の差異を与える分子メカニズムの解明に関する研究」を行うために、留学した。鹿庭正昭室長は、オランダで開催された第5回欧州接触皮膚炎学会に出席し、日本における眼鏡の先セルによる接触皮膚炎の原因化学物質としての着色剤中の染料の役割について発表した(平成12年5月11～13日)。土屋利江部長は、米国で開催された第3回国際組織工学会に出席し、フラーレン誘導体の顕著な軟骨分化促進作用について発表した(平成12年11月30日～12月3日)。

業務成績

1. 家庭用品関係

平成12年度の分析法設定、細胞毒性試験品目は以下の通りであった。

分析法作成：抗菌剤の2-(thiocyanomethylthio) benzothiazole(TCMTBT)、4,4'-tetramethylene-bis(4-carbamoyl-1-decylpyridinium bromide)(TMBCDPB)

細胞毒性試験：2-bromo-2-nitropropane-1,3-diol(BNPD)、4,4'-dimethyl-1,3-oxazoline(DMO)、N,N'-hexamethylene-bis(4-carbamoyl-1-decylpyridinium bromide)(HMBCDPB)、zinc bis(2-pyridylthio-1-oxide)(ZPT)

2. 国際調和、国際基準

ISO/TC194 WG8(感作性試験)では、マウスの局所リンパ節増殖反応による試験法(LLNA, SLNA法)は、現時点では、時期尚早のため医療用具の感作性試験法として採用しないこととした。GPMT使用動物数についての討議が行われ、各国間の意見調整を行った内容の文書に修正され、FDISとなった。ISO/TC 198 WG4(生物指標)ではDIS 14161(生物指標使用者への要求)のFDISを基に議論、ISO 11138-1, 2, 3(生物指標製造業者への要求)は5年毎の見直しルールに従い、改正中である。

3. 国際調和関連会議への参加

ISO/TC194 WG8(医療用具の感作性試験)がデンマーク標準局で行われ、土屋利江が日本側代表として出席した(2000年10月25日)。

4. 特別行政試験

旧厚生省医薬安全局監視指導課(平成12年8月)および厚生労働省医薬局審査管理課(平成13年2月)の依頼を受け、歯科鑄造用金銀パラジウム合金「三和パラジウム合金」に関する金属含量試験を行った。

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. 天然由来医用材料の生物学的安全性評価に関する研究

コラーゲン、キチン、アルギン酸塩およびポリ-L-ロイシンから成る創傷被覆材について、LPS汚染状況を検討した結果、アルギン酸塩製品には相当量のLPS汚染があること、一部にはヒト細胞に対して活性を示さないLPSが混入していた

(厚生科学研究費)。

I-2. 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-乳酸に暴露されたマウス及びヒト骨芽細胞の増殖度, アルカリホスファターゼ活性, 石灰化度を経時的に測定し, マウス及びヒト骨芽細胞の分化過程に及ぼす影響の差異を明らかにした (国立機関原子力試験研究費)。

I-3. 金属酸化微粒子の生体適合性評価に関する研究

アナターゼ型酸化チタンは, 低濃度で著しい神経分化阻害作用を示したが, ルチル型酸化チタンは弱く, 酸化ジルコニウムは, 両者の中間の阻害強度を示した (科学技術振興調整費)。

I-4. 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

各種ヘパリン誘導体は, 成長因子との共存下, ヒト正常細胞の恒常性機能を亢進・抑制の両方向に変動させる事を明らかにした。低分子量ヒアルロン酸は, 癌化した細胞の増殖速度を上昇させ, MCAでイニシエートしたBalb3T3細胞の形質転換集の増加を認めた (HS 受託研究費)。

I-5. 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

20%の置換率でプロパンスルホン酸を導入した硫酸化ポリウレタンでは, 薄くコートした材料上で, 細胞形質転換活性陰性であった。設計した5種のポリアルキルエーテルポリウレタンの中で細胞間連絡を阻害せず, 優れた耐久性を有する生体適合性材料は, MDI/PHMO1000/BD系ポリウレタンであった (厚生科学研究費)。

I-6. 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

超分子フラーレン誘導体の神経分化に及ぼす影響を調べた結果, 強い神経分化阻害活性があることが明らかとなった (経常研究費)。

I-7. 遺伝子発現を指標とする化学物質の安全性評価法に関する研究

医用材料として使用されている各種金属のイオンについて, 正常ヒト骨芽細胞における増殖阻害強度及び骨分化阻害強度を明らかにした (特別研究費)。

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

ヒト由来正常骨芽細胞の分化に対して接触した材料が与える影響を検討した結果, 微粒子の存在によって接触初期に細胞間連絡阻害が起きること, 骨分化に関連した酵素活性が低下し, 培養初期の細胞間連絡機能と骨分化との関連性が示唆された。また, これら機能低下と各種材料の特性との間に関連性があった (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

ポリ乳酸等のラット胎仔肢芽軟骨分化に及ぼす影響を調

べた結果, 低分子量ポリ乳酸は, 軟骨分化を著しく促進し, 低分子量グリコール酸では, 同効果はなかった。PUで癌化した, ラット癌細胞株に, connexin43(Cx43) 遺伝子を導入すると, 蛋白発現および細胞間連絡機能が回復するとともに, 足場非依存的増殖活性が消失した。材料で癌化した細胞の正常化にCx43 遺伝子の導入が有効である (医薬品機構基礎研究プロジェクト)。

II-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

マウス軟骨前駆細胞へのconnexin43遺伝子導入による軟骨分化への影響は, 確認されなかった (科学技術振興調整費)。

III. 細胞・組織加工医療用具の品質等の確保・評価技術の開発に関する研究

III-1. 組織加工医療用具とウイルス感染動態に関する研究

組織工学使用ヒト細胞について, ウイルス5種 (EBV, CMV, HSV, HCV, パルボB19) について検査した結果, 陰性であった。4種の常在ウイルス汚染はなかった。天然由来コラーゲンを γ 線照射後, 細胞を培養し, HSV-1 ウイルス感染後のウイルス増殖能は, 50kGy γ 線照射コラーゲンでは, 感染力価が低下する傾向があった (厚生科学研究費)。

III-2. 組織加工医療用具に起因する免疫反応解析と評価に関する研究

ラット腹腔内に, 同系, 異系, 異種の3種の組織を含むメンブレンを埋入し, 組織の状態, 埋植動物の血液中のリンパ球サブセット (CD4, CD8) をFACSを用いて解析した。メンブレンに特殊な処理を施すことにより, 外からの免疫的な攻撃を防ぐ優れた免疫隔離膜の開発に成功した (平成13年5月職務発明として認定) (厚生科学研究費)。

III-3. 組織加工医療用具適用時の癌化予測のための評価技術の開発に関する研究

ヒト皮膚繊維芽細胞をポリ乳酸シート上で最高12週間培養し, テロメラーゼ活性をTRAP法で測定した結果, 検出できなかった。癌特異的human telomerase reverse transcriptase (hTERT) プロモーターの取得に成功した。欠失変異体を用いたプロモーター活性評価の結果, 翻訳開始点から上流286bpの領域が, 癌細胞に特異的なプロモーター領域である可能性が示唆された (厚生科学研究費)。

III-4. 幹細胞や前駆細胞分化誘導系を用いたハイブリッド型再生組織および器官の品質確保技術と評価法に関する研究

ヒト間葉系幹細胞から脂肪細胞への分化誘導系を構築した。カプロラクトン-乳酸共重合体のラット胎児由来軟骨前駆細胞および神経前駆細胞の分化能への影響を調べた。P(LA-CL)25 10000は, 軟骨分化を促進し, 神経前駆細胞の増殖分化は阻害することが明らかになった。3種の生分解性オリゴマーについて調べた結果, 化学構造の違い, 重合時の配合比が異なるオリゴマーでは, 阻害強度が異なった。組織再

生過程で分解され生成する低分子量ポリマーを迅速に評価することが、組織が再生していく過程に及ぼす影響因子の解析を正確に評価する上で有用である（厚生科学研究費）。

IV. 微生物および微生物由来物質に関する研究

IV-1. 成人性歯周炎に関する基礎研究と薬物開発への応用

歯周炎モデル動物実験系を開発し、歯周病ワクチンの薬効評価を行った。ワクチンは *P. gingivalis* によって惹起される歯槽骨吸収を顕著に抑制した。歯周病の進展に関与している Pg プロテアーゼ阻害物質を植物成分中から検索・同定した（HS 受託研究費）。

IV-2. 新課題医療廃棄物の処理システム構築に関する研究

TSE 廃棄物の適正処理システムの構築を目指し、加圧型アルカリ加水分解装置 WR2 の処理有効性を確認するため、処理した BSE 由来 TSE agent のバイオアッセイを行った（厚生科学研究費）。

V. 分析法の評価法の検討

化学分析法評価を精度を基準に行うための研究を行った。FUMI 理論に基づき、γ-トコフェロール代謝物 LLU-α の HPLC 分析（固相抽出、カラムスイッチングなどを含む）の調製誤差と測定誤差を調べた。また、生物発光分析の精度も調べた（HS 受託研究費）。

VI. インプラント用具の適合性解析法開発に関する研究

VI-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作成に貢献した（経常研究費）。

VI-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

人工臓器の使用状況調査、眼内レンズ摘出事例のデータベース維持を各学会に依頼した（経常研究費）。

VI-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に、物理・化学的分析を行い、標準的分析法を模索した（経常研究費）。

VI-4. 医療用具の不具合報告データベースに関する研究

米国・国内の不具合情報に関するデータベースを作成し、安全対策関係者のみが利用できるセキュリティを確保したインターネットでのシステムを構築した（経常研究費）。

VII. 医療用具の適正使用に関する研究

VII-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い、素材による違いを明らかにした。コンタクトレンズによる眼障害に関して検討を行った（厚生科学研究費）。

VII-2. 医療用具等の添付文書記載要領ガイド作成に関する研究

用具を 3 分類に大別すると共に、国際整合性も加味して記載項目の重要度を明確にし、「医療用具等の添付文書記載

要領ガイドブック」を作成した（厚生科学研究費）。

VII-3. 医療用具の安全性情報の報告・公開に関する研究

医療機関へのアンケートを基に、「医療用具安全性情報」の提供の仕方や報告書の書式について改善すべき点を明確にし、書式についても提案した（厚生科学研究費）。

VII-4. 医療用具の溶出試験情報の調査

歯科病院で使用されている手袋、義歯裏装材からのフタル酸エステル溶出について調べ、製品によって溶出量に差はあるものの、推定 1 日摂取量は TDI の最小値以下であることがわかった（厚生科学研究費）。

VIII. 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

医療用具の滅菌バリデーション実施に伴って汚染菌（バイオバーデン菌）の測定が義務付けられた。バイオバーデン菌の滅菌に対する抵抗性は菌が置かれた担体の素材の違いに拠って変動する。その変動の原因について検討している。また、院内の空中浮遊菌、落下菌、透析液中の汚染菌を同定ならびに定量する信頼できる方法を検討している。

IX. 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

IX-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刊の「接触アレルゲン解説書」において、ゴム添加剤、染料・着色剤（ペリノン系油性染料等）、抗菌剤等について発生状況、原因化学物質に関する情報収集を進め、日本語版、英語版の作成を行った（移替予算）。

IX-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について、市場調査を行い、データベース化した。特に、加工剤の種類、成分名等について製品ラベルの表示内容の変化を調査した（移替予算）。

IX-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

NIHS 家庭用品のホームページの更新を行った。室内空気汚染化学物質への行政取組、化学物質安全対策関連法律（化審法、毒劇法、PRTR 法、MSDS）にリンクした。さらに、全国衛生化学協議会家庭用品部会活動、公定分析法に関する文献を紹介した（移替予算）。

X. 家庭用品に含まれる化学物質の呼吸器暴露の安全性に関する研究

X-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

ホルムアルデヒドとパラジクロロベンゼンを単独または併用してマウスに吸入暴露させたときの毒性学および免疫学的影響について検討した。指針値および許容値を越す濃度で暴露したが、毒性試験指標並びに化学物質アレルギー反応において著しい変化はなかった（厚生科学研究費）。

X-2. 家庭用品による家庭内空気の汚染に関する研究

「そばがら枕」による頭痛などを伴う健康被害事例で、ピ

レスロイド系防虫剤のフェノトリン、ピペロニルブトキシド等が枕の中袋に使用されていた。サンプルを入手できず、原因化学物質の確認ができなかった(移替予算)。

XI. 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

プラスチック製眼鏡フレームの先セル事例において、ペリノン系油溶性染料のC. I. Solvent Orange 60およびC. I. Solvent Red 179が原因化学物質であった。天然ゴム製膝バンドでは、2-mercaptobenzothiazole関連化合物が原因であった(移替予算)。

強い皮膚感作性を有するゴム老化防止剤p-phenylenediamine誘導体各種の同時分析法を開発し、ゴム長靴に応用した。比較的感作性が弱いとされ、これまでの老化防止剤の代替となると思われるN-(1-methylheptyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamineの使用実績は認めなかった(移替予算)。

環境衛生化学部

部長 安藤正典

概 要

生活関連化学物質の安全性評価研究は、経気道、食品を除く経口としての水道水及び経皮の暴露経路からの媒体特有の変化などによる生物学的にあるいは分析化学的に評価する研究を実施している。平成12年度の研究業務は、経口、経気道、経皮暴露の観点からの課題に対応する研究の他、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としてDNAチップを用いた環境汚染化学物質に関連する疾病の遺伝子多型の検索とリスクアセスメントにおける不確実性の理論的検証を含めた研究に目を向けているところである。

室内空気に係わる課題では、国民の関心が高い室内空気質の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とを合わせて実施し、厚生省から発表された。更に、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、水道法の改正に伴う検査体制や検査方法の開発が必要に条件になった。また、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など)を開始した。また、微量の測定方法及び精度管理の体制を確立し、厚生省と共に水道法20条指定検査機関に対して精度管理を実施した。

経皮に係わる医薬部外品・化粧品関連分野では、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基礎的研究、診断機器の開発、疾病の発症要因及び皮膚をケアする機能性化粧品の開発など、多くの医学、工学、薬学等の大学と企業との共同研究を引き続き実施した。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。

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西ベンガル州 Jadavpur 大学と研究を開始し、Jadavpur 大学 postdoctoral を 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、毛髪及び食物などの試料についてヒ素の形態分析を行った。

平成11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。

業務成績

1. 空気関係

前年度に引き続き、東京都内3カ所(霞ヶ関、北の丸公園、新宿御苑)の国設自動車排出ガス測定所において、各種自動計測器を用いて大気汚染物質(一酸化炭素、一酸化窒素、二酸化窒素、二酸化硫黄、オゾン、メタン、非メタン炭化水素、浮遊粒子状物質、ホルムアルデヒド)の常時測定を実施した(環境省環境管理局自動車環境対策課)。

2. 水道水質関係

微量の測定方法及び精度管理の体制を確立し、厚生省と共に水道法20条指定検査機関に対して精度管理を実施した。また、水道法の改正に伴う検査方法の開発についても実施した。

(厚生労働省健康政策局水道整備課)

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ピチオノール及びジクロロフェンの試験法を作成した。

(厚生労働省医薬局審査管理課)

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。また、新たな基準項目の追加など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。特に、追加項目候補であるホルムアルデヒド及びTVOCについて簡易測定法の評価試験等を実施した。(厚生科学研究費)

(2) ビル管理法の改正に伴う対象建築物の拡大に関連して、事前に対象建築物(社会福祉施設, 集合住宅)内における化学物質汚染(ホルムアルデヒド, TVOC)の実態調査を実施し, その実状を明らかにした。(厚生科学研究費)

2) 建築物内空気質の安全性に関する研究

(1) 喘息及びびびがんと関連危険因子のヒト暴露量に関する調査研究では, 建材, 内装材など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)ホスフェートなどの放散量を昨年引き続き明らかにした。(大気環境学会)

(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解明に関する研究では, 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, フタル酸エステル類の実態調査を既築及び改築住宅を中心に行い, その実態を明らかにした。

3) 空気中の汚染物質の分析法に関する研究

(1) *o*-(2, 3, 4, 5, 6-ペンタフルオロベンジル)ヒドロキシルアミンをシリカゲルに含浸させた捕集剤を作成し, この捕集剤を用いた室内空気中のアルデヒド類のHPLC法を検討した。(大気環境学会)

(2) 神経毒性や発ガン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。更に, 本法を用いて居住環境内の粒径別分布, 特に, 粒径 $2.5\mu\text{m}$ 以下(PM_{2.5})の微細粒子の実態を明らかにした。(厚生科学研究費)

(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HCHO, VOCs, SVOCなどの中で, 特に, 家庭環境内でその使用が指摘されているピレスロイド系殺虫剤の形態別(粒子状及びガス状)測定法の検討を行った。(厚生科学研究費)

(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, すなわち, 捕集媒体であるろ紙ブランクの低減化, 回収率, 汚染因子の解明などを行った。本法を居住環境内のフタル酸エステル類の実態調査に適用し, 粒子状及びガス状が常に混在していることを明らかにした。(室内環境学会)

(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(燃料電池法)の評価試験を行い, その実用性を明らかにした。(環境省公害防止予算)

(6) シックハウス症候群等の原因物質として注目されている室内空気中のホルムアルデヒドの測定法について, JIS原案(DNPH-カートリッジ捕集HPLC法)を作成した。(財建材料試験センター)

2. 水道水質関係

1) 水質基準及び試験方法の設定に関する研究

(1) 農薬の測定方法に関する研究

水道水の原水及び浄水を対象とした分析法が確立している農薬類48農薬について, ガスクロマトグラフィー質量分析法による一斉分析法を設定し, この条件における各農薬の定量下限値を求めた。更に, 水道水の原水及び浄水を対象とした分析法が確立していないアメトリン, アミトラス, ジメトエート, ジクロベニル, ピリプロキシフェンの5農薬について分析方法を検討し, 前述の48農薬に加えたガスクロマトグラフィー質量分析法による一斉分析法を設定した。更に, ジクロプロップについては, メチル誘導体化を行った後, ガスクロマトグラフィー質量分析法により分析する個別分析法を設定した。また, ジフルベンズロンについては, 紫外部吸光検出器もしくはフォトダイオードアレイ検出器を用いた高速液体クロマトグラフ法による分析法を設定した。(厚生科学研究費一真柄班)

(2) 水道水ならびに環境水における1, 4-ジオキサンの存在状況に関する研究

環境水からの1, 4-ジオキサン抽出法として, ポリスチレン系ゲルを充填した固相カートリッジにより疎水性物質を捕集した後, 活性炭を充填した固相カートリッジにより捕集する方法を用い, 全国の代表的河川の河川水に適用した結果, ガスクロマトグラフィー質量分析法による分析に妨害を及ぼす物質を除去できることを明らかにした。また, サロゲートを使用することにより, 精度よく分析を行うことが可能であることが明らかとなった。上記の方法を用い, 共同研究者の協力により, 全国数河川の河川水における1, 4-ジオキサンの実態把握を行った。(厚生科学研究費一真柄班)

(3) 内分泌攪乱農薬の分析方法の開発

内分泌系を攪乱する恐れのある農薬, メソミル, カルバリル, カルボフラン, ベノミル及びベノミルの加水分解産物の高速液体クロマトグラフ法による一斉分析法を設定した。(厚生科学研究費一真柄班)

2) 水道水の安全性評価に関する研究

(1) 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

1, 4-ジオキサンを曝露したラット肝細胞についてcDNAマイクロアレイによる遺伝子発現解析を実施し, 発現量に変化する遺伝子を同定した。(環境省公害防止予算)

(2) ダイオキ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

シマジン, アトラジン及びプロパジンを検討し, マウス, ラット, モルモットのいずれの動物種においても主代謝産物は脱アルキル化体であることを明らかにした。その中で, アトラジンの脱エチル化体とプロパジンの脱イソプロピル化体は親化合物よりエストロゲン作用が強いことを, 蛍光偏光度法により明らかにした。(環境省公害防止予算)

ラットにおいて, アラクロールはCYP2B1/2分子種を強く誘導することを明らかにした。(環境省公害防止予算)

(3) 水域環境汚染物質の毒性評価法の開発に関する研究

In vitro系においてシトクロムP4501Aの指標となる7-エトキシレゾルフィン-O-デメチラーゼ及び7-メトキシレゾルフィン-O-デメチラーゼ活性を0.8pmol/assayまで測定する方法を開発した。(環境省公害防止予算)

(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

ラット肝細胞のシグナルトランスダクション及び遺伝子発現に対する藍藻肝毒素の影響について検討を行った。その結果, Microcystin-LRによりMAP Kinase系及びSTAT系のリン酸化が亢進することを明らかにし, Microcystin-LR曝露で発現量が増加する13種類の遺伝子を同定した。(厚生科学研究費一真柄班)

(5) 内分泌攪乱化学物質の水道水からの暴露などに関する調査研究

2水道局モデル浄水場の浄水過程の各段階から分取した試料水の抽出濃縮試料に含まれるエストロゲン様活性及び蛍光物質を蛍光偏光光度法により検討した。浄水過程高度処理系のオゾン処理, 活性炭処理または生物活性炭処理により, エストロゲン様活性のリスクは削減されることが明らかとなった。蛍光偏光光度法では, 混在する蛍光物質が測定に影響することが示唆され, この方法での評価はエストロゲン様活性を高めに見積もる可能性があることが明らかとなった。

非イオン性界面活性剤生分解物4-tert-オクチルフェノールの塩素化体及び界面活性剤中の不純物である1,4-ジオキサンがいずれもラット肝細胞のCYP2Bを誘導し, その結果16 β -ヒドロキシテストステロン生成量を増加させ, 2-ヒドロキシエストラジオール生成量を減少させることを明らかにした。(科研費)

(6) 水域環境における内分泌観覧化学物質の次世代への影響評価確立に関する分子遺伝学的研究

アフリカツメガエルの発生初期胚において, 17 β -エストラジオールを暴露することにより転写発現量の変化が生じる遺伝子をcDNAマイクロアレイを用いて検索し, DNAデータベース情報からその遺伝子の同定を進めた。(環境省公害防止予算)

3) 生活関連化学物質の安全性評価に関する研究

(1) 地球環境汚染としての有害ヒ素の健康影響に関する研究

ヒト表皮角化細胞の遺伝子発現に対するヒ素化合物の影響についてcDNAマイクロアレイを用いて検討を行い, ヒ素曝露によって発現量が増加する16遺伝子及び発現量が減少する6遺伝子を同定した。更に, 特徴的な4遺伝子についてReal-time PCRによる定量的な発現解析を行った。

「日常生活における皮膚障害に関する研究」

アレルギー性疾患との関連が疑われる5遺伝子8SNPsについてMGBプローブアッセイによる判別法を開発した。

(4) 薬剤反応性遺伝子の多型解析に関する研究

「UDP-グルクロン酸転移酵素の機能と発現制御機構に関する研究」

COS-1細胞で発現させた野生型及び3種類の変異型ヒトUGT1A1について, 抗癌剤Irinotecan代謝物(SN-38)のグルクロン酸抱合活性を速度論的に解析した。

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及びその国際ハーモナイゼーションに関する研究

本研究は, OECDガイドライン化が検討されている経皮吸収試験項目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レゾルシンおよび4-クロロ-m-クレゾールが32°C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及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) 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44種類の化学物質について, 肥満細胞の脱顆粒への影響やPorkweed mytogenで活性化された脾細胞からのIgM産生能に及ぼす影響について検討した。更に, 14種類の化学物質について, 表皮ケラチノサイトからのIL-1 β , IL-4放出に及ぼす影響を検討した(文部科学省生活・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

これまで検討した255種類の環境中に存在する化学物質の内, 各種のIn vitro試験の結果, 問題点が指摘された20種の化学物質の単独あるいはそれらの混液を用いて, 再度, 肥満細胞を用いる免疫異常亢進効果及び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した。更に, その結果を河川水あるいは下水処理水に適応し, 今回確立したアレルゲン性を評価するIn vitro試験法の有用性を検討した。

(環境省未来環境創造型基礎研究推進制度)。

2) 地下水汚染に伴う広域的ヒ素汚染に対する地球環境保全のための環境計画に関する研究

地下水のヒ素汚染により, 大規模な住民被害が報告されているインド西ベンガル州の被害地域を対象にインド西ベンガル州のJadavpur大学環境科学部のDr. Chakraborti教授のグループと共同で研究を実施した。2回のインド西ベンガル州の地下水ヒ素汚染地域の現地調査を実施し, 地下水のヒ素汚染地域の飲料水, 住民の尿・毛髪, 爪及び食品材料あるいは灌漑用水を採取し, それら試料中のヒ素を含む各種元素の濃度及びヒ素代謝物の形態分析を実施した(環境省地球環境総合推進費)。

3) 分煙効果判定基準策定検討会

社会での喫煙による分煙を押し進めることが国際的にも国内的にも高まっている。しかしながら、国内的には分煙に対する理解に欠ける社会的構造もあることは否めない。このことから、分煙を社会で定着させるための分煙効果を判定することが求められ、そのための喫煙や分煙における健康影響、発生する化学物質などについて検討した(厚生労働省健康局生活習慣病対策室)。

食 品 部

部 長 豊 田 正 武

概 要

平成12年度の食品衛生分野において特記すべき事は、遺伝子組換え食品の表示が平成13年4月より義務化されることとなり、食品中における遺伝子組換え食品の検知法が必要となったことである。当部も厚生労働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、組換えDNA技術応用食品の検査方法(通知)を作成するとともに、消費者団体より指摘された市販トウモロコシ加工食品への安全性未確認遺伝子組換えトウモロコシ(スターリンク)混入の有無について分析を実施し、その混入を確認した。基準課は西暦2000年以降も引き続き毎年新たに十数農薬に残留基準値を設定する目標を立て、当部は分析法作成及び基準値設定の部分で全面的に協力し、214農薬の残留基準値の設定が可能となった。監視安全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ットスタディーによる1日摂取量を調査し、平成11年度の平均的な食事由来のダイオキシンの1日摂取量は2.25pgTEQ/kgbw/日であることを明らかにした。

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13年4月1日付けで合田幸広室長が生薬部長に昇任した。平成12年12月1日付けで大阪支所食品試験部天倉吉章研究員が当部へ配置換えとなり着任した。科学技術庁長期在外研究員として1年間カナダ国マックマスター大学医学部に留学していた樋山浩研究員が平成12年9月16日所定の成果を挙げ帰国した。平成12年12月1日より科学技術特別研究員として受け入れていた佐久嶋順一郎博士が平成13年3月31日に退所し小野薬品工業株式会社に就職した。また平成12年4月1日よりHS流動研究員として受け入れていた六鹿元雄博士が平成13年3月

31日に退所し食品添加物部研究員として採用された。五十鈴川和人博士を平成13年4月1日よりHS財団流動研究員として受け入れた。

海外出張では合田幸広室長はFAO/WHO合同バイオテクノロジー応用食品専門家会合出席のためスイス国・ジュネーブ市に出張(平成12年5月28日～6月4日)した。豊田正武部長及び合田幸広室長は、遺伝子組換え食品の検知法の開発に関するJRC-ILSIワークショップに出席のためベルギー国・ブラッセル市に出張(平成12年12月10日～15日)した。また松田りえ子室長は、第23回FAO/WHO合同食品規格計画分析サンプリング部会に出席のためハンガリー国・ブタペスト市に出張(平成13年2月24日～3月4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

ア) 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野菜・果実中の残留農薬の多成分分析法を開発した(厚生労働省食品保健部生活安全総合研究)。

イ) 残留農薬基準値未設定農薬の残留分析に関する研究

エチクロゼートの残留分析法を確立した(厚生労働省食品保健部基準課)。

ウ) 残留農薬告示分析法見直しに関する研究

ジクロロボス及びトリクロロホン、トリフルミゾール、アミトラズについて、コラボラティブスタディーを行い分析法を評価した(厚生労働省食品保健部基準課)。

エ) 食品中の農薬分析の基礎的研究

130農薬を用いて、GC/MSへの大量注入条件の最適化を行った。

オ) 農作物における複数農薬の残留実態調査研究

農薬残留頻度が高い農産物について複数農薬残留実態調査を実施した(厚生労働省食品保健部生活安全総合研究)。

2) 内分泌攪乱化学物質に関する研究

市販魚中のノニルフェノールを分析し、汚染濃度と包装材料との関連を明らかにした(厚生労働省食品保健部生活安全総合研究)。

3) 有機スズ化合物の衛生化学的研究

ラットに投与したTBTCは肝臓で酸化された後、メルカプツール酸として排泄される事を明らかにした(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

エプリノメクチン、チルミコシン及びレバミゾールの検査法を確立し、実態を調査した、また24種の動物用医薬品の一斉スクリーニング法を確立した(厚生労働省食品保健部監視安全課)。

5) 食品中のtert-ブチルフェノール類の実態調査研究

魚・野菜等各種食品中のtert-ブチルフェノール類の分析法を作成し実態を調査した。

6) 食品中のダイオキシン類に関する研究

ア) 食品中ダイオキシン異性体の調査に関する研究

ほうれん草・小松菜等の葉菜類において、23478-PeCDFがTotal TEQの指標となり得ることを示した(厚生労働省食品保健部生活安全総合研究)。

イ) ダイオキシン類の外部精度管理に関する研究

15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(厚生労働省食品保健部生活安全総合研究)。

ウ) ダイオキシン類の汚染実態調査に関する研究

94種食品中のダイオキシン類及びコプラナラーPCBの汚染実態調査を行ない、食品中の濃度が調理により減少することを明らかにした(厚生労働省食品保健部生活安全総合研究)。

エ) ダイオキシン類の1日摂取量に関する研究

16トータルダイエット試料により1日摂取量を推定し、平成11年度は2.25pgTEQ/kgbw/日であることを明らかにした(厚生労働省食品保健部生活安全総合研究)。

6) かび毒の分析法及び汚染実態調査に関する研究

クリーンアップに多機能カラムのみを用いた香辛料中アフラトキシン分析法を開発した(厚生労働省食品保健部生活安全総合研究)。

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286万件に達した。これら保存データの食品部サーバへの移管を完了した(厚生労働省食品保健部生活安全総合研究)。

2) 全国10機関からのトータルダイエット試料をもとに農薬・重金属等汚染物について摂取量を推定した。22年間の摂取量データをまとめて冊子とした(厚生労働省食品保健部生活安全総合研究)。

3. 食品成分とその変質物に関する研究

1) 食品成分分析の迅速高感度化に関する研究

酸化電位の高いぶどう種子プロシアニジン少量体を電気化学検出器でng/mlで検出できた。

2) 抗酸化物質の生理機能解明に関する研究

ぶどう種子プロシアニジンが*in vitro*, *in vivo*で抗アレルギー活性を示すことが解った(特別研究)。

3) 実験動物を用いた食品のアレルゲン性評価手法の確立に関する研究

NCマウス, w/wマウスを用いたOVA連日投与による感作成立を明らかにした。

4. 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

ア) 安全性の確認された組換え大豆及び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、スクリーニング法及び定量分析法を確立した(厚生労働省食品保健部

生活安全総合研究)。

イ) 安全性未確認の遺伝子組換えトウモロコシ、パパイヤ、ニューリーフプラスジャガイモについて定性的検知法を開発した(厚生労働省食品保健部生活安全総合研究)。

ウ) スナック菓子からの組換え遺伝子(スターリンク)の検知を行い混入を確認した(厚生労働省食品保健部生活安全総合研究)。

2) 遺伝子組換え食品の腸内分解性・アレルゲン性に関する研究

ア) 2種新規産生蛋白質及び抽出物は人工胃液で速く分解することを明らかにした(厚生労働省食品保健部生活安全総合研究)。

イ) 加熱処理Cry9C蛋白質について消化酵素分解性の促進を確認した(厚生労働省食品保健部生活安全総合研究)。

3) 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

ア) 人参投与により非感作マウス消化管の腸管膜リンパ節においてT cell比率減少とB cell比率上昇を認めた(HS財団受託研究)。

イ) 赤大根由来成分のうちフェロイル基含有アントシアン類にヒスタミン遊離抑制活性を認めた(HS財団受託研究)。

ウ) りんご未熟果実より精製したプロシアニジン1~5量体の血清蛋白質結合性と抗アレルギー活性発現との関係を明らかにした(HS財団受託研究)。

エ) 里芋中のラノステロール合成酵素阻害活性成分を単離し構造決定した(HS財団受託研究)。

5. 照射食品の判定と健全性に関する研究

1) 照射食肉の検知に関する研究

照射冷凍肉の検知に関し、コメットアッセイ法の実用化検討を行った(国立機関原子力試験研究費)。

照射肉の検知に関し、炭化水素法の検討を行い、実用性を検証した(国立機関原子力試験研究費)。

ミトコンドリアDNA法の自動化に必要な検討を行った。

2) 照射スパイス類の検知に関する研究

照射されたスパイス類の検知法に関する文献を調査した(厚生労働省食品保健部基準課)。

3) 照射食品の安全性に関する文献を調査した(厚生労働省食品保健部生活総合安全研究)。

食品添加物部

食品添加物部長 米谷民雄

概 要

当部における主要業務は、香料を含む化学的合成添加物や天然添加物、器具・容器包装、玩具等に関する試験・研究

業務であるが、その他に、「食品添加物公定書」、「同英文版」及び「食品中の食品添加物分析法」に関する調査・検討を行った。また、ヒューマンサイエンス振興財団の受託研究として、「遺伝子操作技術等により生産される食品添加物の化学的安全性評価に関する研究」を行った。

人事面では、平成12年4月1日より三瀬勝利副所長が部長事務取扱であったが、同年7月1日付けで米谷民雄第二室長が部長に昇任し、その後任として山崎壮機能生化学部第一室長が配置換えとなった。また、食品用器具・容器包装業務の重要性から第三室の増員要求が認められ、科学技術特別研究員の六鹿元雄博士が平成13年4月1日付けで採用された。

海外出張としては、石綿肇第一室長がFAO/WHO合同食品規格計画第33回食品添加物汚染物質部会及び特別作業部会に出席のため、オランダに出張した(平成13年3月9日～3月16日)。また、河村葉子第三室長が第55回FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会に出席のためスイスに(平成12年6月7日～6月17日)、第2回食品包装に関する国際シンポジウムで発表のためオーストリアに(平成12年11月6日～11月12日)、KFDA/NITR内分泌かく乱化学物質国際シンポジウム2000で講演のため韓国に(平成12年12月11日～12月14日)出張した。

業務成績

- (1) 地方衛生研究所、厚生労働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、医薬局食品保健部基準課)。
- (2) 第7版食品添加物公定書中のタール色素試験法及び各条に関わる正誤について見直し及び訂正を行った(食品添加物規格基準設定費、医薬局食品保健部基準課)。
- (3) 糖質関連酵素を対象に、酵素規格に必要と考えられる項目の検討を行った。また、日持ち向上剤ホコッシ抽出物について、製品中の主成分bakuchiolの分析法の開発及び主成分の単離精製と同定を行った。また、食品からのホコッシ抽出物の分析法を新たに開発した(天然添加物指定制度実施事業費、医薬局食品保健部基準課)。
- (4) 天然苦味料レイシ抽出物の主成分及び微量成分を分析した。その結果、レイシ抽出物はganoderic acid A, G等を主苦味成分とし、ganoderic acid B, C1, C2, G, H, ganolucidic acid A等を微量成分とするラノスタン型トリテルペノイドの複雑な混合物であることがわかった(食品添加物規格基準設定費、医薬局食品保健部基準課)。
- (5) 既存添加物製造業者が有する社内規格の実態調査に協力した(食品添加物規格基準設定費、医薬局食品保健部基準課)。
- (6) ポリエチレン、非フタル酸エステル含有ポリ塩化ビニル及び天然ゴム製使い捨て手袋について溶出試験を実施し、蒸発残留物、溶出金属、溶出添加剤等を調べた(容器包装等試験検査費、医薬局食品保健部基準課)。

(7) 特別用途食品評価検討会第2部会、第5部会及び新開発食品調査部会(医薬局食品保健部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(医薬局食品保健部監視安全課)、医薬品添加物規格の国際調和作業(医薬局審査管理課)、医薬品添加物規格検討委員会(医薬局審査管理課)等における具体的作業に協力した。

研究業績

1. 食品添加物の規格基準に関する研究

(1) 既存添加物の規格設定のための検討

既存添加物のベニバナ赤色素について、従来製法と酵素反応製法による色素成分の異同を検討した。その結果、主色素は共にカルタミンであった。従来製法の製品に赤色の副色素が認められたので、構造解析を行った。酵素反応製品には、従来製法製品と異なる色素成分は残存しないと考えられた(厚生科学研究費、医薬局食品保健部基準課)。

(2) 規格試験法、分析法からの有害試薬の除去

「第7版食品添加物公定書」の中で有害試薬を使用しない代替試験法を作成する必要がある試験法について、国内外の食品添加物および医薬品の規格における試験法を比較し、代替試験法への適用の可能性と今後の検討方針を示した。また、「第2版食品中の食品添加物分析法」の中で、ベンゼンを用いた分析法を採用している水溶性アナトーについて、代替試験法の作成を目的に分析法の文献調査をした(厚生科学研究費、医薬局食品保健部基準課)。

2. 食品添加物等の安全性に関する研究

(1) 1998年度(平成10年度)の行政検査を基にした保存料の摂取量の推定

1996年度の全国の食品添加物の行政検査結果に基づく食品添加物の摂取量調査について、16品目全て終了した。1994年度の結果と比較したところ、ジフェニルの摂取量が激減した以外は大きな変化はなかった。また、1998年度の行政検査結果について整理を開始した(厚生科学研究費、医薬局食品保健部基準課)。

(2) 腐敗したワイン中にソルビン酸エチルエステルが生成することが確認されているが、ソルビン酸を使用したワインでは正常ワイン中にも同物質が微量ながら存在する事を確認した(食品添加物規格基準設定費、医薬局食品保健部基準課)。

(3) 粉末スープ中のポリソルベートの分析法を検討した。非塩素系溶媒で抽出し、シリカゲルカートリッジカラムと少量の溶媒で精製後、溶出したポリソルベートとチオシアン酸コバルトとの反応生成物をGPCカラム使用のHPLCにより定量する方法を開発した。定量限界は0.04mg/gであった(食品添加物規格基準設定費、医薬局食品保健部基準課)。

(4) 食品中の未許可添加物の分析法の開発

食品中の指定外添加物の分析法の開発を行った。輸入食品中の不明着色料の分離・精製法を検討し、TLC及びHPLCで同定した。カルミン酸を原料として合成された色素であった

(厚生科学研究費, 医薬局食品保健部基準課)。

(5) 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

たばこの煙中に移行する添加物及び化学成分について検討するための基礎的研究として, たばこ製品に使用されている国内栽培のタバコ (*Nicotiana tabacum*) 中の中〜高極性成分について検討した. その結果, 主成分の nicotine 以外に 8 種の化合物を単離・同定した (厚生科学研究費, 健康局総務課)。

(6) HPLC/ICP-MS 法による A1 と生体成分・食品成分・食品添加物の結合の解析

健康人血清中における A1 のトランスフェリン (Tf) への結合状態を調べるために, A1 の高感度分析が可能な高分解能 (HR) ICP-MS を検出器とする HPLC 法 (HPLC/HR-ICP-MS 法) を用いて, A1 において 0.1 ppb レベルでの検出を可能とする方法を考案し, その方法により, 健康人血清中の A1 が Tf の N-ローブに結合していることを, はじめて明らかにすることができた (科学技術振興費)。

(7) 衛生試験法の放射性物質試験法に ICP-MS を用いたウランの測定法を収載するために, 基礎的検討を行った。

(8) 必須アミノ酸製品等による健康影響に関する調査研究

1999〜2000年に公表された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を調査し, 現段階での結論を提言した (厚生科学研究, 医薬局食品保健部監視安全課)。

3. 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

(1) 遺伝子操作技術等により生産される食品添加物の化学的安全性評価に関する研究

天然抽出物に糖を付加して製造された食品添加物である酵素処理カンゾウの化学的安全性評価を目的として, 構成成分の単離と構造解析を行った. 新規化合物を含む 6 種の成分の構造を明らかにした. いずれも glycyrrhizin 及びその光学異性体が 1〜2 個のグルコシル化を受けた化合物であった. 官能試験の結果, 1 個グルコシル化された化合物は甘みが強く, 2 個以上グルコシル化された化合物の甘みは sucrose と同程度しかないことがわかった (創薬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) 内分泌かく乱物質の食品用器具・容器包装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

ジブチルスズ, ジオクチルスズなど 9 種類の有機スズ化合物の原子発光検出器を用いた分析法を開発し, ポリ塩化ビニルなどのプラスチック, ゴム, シリコン製品について調査したところ, 塩ビ容器や手袋, シリコン加工シートから各種有機スズ化合物が検出された (科学技術振興調整費, 文部科学省)。

(2) ポリ塩化ビニル製手袋中の可塑剤及びノニルフェノールの溶出に関する研究

ポリ塩化ビニル製手袋に残存するフタル酸エステル, アジピン酸エステル及びノニルフェノールについて, 食品擬似溶媒およびナタネ油を用いて, 各種試験温度及び試験時間における溶出試験を行い, それらの溶出傾向を明らかにした (厚生科学研究費, 医薬局食品保健部基準課)。

(3) ゴム製器具・容器包装中の間接添加物に関する研究

新たに食品用途に使用されるようになったニトリルゴム手袋について, 各種食品擬似溶媒を用いて蒸発残留物, 溶出金属等の試験, 溶出物の同定及び定量を行うとともに, アクリロニトリルモノマーの残存量を測定した (厚生科学研究費, 医薬局食品保健部基準課)。

(4) 生活関連製品中の内分泌かく乱化学物質と溶出物の変化に関する研究

乳幼児が玩具等を舐めたりする時間と大人が玩具試験片を chewing したときのフタル酸エステル溶出量を基に, 我が国の乳幼児における玩具由来のフタル酸エステルの一日推定摂取量を算出した. また, 平成 12 年度に購入した玩具について可塑剤の実態調査を行い, 平成 10 年度の調査結果と比較した (厚生科学研究費, 医薬局食品保健部基準課)。

有機化学部

部長 宮田直樹

概 要

平成 12 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, 前年度から引き続き, 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」, 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」, 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。

人事面では, 末吉祥子第二室長が平成 13 年 3 月 31 日をもって定年退職した. 末吉室長は, 昭和 39 年に当所 (製薬研究部: 現有機化学部) に採用され, 37 年にわたり当部の有機化学研究の中核的存在として活躍した. また, 局方収載医薬品や化粧品原料に関する会議などにおいて, 規格基準の作成に大きく貢献した. 平成 13 年度は, 有機化学部客員研究員として引き続き研究協力をお願いしている. また, 末吉室

長の退職にともない、平成13年4月1日付けで、第二室長に栗原正明第一室長が異動するとともに、同日付けで第一室長に福原潔主任研究官が昇任した。欠員一名については、現在公募（準備）中である。

学会出席のための短期外国出張としては、宮田が、平成12年5月13日より21日までカナダに出張し、トロントで開かれた197th Meeting of the Electrochemical Society (第197回電気化学会) に出席し、水溶液中で光励起C60が還元的条件下スーパーオキシドを発生する反応機構について研究成果を発表した。また、栗原が、平成12年9月8日より17日までフランスに出張し、モンペリエで開かれた26th European Peptide Symposium (第26回ヨーロッパペプチドシンポジウム) に出席し、コンピュータ計算によるオリゴペプチドのコンフォメーション解析について研究成果を発表した。また、宮田、末吉、丹野正幸主任研究官が、平成12年12月14日より19日まで米国のホノルルで開かれた2000 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (環太平洋国際化学会:2000) に出席し、宮田はフラレンから生成する活性酸素種について、末吉は酸化条件でのNOの発生について、丹野はN-ニトロソアミンからのNOの発生について、最近の研究成果を発表した。また、宮田が、平成12年12月21日より12月23日まで台湾のマイアオリで開かれたThe 4th Taiwan-Japan Cooperative Meeting of Fullerene Science and Technology(フラレンの科学技術に関する第4回台湾-日本協力会議) に出席し、光励起フラレンのDNA切断作用について研究成果を発表した。

長期外国出張としては、山越研究官が、科学技術振興事業団長期在外若手研究員として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」の研究を行っていたが、平成13年3月29日帰国した。

研究員の受け入れについては、昨年度から引き続き、中西郁夫博士が流動研究員(科学技術振興事業団科学技術特別研究員)として、また、寒水壽朗博士が医薬品機構の派遣研究員として研究に参画した。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600MHz核磁気共鳴装置)及び所内共同利用機器(500,400,及び400MHz核磁気共鳴装置)の管理は、栗原および福原が行った。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13年1月19日に「生細胞プローブの開発研究(一酸化窒素、一重項酸素、亜鉛などの検出)」を開催した。

宮田と末吉は、厚生労働省日本薬局方部会名称調査会委員

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、名称調査会新薬名称分科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) 非ペプチド型HIVプロテアーゼ阻害剤の分子設計と合成:前年度までに設計を完了した、非ペプチド型HIVプロテアーゼ阻害剤の合成を達成した。(一般研究費、平成10-12年度)
- 2) 薬効成分を有する天然物の安全性に関する研究:Aristolactam I, IIのワンポット合成法を開発し、大量合成を行った。(厚生科学研究費補助金、平成10-12年度)
- 3) 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:アルコールの脱保護をトリガーとするエンジン分子の合成を完了し、脱保護によりバグマン環化反応が進行することを明らかにした。(文部省科学研究費補助金、平成11-12年度)
- 4) ジアゾニウム発生化合物を利用した生理活性物質の合成と解析:N-ニトロソアミド誘導体をジアゾニウム源としてアクリル酸エステル類と反応させると、従来法に比べて高収率でヘック生成物を得られることを明らかにした。(一般研究費、平成12年度)
- 5) 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:ポリアゼン化合物の無溶媒条件下合成法を検討し、新規アザポリエン類を合成した。(一般研究費、平成11-13年度)
- 6) 光活性型NOドナーの開発:DNAに親和性を有する光活性型NOドナーとしてアントラセンのニトロ誘導体の分子設計と合成を行った。(一般研究費、平成11-13年度)
- 7) 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L-696,474の構造を基にHIVプロテアーゼ阻害剤の分子設計を行った。(国立衛研特別研究費、平成9-14年度)
- 8) 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:フレロプロリン誘導体およびフレロピロリジン誘導体の効率的合成法を確立した。またこれらの誘導体の固相結合反応を検討し、固相精密合成に利用可能なフラレン結合ポリマーの合成を達成した。(科学技術庁振興調整費、平成11-13年度)
- 9) 一酸化窒素・ヒドロキシルラジカル同時発生化合物の開発:一酸化窒素とヒドロキシルラジカルを同時に発生する化合物としてピリジンN-オキシド基を有する芳香族ニトロソ化合物の合成を行った。(文部省科学研究費補助金、

平成12-13年度)

10) 新規ヒドロキシルラジカルドナーの開発: *N*-オキシド化合物は、還元剤存在下、好氣的条件下ではスーパーオキシドを発生し、嫌氣的条件下ではヒドロキシルラジカルを発生することを明らかにした。さらに活性酸素生成機構の構造化学的解析を行った。(文部省科学研究費補助金, 平成12-13年度)

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: ポリフェノールのキノン代謝物について、DNA切断活性と8-oxodGの生成量および還元特性について解析をおこない、DNAに対する酸化損傷反応はキノンの一電子還元特性と相関することを明らかにした。(一般研究費, 平成9-13年度)

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: 還元的条件下で、種々のキノンおよびニトロアレン類から発生する活性酸素種(スーパーオキシド)の生成量を電気化学的手法で解析し、定量化を達成した。(厚生科学研究費補助金, 平成11-13年度)

3) 抗酸化剤の有効性と安全性に関する研究: カテキン等のポリフェノールはフェントン系によって発生した活性酸素によるDNA切断反応を抑制することを明らかにした。(一般研究費, 平成12-13年度)

3. 薬物と生体分子の相互作用の解析に関する研究

1) 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: 温度変化によりスイッチする包摂化合物を合成し、溶液中でのコンフォーメーション変化、ゲスト化合物とのバインディングについて明らかにした。又、走査型トンネル顕微鏡を用いて、単分子レベルでの分子の観察に成功した。(科学技術振興事業団長期在外若手研究, 平成11-12年度)

2) 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合成した環状ウレア化合物8種の生物活性を検討し、3種が高い細胞分化活性を有することが明らかとなった。(医薬品機構基礎研究推進費, 平成9-13年度)

3) DNA認識ペプチド誘導体による遺伝子発現の制御に関する研究: 低分子化合物による遺伝子発現の制御を目的として、転写調節因子のDNA結合ドメインのペプチドモチーフにDNA切断活性を有するアミノ酸を導入した化合物を分子設計した。(一般研究費, 平成9-13年度)

4) 光励起されたC60, C70の生体分子との反応に関する研究: 短時間レーザー照射法などを利用することにより、シクロデキストリンで水溶化したC60の光励起体のNADHによる還元速度およびC60アニオンラジカルから酸素への電子移動速度を求めることに成功した。(一般研究費, 平成10-13年度)

以上の研究は、志茂雅敏実習生(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), 木村光宏実習生(芝浦工業大学工学部工業化学科生物化学研究室: 浦野四郎教授), 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、有機合成化学講演会(福岡), 日本環境変異原学会第11回公開シンポジウム(東京), 第22回磁気共鳴医学会・第4回SFRR Japan合同学会(東京), 第19回フラーレン総合シンポジウム(桐生), CBIミレニアムシンポジウム2000年大会(東京), 26th European Peptide Symposium(フランス), Xth Biennial Meeting of the International Society for Free Radical Research(京都), 第15回生体フリーラジカル研究会(東京), 第26回反応と合成の進歩シンポジウム(大阪), 日本環境変異原学会第29回大会(仙台), 第20回メディシナルケミストリーシンポジウム/第9回日本薬学会医薬化学部会合同年会(東京), 2000 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies(アメリカ), The 4th Taiwan-Japan Cooperative Meeting of Fullerene Science and Technology(台湾), CBI学会第201回研究講演会(東京), The 20th Fullerene General Symposium(岡崎), UK Macrocyclic Conference(イギリス), The 199th Meeting of The Electrochemical Society(アメリカ), 第121回日本薬学会年会(札幌), 日本ビタミン学会第53回大会(兵庫), などの学会で発表するとともに, Chem. Pharm. Bull., Peptides 2000, Fullerenes, Environ. Mutagen Res., J. med. Chem., Org. Lett., Helv. Chem. Acta., Biochem. Biophys. Res. Comm., 磁気共鳴と医学, 薬学雑誌, 生体内一酸化窒素プロトコール, 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)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12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、平成12年度より、薬剤反応性遺伝子解析による疾病対策・創薬推進事業を行うプロジェクトチームに参加し、遺伝子多型解析を開始した。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。また、平成12年7月1日付けで、山崎壮第一室長が食品添加物部第二室長に異動し、これに伴い手島玲子主任研究官が第一室長に昇格した。次いで、平成12年10月1日付けで、中村亮介博士が新規採用された。また、長年にわたり当部に貢献した池淵秀治第二室長が平成13年3月31日付けで定年退官し、これに伴い斎藤嘉朗主任研究官が平成13年4月1日付けで第二室長に就任した。

研究業績

1. 免疫担当細胞の機能に関する研究

(i) 免疫毒性試験法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、フタル酸エステル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。また、環境化学物質並びに薬物による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並びに細胞内遺伝子発現に関する検討を行った(特別研究費、文部省科学研究費)。さらに、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に、アレルゲンの調製、in vitro分解性試験法の開発、動物モデルの開発、及びヒト血清を用いるin vitroでの抗原性の確認法に関する研究を行った(厚生科学研究費)。

(iii) 薬物アレルギーのin vitro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の標識法について、さらに検討すると共に、ペプチドに対する抗体を調製した(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) 構造解析を目的として、ウシ脳よりOBCAM(オピオイド結合性細胞接着分子)の精製を行った。

(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。さらに二次元電気泳動とファーウェスタン法を組み合わせ、その蛋白質の等電点を決定した。

(iv) GPIアンカー型糖蛋白質の生合成に関与していると考えられている小胞体シャペロン・カルネキシンの機能を詳細に検討した(文部省科学研究費)。

3. モノクローナル抗体の機能変換等に関する研究

(i) 血液脳関門透過性抗体を調製する目的で、抗モルヒネモノクローナル抗体のscFvと血液脳関門透過性運搬体との融合タンパクを大腸菌中で発現させた。(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、医薬品原材料への病原性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の開発の一環として、免疫化学的検出法における定量用標準プリオン蛋白質、および抗プリオン蛋白質抗体を抗血清よりアフィニティー精製するためのリガンドとして、組換えウシプリオン蛋白質を調製した(厚生科学研究費)。

5. 薬剤反応性遺伝子の多型解析に関する研究

(i) 抗喘息薬および抗てんかん薬等の薬剤反応性遺伝子8種類につき、多型解析を行った(医薬品機構受託研究費)。

(ii) 抗てんかん薬カルバマゼピンおよび抗がん剤パクリタキセルの代謝に関与するCYP2C8につき、発見した遺伝子多型による機能変化を解析した(医薬品機構受託研究費)。

(iii) 抗てんかん薬および循環器病薬等によるアレルギー性副作用発現の機構を調べる目的で、各種皮膚細胞におけるシトクロムP450分子種の発現を解析した(医薬品機構受託研究費)。

代謝生化学部

部 長 澤 田 純 一
前部長(副所長事務取扱) 三 瀬 勝 利

概 要

平成12年度の研究業務として、脂質代謝を介する生体機能制御に関する研究、薬剤反応性遺伝子の多型解析に関する研究、食細胞における情報伝達・細胞骨格制御に関する研究、心筋の機能制御と病態に関する研究等を行った。人事に関しては、平成12年4月1日より佐井君江主任研究官が毒性部より異動した。また、平成13年4月1日より、澤田純一機能生化学部長が代謝生化学部長併任となり、小野景義主任研究官が生薬部より異動した。

研究業績

1. 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形成のトリグリセリド取り込み過程におけるホスファチジルコリン・コレステリルエステル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、脂質会合過程での糖鎖機能を解析した。(文部省科学研究費補助金)

2. 薬剤反応性遺伝子の多型解析に関する研究

抗癌剤の代謝動態関連分子及び標的蛋白質をコードする遺伝子の一塩基多型の解析手法を検討した。また、抗癌剤とその代謝産物の分析手法を確立し、新規代謝物の同定を行っ

た。(医薬品機構研究費)

3. 食細胞における情報伝達・細胞骨格制御に関する研究

(1) 白血球の機能発現に関わるアクチン結合蛋白に特異的に結合する蛋白をファージディスプレイ系で検索し、3種の蛋白を同定した。(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、食細胞の反応性に対する影響を検討した。(試験一般)

(3) 環境中内分泌攪乱物質が生体防御系に与える影響を、未分化培養白血球細胞株の特異的受容体発現過程に対する影響の面から検討した。(環境庁公害予算)

4. 心筋の機能制御と病態に関する研究

(1) トランスジェニック動物を用いて β アドレナリン受容体による心筋収縮性調節におけるA-キナーゼアンカリングタンパク質(AKAP)の機能的役割を検討した。(文部省科学研究費補助金)

(2) 心筋小胞体機能調節遺伝子発現と心筋収縮不全および心肥大との関連をトランスジェニック動物を用いて検討した。(厚特研)

(3) トランスジェニック動物を用いて心筋小胞体タンパク質ホスホランパンの新規心筋症治療ターゲットとしての可能性を明らかにした。(試験一般)

衛生微生物部

部長 棚元 憲一

概 要

平成12年度も医薬品、食品等における微生物学的試験及び研究を進展させた。業務関連では前年度に引き続き、特別審査、規格基準関連業務、さらには各種調査会等に貢献した。研究業務は1) 内毒素に関する研究、2) O157等食中毒菌に関する研究、3) 化学物質による培養細胞形質転換に関する研究、4) 真菌に関する研究、等を行った。

人事面では長年当部の研究発展に多大な尽力をいただいた鈴木明子、成田紀子両氏が退官された。平成12年4月より同7月1日の間、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併任を勤めた。平成11年7月より厚生省厚生科学課併任であった菊池豊主任研究官が、平成12年6月をもって併任解除となった。平成12年4月より13年3月31日まで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月より同8月まで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た。

海外出張に関しては、棚元憲一部長が平成12年7月11日より19日まで、ICH会議のためベルギーに出張し、三局の微

生物限度試験についての国際調和を行った。また棚元憲一部長と室井正志室長は平成12年8月23日よりパリの国際エンドトキシン学会に出席し研究成果の発表を行い、棚元部長は引き続き9月3日までドイツマックスプランク免疫生物学研究所においてシンポジストとしての講演及び研究打ち合わせを行った。

業務成績

1. 審査

合計9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(医薬局)、腸炎ビブリオの検査法の設定に関する研究(医薬局食品保険部)、調理施設と食品製造業における衛生管理に関する研究、農産物の微生物汚染実態に関する研究、九州・沖縄県サミット食品調理施設の衛生管理に関する研究(医薬局食品保険部)、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(医薬局審査管理課)、食品衛生調査会(医薬局食品保険部)、HACCP技術者講習(医薬局食品保険部)、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)に協力した。

研究業績

1. 内毒素に関する研究

(1) *Comamonas testosteroni*から分離精製し、構造決定したりピドAの構造活性相関研究を行い、このリピドAが大腸菌等のリピドAと同等の強力な内毒素作用を示すこと、さらに短鎖の脂肪酸及び2位に結合している3-ヒドロキシ脂肪酸の水酸基のアシル化はリピドAの低(無)毒性には関与しないことなど、構造活性相関上重要な事実を明らかにした。

(2) *Flavobacterium meningosepticum*から分離精製し、構造決定したりピドAは低毒性であるがLPS不応答性のC3H/HeJマウスのマクロファージを活性化することを見出した。*Porphyromonas gingivalis*のリピドAとの構造及び性状の類似性から、特異的な置換脂肪酸が、Toll-like receptor 2を介する活性化経路に関与している可能性を示唆した。

(3) マクロファージ細胞株P388D1において、LPSにより誘導されるTNF- α 遺伝子の発現はLPS前処理により脱感作が起きる。TNF- α 遺伝子の発現には転写因子NF- κ Bの活性化が必要だが、脱感作が起きている細胞では、NF- κ Bの活性化お

よびI κ B- α のリン酸化も見られず、脱感作にはNF- κ Bの非応答性が寄与することを示唆した。

2. 0157 等食中毒菌に関する研究

(1) ベロトキシン産生大腸菌O157:H7を21ヶ月間水中放置後培養したところ、毒素産生性、ヒトへの病原性は保持していたが、O抗原性を失っていた。飢餓状態で長期間食品中に存在した場合、O抗原による免疫手法ではベロトキシン産生大腸菌は検出できないことを意味している。

(2) 食品からの *Vibrio parahaemolyticus* 血清型 O3:K6 の検査法を検討した結果、アルカリペプトン水で前増菌 (35℃・18時間) 後、食塩ポリミキシンブイオンで選択増菌 (35℃・18時間) を 2 回繰り返して TCBS 平板培地で分離する方法が優れていることを見出した。

3. 化学物質による培養細胞形質転換に関する研究

(1) 抗酸化剤 2,5-di-tert-butyl-1,4-hydroquinone (DTBHQ) は BALB/3T3 細胞の形質転換を促進し、その作用が認められる濃度域で細胞内カルシウム濃度を上昇させた。類似物質 2-tert-butyl-1,4-hydroquinone は、それらの作用を示さないことから、細胞内カルシウム濃度上昇が DTBHQ による形質転換の促進に関与していることを示唆した。

(2) p-Nonylphenol (NP) は形質転換を顕著に促進するが、イニシエーション作用は認められず、プロモーターとして作用することを明らかにした。17- β estradiol が形質転換促進作用を示さないこと、BALB/3T3 細胞ではエストロゲン受容体が発現していないことから、エストロゲン受容体は、NP による形質転換促進には関与していないと考えられる。

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) 真菌による健康被害: 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) 真菌試験法の規格基準: 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: 生態研究として住環境にみる真菌の生態および細胞生理活性の研究を進めてきた。また真菌の保存 (登録 TSY) ・分譲を行ってきた。多くの研究生に対し真菌学の教育指導を行った。

化学物質情報部

部長 宮田直樹

概 要

全所的ネットワーク上で稼動している研究情報システムを更新し、外部に提供している情報をさらに充実した。化学物質の安全性評価に関する国際協力および、健康危機管理対

応事業を継続すると共に、化学物質プロファイル等の安全性情報の作成・提供システム構築を進めた。

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) と ISDN 回線を利用した全所のネットワーク環境整備を完了し、所内外の情報交換が盛んになった。各々が WWW を利用して情報発信する環境作りを支援し、ICH など厚生労働省からの依頼情報を含め提供内容が充実した。

2. 化学物質の安全性に関する国際協力

1) 国際簡潔評価文書 (CICAD) の作成

第 7 回及び第 8 回 CICAD 原案最終検討会議 (ヘルシンキ、2000 年 6 月; ジュネーブ、2001 年 1 月) に関沢室長が出席し、14 物質の CICAD 原案についてリスク評価と最終討議を行った。Diethyl phthalate について CICAD 原案を作成し IPCS に送付した。これまで出版された CICAD の和訳、及び CICAD の背景となる国際機関や各国の評価文書リストをデータベース化し当所ホームページに掲載した。

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 24 物質の ICSC 原案を作成した。2000 年 4 月 (ハンガリー)、2000 年 10 月 (スペイン)、2001 年 3 月 (ドイツ) の原案検討会議に山本主任研究官が出席した。また、1998 年以降 IPCS で新規に作成された約 350 物質の ICSC 日本語版作成に着手した。

3) 化学物質のリスク評価手法のハーモニゼーション

2000 年 5 月 (ベルリン)、化学物質のリスク評価における不確実性係数の適用手法の改善に関する IPCS 主催の国際ワークショップに企画側の一員として関沢室長が、大野薬理部長、長谷川総合評価室長とともに出席した。2001 年 4 月 (イスラ) には IPCS 主催の健康リスクと環境リスクの統合的な評価に関する国際ワークショップに、企画側の一員として関沢室長が安藤環境衛生化学部長とともに出席し、トリブチルスズ及びトリフェニルスズについての事例研究成果の紹介と統合的リスク評価の枠組みについての検討を行った。

4) GINC (Global Information Network on Chemicals) プロジェクトの推進

GINC ホームページの作成及び管理を継続すると共に、GINC ホームページ用の専用検索エンジンを開発し、実験を開始した。2000 年 8 月の IFCS アジア地域グループ会議 (ソウル) に山本主任研究官が出席し、IFCS Forum III に向けたアジア地域の活動の一環として GINC アジア・プロジェクトについて説明した。2000 年 10 月の IFCS Forum III (ブラジル、サルバドル) に神沼前部長他が出席し、アジアネットワーク・メンバーの協力を得て、GINC アジア・プロジェクト紹介の展示を行った。

3. 図書・情報サービス

1) 雑誌類の管理と相互貸借

雑誌 7 タイトルを中止、6 タイトルを新規に購入し、単

行本293冊を購入した。この結果、購入中の雑誌は313タイトル、管理している単行本は11,721冊となった。文献の相互貸借事業に関しては、外部から979件の依頼を受け、外部へ1,773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

当所の国立衛研報告書編集委員会に協力し、第118号の作成と配布に協力した。

研究業績

1. 創薬と安全性研究を支援する基盤コンピュータシステムの研究

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。また日本薬局方及び日本医薬品一般名称のデータベース化を行った。

2. 新しい分子計算法の開発

生体高分子のような巨大分子系を計算できるフラグメント分子軌道法(ab initio FMO法)のプログラムを開発し、エストロゲン受容体などのタンパク質について計算を行った。

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

1) 「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」において胎児ばく露文献を検討し、フタル酸エステル、ダイオキシン、植物ホルモン物質ほかについての健康影響リスクの評価における不確実性に関し研究と調査を行った。(厚科研)

2) 「環境中の複合化学物質による次世代影響リスクの評価」について専門分野を横断的に組織した国内の専門家グループとともに研究を進め、方法論の検討を行うとともにスクリーニング的リスク評価を行った。(環移替)

3) 「化学物質の毒性情報等提供システムの調査・検討」として、フッ化水素、クロロピクリン、ジクロロメタンについて化学物質プロファイルを作成した。(厚移替)

4) 「化学物質管理能力強化ネットワークのためのプロジェクトインベントリー」の構築を行った。(厚移替)

安全性生物試験研究センター

センター長 井上 達

平成12年5月以降の安全性生物試験研究センターにおける主な人事異動でまず特記すべき事は、黒川雄二センター

長の、平成13年3月31日付け勇退、(助)佐々木研究所所長への転出である。黒川センター長は、昭和53年1月に当研究所の前身・国立衛生試験所、安全性センター、病理部腫瘍病理室に室長として入所して以来23年2ヶ月在職、この間昭和62年毒性部長、平成7年センター長など歴任し国内の化学物質の安全性とリスクアセスメントに懸かる各省の種々の協議機関とともに、ICHや、WHO/IPCSなどの国際協議においても本邦の代表的として、それぞれに指導的な役割を果たしてきた。黒川センター長の業績は、厚生労働省関連の本務にとどまらず、日本トキシコロジー学会の理事長としてその発展に貢献するなど多岐にわたっているが、その概略については国際誌における功績評価記事を参照されたい(Int'l J of Toxicol 20(3):111, 2001)。退職者としてはこの他、平成12年10月に、三森国敏病理部第3室長が東京農工大学教授として転出したほか、平成13年3月31日付けで、病理部の安原加壽雄主任研究官も退職した。一方採用者としては、平成12年7月、薬理部主任研究官として石田誠一博士、毒性部技官として相崎健一博士が採用となり、また、平成13年4月1日付けで、病理部第三室長に今井俊夫博士、毒性部主任研究官に五十嵐勝秀博士、病理部技官に有村卓朗博士の各氏が採用となった。

従って平成12年5月末現在、安全性生物試験研究センターは、4部1省令室16室よりなり、構成人員はセンター長(欠員)、部長4、省令室長1、室長16、主任研究官23、研究員9、動物飼育長1で総計54名(前々年度より2名減)であり、この他に技術・事務補助員14名、客員研究員7名、協力研究員1名、流動研究員9名、研究・実習生13名等が在籍している。今後の問題として、特に毒性部動物管理室の省令室化、総合評価研究室の増員が上げられている。

海外出張として厚生労働省・文部科学省関連予算などにより行政関連会議(ICH, OECD, JECFA, IPCS等)及び各種専門学会等に派遣された。

黒川センター長(当時)の海外出張は、①中国医薬品安全性評価管理センタープロジェクト実施協議調査にて5月28日-6月3日、および同、技術協力計画にて10月13日-10月14日、それぞれ北京市へ、②第2回アジア・トキシコロジー学会への出席(8月23日-26日)と、第1回韓国食品医薬品安全庁毒性研究所及び国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センターとの合同シンポジウム(10月20日-21日)のため、それぞれ韓国へ、③WHO/IPCSの第5回化学物質曝露における危害度評価のアプローチ統一化に関する運営委員会のため、米国へそれぞれ出張した。第1回韓国食品医薬品安全庁毒性研究所及び国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センターとの合同シンポジウム(10月20日-21日)には、安全性生物試験研究センターの各部(室)長はじめ金子動物管理室長、菅野純毒性部室長、ならびに、江馬真大阪支所生物試験室長が同行した。尚、この会議の継続のため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を申請していたが実現しなかった。また、中国における国家新薬安全性評価検測センタープロジェクトは、引き続き、毒性部、病理部、変異遺伝部などのスタッフの、専門分野における教育のための派遣が計画されている。

新医薬品申請資料の審査は、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引き続き討議が行われている。現在審査は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、発がん性（S1B）、遺伝毒性（S2B）、安全性・一般薬理試験（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分野についてのガイドライン作成等専門家会合を開催・討論を行ってきたが、研究の最終年度を修了し、次年度から新たな班研究が発足する運びとなっている。

毒性関連のOECDテストガイドラインについてのコメント対応は、昨年来、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の9名、外部からの7名の専門家が担当することとして進めている。

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確保であり、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が、今般、cDNAマイクロアレイを応用したトキシコゲノミクスを取り入れてゆくことについての検討が始まったことは新世紀のはじめの出来事として特記しておきたい。

毒 性 部

部 長 井 上 達

概 要

10月1日にて相賀裕美子第4室長が国立遺伝学研究所の教授に就任した。相賀教授は引き続き平成13年3月31日まで併任、4月1日以降は客員研究官として当部の分子発生学研究面の指導を担当している。同じく10月1日付けで東京医科歯科大学疾患遺伝子実験センターより相崎健一博士を厚生技官として採用した。この他、平成12年度内では、11月22日より中国薬品生物製品検定所のHou Yan（霍艶）修士及びLi Bao Wen（李保文）学士が1年間の予定で研修を開始した。また、平成10年10月よりソウル大学から博士研究員として来所し、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並びにベンゼンの吸入

暴露研究に従事してきたByoung-Il Yoon博士は、12月18日、ヴァージニア大学（米国ヴァージニア州リッチモンド）へ転出、更に前年4月1日より大阪府母子保健センターから研究生として分子発生研究に加わっていた津田雅之博士は3月1日付けで国立遺伝研へ転出した。短期研修では、農水省農薬検査所の平山利隆技官が10月17日より12月16日まで研修し原籍へ帰任した。平成13年度に入り、4月1日付けにて児玉幸夫機器試験室長は相賀室長の後任として第4室長へ異動し、また平林容子主任研究官が機器試験室長へ、北嶋聡厚生技官が主任研究官へとそれぞれ昇任した。更に同日付けにて、医薬品機構派遣研究員として研究に参加してきた五十嵐勝秀博士が主任研究官として採用された。尚、非常勤もしくは賃金職員として木曾、池野、上原、近藤、安東らの技術吏員及び、仕田原、三井、桜井の事務吏員があらたに業務に参加し、木曾、村井の各員が退職した。

試験・調査・研究などの業務関連での海外出張では、井上達部長は、OECD/EDTA並びにWHO/IPCSの内分泌障害性化学物質に関する専門家会議（5月15日～19日、3月29日、パリ；9月16日～22日、ロンドン）、また第29回国際実験血液学会議（7月7日～13日、フロリダ州タンパ）、第2回アジア毒性学会議（8月23日～26日、済州島・韓国；菅野、金子両室長及び平林主任研究官も同行）、米国環境防護庁主催の内分泌攪乱化学物質の低用量問題討議会（10月7日～15日、ノースカロライナ州）、第1回韓国・日本毒性関連所轄研究所会議（10月21日～22日、ソウル；菅野室長と同行）、韓国内分泌学会シンポジウムでの講演（11月23日～25日）、及びフランス原子力エネルギー公社との研究交流（3月28日～31日、パリ）にてそれぞれ出張した。菅野純第1室長は、食品や水中の内分泌障害性化学物質のヒトへの健康影響に関する国際ワークショップ（5月27日～31日、コペンハーゲン）、米国環境防護庁によるスクリーニング試験（内分泌攪乱物質の優先順位の検討）にかかわる研究集会に出席、本邦の研究成果を発表（6月4日～9日）、内分泌攪乱物質に関するゴードン会議並びにバテル研究所における共同研究打ち合わせ（6月18日～26日、米国）、ダイオキシン2000国際会議（8月13日～19日、カリフォルニア州モントレイ）、前述アジア毒性学会議、米国環境防護庁主催の内分泌攪乱化学物質の低用量問題討議会での査読者としての討論と国立環境衛生研究所訪問（10月9日～15日、ノースカロライナ州）、第11回国際内分泌学会（10月28日～11月3日、豪州；小野厚生技官同行）、米国立バテル研究所との共同研究打ち合わせ（2月7日～13日、ワシントン州リッチランド；小野技官同行）、及び内分泌攪乱化学物質に関する専門家会議での討議（3月25日～28日、5月27日～31日）のためそれぞれ出張した。金子豊蔵動物管理室長は、上述のダイオキシン2000会議並びに韓日毒性所轄研究所会議に出席したほか、3月1日～20日の期間、JICAの中国・医薬品安全性評価管理センタープロ

プロジェクトである実験動物棟建設にあたっての援助のためそれぞれ出張した。関田清司第2室長は、斎藤実主任研究官と共に第40回米国毒性学会年会(3月25日～31日, サンフランシスコ)に出席した。相賀第4室長は、高橋雄主任研究官並びに北嶋厚生技官を伴ってコールドスプリングハーバー研究所におけるマウス分子遺伝学会議及び国際体節シンポジウム(8月28日～9月7日, 米国)に出席した。更にこの関連では、高橋は体節形成シンポジウム(10月22日～26日, フランス), 北嶋は同じくコールドスプリングハーバー研究所における生殖細胞学会(10月4日～9日, 米国)に参加してそれぞれ発表した。松島裕子主任研究官は、米国生理学会の実験生物学2001(3月30日～4月6日, フロリダ州オーランド)に出席し、平林主任研究官と相崎厚生技官は、米国血液学会第42回大会(12月1日～6日, 米国)にて発表を行った。更に平林は上記アジア毒性学会議、並びに国際血液学会第28回大会(8月26日～9月1日, トロント市, カナダ), キーストンシンポジウム「多能性幹細胞」(2月6日～12日, 米国)などで研究成績を発表した。小野敦厚生技官は上述の国際内分泌学会及びバテル研究所訪問の他、スウェーデンのピアコア研究所を訪問し共同研究を行った(12月3日～10日)。

試験業務

1. 既存化学物質(希土類元素など)の毒性試験

1) 希土類元素(Y, La, Eu, Gd)単回及び28日間投与試験を行った。その際血清、臓器内の希土類元素を測定した結果、生体内必須元素に変化が認められたので、生体内必須元素の正常値を求めた。

2) マラカイトグリーンについてラットによる28日間強制投与試験を行った。

3) 酸化的障害物質(パラコート)のマウスを用いた単回投与試験を行っている(科学技術振興調整費 知的基盤整備推進制度)。

2. 家庭用品としての化学物質の毒性試験

防腐防カビ剤(塗料, 接着剤)として使用されている10, 10'-Oxy-bis(phenoxyarsine)のラットによる急性経口毒性試験及び28日間反復投与毒性試験を実施した(厚生労働省生活衛生局生活化学安全対策室)。

3. 食品及び食品添加物の毒性試験

健康食品の安全性に関して、プロポリス, ガルシニアエキス, セイヨウオトギリソウについて、ラットによる12ヶ月間の慢性毒性試験を行っている(食品保健部新開発食品保健対策室)。また、食品添加物として、ベニバナ赤色素について、ラットによる90日間反復投与毒性試験を実施した(食品保健部)。

4. 医薬品及び医用材料の安全性に関する試験

1) 毒・劇物指定調査のための毒性試験

リン酸水素ジイソオクチル及び六塩化タングステンの経口・経皮急性毒性試験及び皮膚刺激性試験を行なっている

(医薬局安全対策課)。

調査業務

1. 化学物質及び食品など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調査とリスク情報の調査を行った。ほとんどの樹脂添加剤は急性毒性が弱く、早急に対応を迫られるような物質は認められないが、一部に発癌性が疑われるあるいはプロモーション活性の強い物質もあり、食品への溶出量を考慮しつつリスク削減をはかるべきと結論した(食品保健部)。

2) フタル酸エステル類の評価

食品用器具・容器包装などの素材となる塩化ビニル樹脂の可塑剤として使用されるフタル酸エステル類とくにDEHPに関する毒性評価を行った。齧歯類で共通して肝臓・精巣への影響が観察されるがカニクイザル等の霊長類で影響が見られないこと、肝への影響ではDEHPが齧歯類でペルオキシゾーム増殖作用を介する肝腫瘍発生が見られるのに対して、ヒト培養肝細胞や霊長類の肝でペルオキシゾーム増殖が見られないこと、精巣毒性では、マウスでの有害影響(胚致死, 胎児の形態異常など)、ラットでの病理組織学的異常が見出された(食品保健部)。

3) 放射線照射食品の安全性評価

当該食品の安全性評価のための指標について検討した。照射食品では、放射化残留線量と放射線分解物の影響が検討対象としてあげられ、前者では問題になる線量に至らないという認識、後者では放射線分解物が、①食品の特定成分を欠失(もしくは欠乏)させる場合と、②何らかの生体障害性変性産物を生ずる場合とを取り上げた。①ではビタミン類の破壊, アミノ酸の分解, また②では過酸化物・ラジカルの生成などが変異原性・発がん性を示す可能性が検討の対象となることを整理した(食品保健部)。

4) 健康食品「アガリクス茸」に関する安全性の観点から、アガリクス属キノコに関する毒性関連の文献を調査した。現在商品販売されている「アガリクス茸」に関する毒性情報はなかった。

5) 内分泌関係

化学物質の内分泌かく乱作用を評価するための毒性試験法は未だ確立されておらず現在、OECDなどの国際機関との連携を取りつつ、あるいは、リードカントリー・リードラボラトリーとして、EDCsスクリーニング法の開発・評価プロジェクトの展開に参加してきている。High Throughput Prescreening (HTPS), げっ歯類子宮増殖試験, Hershberger試験等の高次Screening試験などを含む諸試験を米国EPAや他の研究機関と協力体制のもとに、化学物質の内分泌かく乱メカニズムに着眼したスクリーニング手法の開発を推し進めている。

内分泌かく乱作用は受容体原生毒性をその特徴とし、一般的に従来の毒性学の用量反応パターンが当てはまらないも

のであり、この特性において低用量問題は内分泌かく乱作用解明の核心問題である。当研究所は、これに関する研究を進める傍ら、菅野は米国NIEHS主催のLow Dose Peer Review. 2000. 10にReviewerとして招待され、低用量問題に対する科学的進言を行った。

研究業務

1. 毒性試験法の開発に関する実験的研究

1) 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細胞を用いて、HLA遺伝子座導入トランスジェニックマウスを作製し、免疫応答性に関する基礎的検討を行った（医薬品機構基礎研究）。

2) 複合的に作用する毒物活性の評価系開発

複数の毒物が同時に作用する環境における毒性評価法の開発を検討する。平成12年度は酸化ストレス反応に関わる毒物として、シアン化ナトリウム（ミトコンドリア障害）、パラコート（活性酸素誘発）及び2-デオキシグルコース（解糖系障害）の3剤を組み合わせin vitroにおける毒性のメカニズム面からの評価を進めている。

3) ポストゲノム毒性学的手法による研究・検査法の検討

日本におけるポストゲノム毒性学のセンター的役割を担うべく、基礎的研究から応用研究開発まで幅広い活動を行っている。

既に内分泌シグナルや発生・分化、発がんにおける遺伝子発現プロファイルを得、新たに見出された関連遺伝子情報などを元に基礎的研究を行なっている。また並行して行なっている既知毒物における情報を統合し知識データベースを構築し、今後問題になりうる未知の新規毒物に充分対応できる様な全ゲノムを網羅したマイクロアレイを志向した毒物検査解析システムの開発を検討している。

2. 発がん性研究や幹細胞系を含む分裂細胞系関連の研究

1) 化学物質や放射線による細胞障害機構、とくにテロメア及びテロメアーゼの変化に関する研究（科技厅国研原子力）

細胞寿命や発がんに関与す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、実験動物及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と障害発現機序との関連について解析をすすめている。

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（特研・遺伝子発現班）

BUUV法について、「プロモデオキシユリジン取込細胞の選択的紫外線死滅による造血幹細胞動態解析法」として特許を出願（平成12年5月10日出願、日本出願番号：特願2000-137276）した。

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、遺伝子改変動物の病態生理面での特徴を明らかにし、それら遺伝子改変動物を用いた発がん性試験を行い、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、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)マウスにウレタン, 4NQO, DENを単回腹腔内投与し、その後プトルハイドロキシトルエン (BHT)を投与すると、6あるいは9週間で腫瘍の発現が観察された。以上より、本実験系は肺発がん物質早期検出に有用である可能性が示された。

(2) genotoxic initiatorやtumor promoterに対する反応性：p53欠失C3H/Heマウスを用いたベンゼン吸入暴露による白血病誘発実験を開始し、経過を観察中である。

(3) 発がん特性研究：引き続き、ベンゼンの白血病原性の背景研究として、特異な細胞周期の制御に対する抑制作用について、ワイルドとp53ホモ欠失マウスとで造血幹細胞動態解析法(BUUV法)を用いて検討し、ベンゼン暴露を中止することで培養性造血前駆細胞(CFU-GM)の細胞周期が急速に亢進することを示し、週末にベンゼン暴露を休止することによる造血細胞の回復性増殖が、恒常性維持機構による抑制とのせめぎ合いの中でoscillateする様子を明らかとした。尚、予想通りp53ホモ欠失ではp21の発現上昇が見られず、CFU-GMでの細胞回転抑制がかからないことも明らかとなった。

(4) 発がん試験法の開発：骨髄移植系を用いた促進モデルマウスの発がん特性の研究を、そのゲノム不安定性の有無を中心に進めている。

4) 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(学振科研補助 基盤研究C)

アリールヒドロカーボン受容体(AhR)を介するシグナルが、造血並びに造血前駆細胞に与える影響について、ダイオキ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で観察される血球並びに前駆細胞の減少がAhRホモ欠失では見られなかった。更に、ベンゼンの代謝産物による反応性を観察し、AhR欠失マウスでも野生型と同様、血球細胞やCFU-GMの減少を認めた。

5) 発がんプロモーター作用の研究：特に細胞間連絡(GJIC)及びアポトーシス阻害の意義と相互関連(学振科研補助 基盤研究B)

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、ミシガン州立大学のJ. Trosko博士、ソウル国立大学のKS. Kang博士との国際交流の一環として研究を進めている。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遺伝子欠失マウスを用いて個体レベルでの相互関係

を検討する目的でメチルニトロソウレア (MNU) による発がん実験を行い、Cx32の機能不全が発がん誘発に関わることを示唆する結果を得た。

6) 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 (食品保健部)。

3. 生殖・発生障害に関する基礎的研究

1) 中胚葉の組織化と分節構造形成の分子機構に関する研究

初期中胚葉に発現するMesp1の心臓・血管形成における機能と細胞系譜の解析を行った。また体節形成に必須の転写因子Mesp2の役割について、他の遺伝子との相互作用の発生遺伝学的解析、相同遺伝子ノックインによる機能解析、サブトラクション法による下流遺伝子の探索等の研究を行った。

2) 生殖細胞の発生と分化に関する基礎的研究：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。

3) 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、及び精子形成過程の中で、主としてround spermatid細胞と反応するモノクローナル抗体(6F抗体)を得た。

4. 恒常性維持機構に関わる内分泌系・免疫系・神経系に関する研究

1) 薬物乱用と薬物依存性の強化効果の修飾並びに薬物依存性評価法に関する基礎的研究

引続き、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た(医薬安全局麻薬課)。

2) 内分泌障害性化学物質の作用機序と検出系の確立に関する研究

生殖をはじめとする内分泌器官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(厚生科研生活安全総合研究事業、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)。

(1) OECD/EDTAの押し進める子宮肥大試験及びHershberger試験法の適用に関する研究：プレバリデーション第2ステップとして、比較的弱いエストロゲン作用を有する各種化学物質においても試験研究施設間で同等な結果が得られるかを検討した。Methoxychlor, Bisphenol A, Genistein, o,p-DDT, 及びNonylphenolの5種類の化合物について統一プロトコール統一用量での試行実験を施行。本

研究では、その際のプロトコール改訂及び用量設定に必要な基礎データの作出実験などに貢献した。

(2) 引続き、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。

(3) 内分泌かく乱化学物質の神経系分化に対する影響を検討する目的で、神経系発達の初期における内分泌攪乱物質の影響を検索すべく、マウス胎児より神経細胞を分離・初代培養して得られるニューロスフィア培養系による解析を進めている。

3) 神経管閉鎖における性ホルモンとp53のシグナルクロストーク

p53欠失マウスの系に於いてエストラジオールがこの外脳症発生を亢進することを見出した。この系をモデルに用い、発生初期中枢神経系における性ホルモンの作用点を検索し、性ホルモンと発生調節機構との新たな生理的相互作用を検討している。

4) 表面プラズモン共鳴高速分析法

化学物質の生体への影響をスクリーニングする方法の一つとして、ホルモンレセプターの作用機構に焦点をあてた定量的測定系の構築を目指している。表面プラズモン共鳴高速分析法を用いて迅速かつ定量的に核内レセプターの結合を測定するハイ・スループットスクリーニング法の開発研究を行った。

5) 3D-QSAR

内分泌かく乱化学物質の標的であるエストロゲン受容体とリガンド候補化合物の立体構造解析に基づく結合自由エネルギー計算により、コンピューターを用いた理論的な解析と検索を行う。今年度は5万余種の化学物質が登録されているデータベースのバーチャルスクリーニングのほか、フラボン類に焦点を当てた予測計算と他の方法による計測値の比較検討を行い、また、そのいくつかについては入手して結合活性確認を行った。

6) 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。

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、医薬品等の中核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, 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, および薬剤反応性遺伝子の多型解析に関する研究を行った。調査に関する業務としては, ダイオキシン類およびフタル酸エステル類の体内動態についての調査研究, 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, 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した。

人事面では井上第一室長が平成12年4月1日より九州大学大学院薬学研究院の教授に併任となった。また, 石田誠一博士が同5月1日づけで主任研究官として採用され, 薬理部第3室に配属され, 薬物代謝酵素の遺伝的変異についての研究を開始した。別井弘始技官が5月1日より翌年1月5日までの間薬理部に併任となり, 糖尿病治療薬の定量法について検討した。科学技術特別研究員の津田誠博士は一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。村山典恵博士は昨年度に引き続き医薬品機構派遣研究員として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。

平成12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の多型の解析研究を行い, 平成13年3月19日に帰国した。

国際会議のための短期海外出張としては, 大野部長が, サンフランシスコで開催された国際薬学会(4月16-20日)のオーガナイザーとして参画し, ICHおよび薬事行政に関するセッションの座長を勤めた。ベルリンで開催されたIPCSの不確実性とバラツキについてのワークショップに出席し, データに基づく不確実係数の設定について議論した(5月9-11日)。ICHの会議に出席するためにブリュッセル(7月17-21日)およびサンジエゴ(11月8-12日)に出張し, 適切に設定された2週間の反復投与毒性試験により雄生殖臓器への毒性的影響を検出できるとのバリデーション結果を示すと同時に, 生殖毒性に関するガイドライン(S5B)および非臨床試験の実施タイミングに関するICHガイドライン(M3)の修正を提案し, 三極の合意を得た。インディアナポリスで開催された第10回北アメリカ国際薬物動態学会(10月24-27日)に出席し, GLP下での薬物動態試験の必要性および医薬品機構でおこなわれることとなった信頼性調査について講演した。日独環境保護協定に基づく「ダイオキシン問題に関する専門家会合(9月18-19日)」に参画するためにベルリンに出席し, 我が国におけるダイオキシン類のTDI設定の根拠となった毒性試験データおよびトキシコキネティクスの解析結果, およびリスクアセスメントにおける考え方を示すと同時に, ドイツにおけるダイオキシン対策に

関する情報を得た。韓国ソウル市の韓国食品医薬品安全庁国立毒性研究所で開催された第1回韓国食品医薬品安全庁国立毒性研究所及び国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センターとのシンポジウムのために韓国に出張し, 内分泌攪乱化学物質の神経毒性およびダイオキシンのTDI決定の根拠について講演した(10月20-21日)。なお, 11月13日から15日までバーゼルで開催されたEUCPEPの薬物相互作用に関するシンポジウムについては, 当初出席し薬物相互作用試験の品質保証について講演する予定であったが, 上記ICH会議と重なったことから, 講演原稿とスライドを送付し, 代読してもらった。

井上第一室長はスペインのマドリッドで開催された学会「Purines 2000(生化学, 薬理学および臨床的展望)」(7月9-13日)に組織委員として参画するとともに, 「ラット海馬におけるATPの抑制作用」および「ミクログリアにおけるATP誘発プラスミノーゲンおよびサイトカイン遊離における独立したシグナル伝達機構」について招待講演をおこなった。中澤第二室長も上記学会に出席し, 「 P_2X_2 受容体のアミノ酸置換によるカルシウム透過性変動」について講演した。また, 小泉主任研究官および佐藤技官はニューオーリンズで開催された第30回北米神経科学会(11月4-9日)に参加し, それぞれ「神経系細胞の小胞体内 Ca^{2+} レベルによるリアノジン受容体開閉制御機構の解明」及び「培養海馬切片の神経細胞生存に対するエストロゲンおよび類縁物質の作用」について発表した。

研究業績

1. 有効性安全性評価のための科学技術開発に関する研究

遺伝子発現を指標とする化学物質の安全性評価法に関する研究においては, ラット胚タンパクの二次元電気泳動による分析法を検討し, 胚の処理法の改良が必要であることが明らかになった(厚特研)。

In Vitro試験法を用いた安全性評価法およびその国際的ハーモナイゼーション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ての国際的状況について調査した。また, 光毒性試験および経皮吸収性試験についてのOECDガイドライン案を実験的に検討し, 修正案を作成し, OECDに送付した。また, 「化粧品安全性評価指針」を刊行した(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, 反復投与毒性試験で雄生殖臓器への毒性を検出するための試験として2週間試験の妥当性がバリデーションにより示されたことから, これを28報の論文にまとめるとともに, この結果にもとづいてICH-S5bおよびM3のガイドラインの修正作業を行い, 最終的にICH-5にサンジエゴ会議において修正が認められた(厚科研)。

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, イギリスの研究倫理委員会について調査し, National

Health Service (NHS) の NHS 管轄区域毎におかれた地域研究倫理委員会 (LREC) と多地域にわたる研究を審査する多地域研究倫理委員会 (MREC) があること、また、それらを統括するために 2000 年に新たに中央の組織 (COREC) が設置されたことが明らかになり、それらの役割等について報告した。実験的研究としては、非凍結ヒト肝細胞を用いた薬物代謝酵素誘導試験について、8 施設において施設間バリデーションを行い、CYP3A 誘導を、施設間での偏差はあるものの明確に検知できることを明らかにした (委 HS)。

内分泌攪乱物質のヒトへの影響を指向した試験系の開発研究においては、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、低濃度エストロゲン処置によりグルタミン酸誘発神経細胞障害の増悪が認められることを示した (厚科研)。

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、2 種のフッ化ピリミジン系抗癌剤の代謝特性の差異を明らかにした (委 HS)。

ヒト薬物代謝酵素系を用いた薬物の毒性試験系の開発研究においては、フェノール性水酸基を有する内分泌攪乱物質の解毒的代謝に対するフェノール硫酸転移酵素、およびグルクロン酸転移酵素の役割について検討した。また、ヒト肝薬物代謝酵素ではビスフェノール A のカテコール体の生成反応が非常に低いことを示した (厚科研)。

ダイオキ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においては、アミノ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 α 受容体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ところ、簡便性および再現性にすぐれたエストロゲン受容体と化学物質の結合を解析するための実験系を確立することが出来た (環公害)。

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においては、エストラジオール又はノニルフェノールの投与により、ニワトリ胚においてピテログニン II mRNA の発現が誘導された。発現量は、被験物質及び投与量に依存していたが、胚の性別による差は認められなかった。エストロゲンにより制御される性分化関連分子の発現は、本来の発現時期以外においても、性別に関係なく、mRNA 発現のレベルで内分泌攪乱物質による影響を受けると考えられた (科振調)。

2. 医薬品等の中樞機能に及ぼす影響に関する薬理学的研究

中樞神経系における ATP 受容体の機能の解析と医療への応用においては、中樞神経系神経核において、細胞外 ATP はシナプス前構造の興奮を介さず、受容体チャネルからの直接的カルシウム流入によって興奮性シナプス伝達を引き起こすことが明らかになった (委 HS)。

グリア・ニューロン・ネットワークでの ATP の機能に関する研究では、ミクログリアは ATP 刺激により活性化され、神経機能保護作用を持つサイトカインの IL-6 を放出する事が

明らかになった (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、ホルマリント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、末梢ではイオンチャネル型 ATP 受容体 P_2X_3 が痛み発生に係わることが明らかになった。ヒト難治性疼痛に似た症状が $P_2X_{2/3}$ ヘテロ受容体の刺激により生じることが分かった (文科研)。

4. 医薬品等のトキシコキネティクスに関する研究

環境汚染化学物質の安全性評価における代謝の役割に関する研究においては、ビスフェノール A (BPA) の代謝活性をラット、サル及びヒトの凍結融解肝細胞の浮遊培養法で検討したところ、いずれも主代謝物はグルクロニドであることが示唆された (試一般)。

食品添加物の安全性評価における代謝の役割に関する研究においては、食品添加物であるジフェニールおよびその代謝物が CYP4A を誘導することを示した (試一般)。

残留農薬の相乗毒性に関する薬物動態学的研究においては、メルカプトベンズイミダゾールの *in vitro* 代謝をラット及びヒト肝ミクロソームを用いて検討した結果、フラビン含有モノオキシゲナーゼ (FMO) により代謝されることが示唆された (厚科研)。

5. 医薬品等の細胞機能に及ぼす影響に関する薬理学的研究

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、多型性ヒト硫酸転移酵素の大腸菌内発現系を用い、日本人・欧米人に存在する異型酵素と野生型酵素間でタバコの煙に含まれる癌原物質の代謝活性化能に有意な差異がないことを示した (厚癌研)。

植物エストロゲン及び代謝物の細胞機能に及ぼす影響に関する研究においては、フェノール性水酸基の硫酸抱合反応により、内分泌攪乱物質 BPA のエストロゲン様作用は約 1/100-1/1000 に減弱することをエストロゲン応答遺伝子 pS2 の発現誘導阻害及び、乳癌由来の MCF-7 細胞の増殖誘導阻害作用を指標として明確にした (文科研)。

6. 薬剤反応性遺伝子の多型解析に関する研究

薬剤反応性遺伝子多型の解析においては、抗癌剤及び循環器病薬等に関する薬剤反応性遺伝子解析系を樹立培養細胞を用いて確立した。

多型性薬物代謝酵素の多型解析においては、抗癌フッ化ピリミジンプロドラッグの代謝活性化酵素の異種細胞内発現によりプロドラッグの抗腫瘍作用発現の測定が可能となる系を確立した。

7. 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案作成を完了し、母集団薬物動態試験の解説書とともに厚生労働省に提出した。また、ダイオキシン類およびフタル酸エステル類のリスクアセスメントの一環としてその薬物

動態について調査し、厚生労働省に退出した。日本公定書協会の武田寧博士を班長とする「鑑定分析の信頼性向上検討会」の提言作成に協力した。

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、三森国敏室長が平成12年10月1日付けで東京農工大学農学部教授に就任した。平成13年3月31日付けで非常勤職員小林恒雄が退職、平成13年4月1日付けで安原加壽雄主任研究官が退官した。平成13年4月1日付けで今井俊夫室長、有村卓朗研究員が着任した。また、賃金職員の仁保直子が平成13年3月31日付けで退職、平成13年4月1日付けで原綾乃、石垣見枝子、松永弥智代が、同年4月9日付けで深田美智子が採用された。また、孫和永が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ていたが、平成13年2月28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「残留農薬の合同会議」に出席し討議を行なった（平成12年9月19日～28日）。また、韓国・ソウルで開催された「第1回 国立医薬品食品衛生研究所と韓国国立衛生研究所の合同シンポジウム」に出席し、討議を行なった（平成12年10月20日～21日）。西川秋佳第一室長は、スイス・ジュネーブで開催された「第55回FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会（JECFA）」に出席し、討議を行った（平成12年6月5日～15日）。また、フィンランド・ヘルシンキで開催された「第7回国際簡潔評価文書（CICAD）最終検討会議」に出席し、討議を行った（平成12年6月26日～6月29日）。三森国敏第三室長はフランス・パリで開催された「第12回OECDナショナル・コーディネーター会議」に出席し、討議を行った（平成12年5月16日～5月21日）。国外の学会出張としては、広瀬雅雄部長は韓国・済州島で開催された第2回アジアトキシコロジー学会に出席し、発表および討議を行なった（平成12年8月23日～25日）。西川秋佳室長が米国ニューオーリンズで開催された第92回米国癌学会に出席し、発表および討議を行った（平成13年3月24日～28日）。渋谷淳室長、今沢孝喜主任研究官、畝山智香子主任研究官、孫和永が米国サンフランシスコで開催された第40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13年3月25日～3月31日）。

研究業績

1. 神経毒性の改善に関する研究

超微形態学的に、グルタミン酸はピンクリスチンの末梢経毒性を軽減させることが明らかとなった。

2. カドミウムの健康影響に関する研究（農林水産省委託研究費、環境省委託研究費）

塩化カドミウムの長期間低濃度暴露による腎障害発現の閾値について文献を収集し、ラットでの腎障害閾値はヒトよりも高いことを明らかにした。

3. 生薬成分の副作用に関する研究（厚生科学研究費補助金）

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終了し、モノクロタリン投与開始時から小柴胡湯を計11週間投与した動物で、病理組織学的な肺傷害の程度が増強した。各種サイトカインの発現状況を検索した結果、強度の肺傷害例で発現増強を示すサイトカインを認めたものの、小柴胡湯による発現修飾作用は認められなかった。

4. 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）

ダイオキシン類の発がん性に関する文献収集を行い、その発がん影響の可能性を調査・検討し、ダイオキシン類は非遺伝子傷害性機序により各種臓器に発癌性を示す化学物質であることを確認し、それらの最小発癌用量を中心に文献調査を進めた。

5. 食品添加物の毒性並びに発癌性の研究（食品等試験検査費）

1) 12ヶ月間慢性毒性試験およびがん原性試験ではペクチン分解物、キシロースおよび塩化マグネシウムは病理組織学的検索を継続した。また、アカネ色素および硫酸アンモニウムは動物実験を継続した。

2) ラット甲状腺二段階発癌モデルを用いてコウジ酸のイニシエーション作用をさらに検討する実験を開始した。

3) ラット・90日間反復投与毒性試験ではシアナット色素およびルチンで明らかな毒性は認められなかった。また、トウガラシ色素、モリンおよびN-アセチルグルコサミンの試験を開始した。

4) 補骨脂抽出物の精巢毒性発現メカニズムを解析するため、ラットに補骨脂抽出物を単回ないし12週間投与する実験を行った結果、初期の標的はパキテン期精母細胞であり、血中テストステロン及びゴナドトロピンの持続的低下を伴う変化であることを明らかにした。

5) DHPN単回投与による血中TSHの変動と精巢毒性発現メカニズムを解析した結果、DHPNが精祖細胞を障害することが示された。

6. 動物用医薬品の残留防止対策に関する研究（食品等試験検査費）

1) DHPNを用いたラット二段階発癌実験を実施し、キシラジンの甲状腺腫瘍発現閾値を求めるための検討を行った結果、250ppmが閾値であることを明らかにした。

2) p53ノックアウトマウスを用いて、2,6-キシラジンについての発がん性の有無を検討する6ヵ月実験を行った結果、発癌性はみられなかった。

7. 食品中化学物質の相互作用等に関する調査研究(厚生科学研究補助金)

1) 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群ではラット前胃発癌が促進された。

2) 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、PhIPによる乳腺発癌が亜硝酸により抑制された。

3) 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。

4) 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した結果、顕著な影響はみられなかった。

5) MNNGでイニシエーション後、亜硝酸と種々の用量のアスコルビン酸投与により、肉眼的に用量相関的な前胃発癌プロモーション作用が認められた。

8. 内分泌かく乱物質の人体影響に関する調査研究(厚生科学研究補助金)

1) 卵巣摘出ラットにDHPNでイニシエーション処置後、サルファディメトキシシンとエストラジオールベンゾエート(EB)、ビスフェノールAないしメトキシクロールを20週間同時投与した結果、強いエストロゲン作用をもつEB以外には腫瘍の発生を増強する作用がないことを明らかになった。

2) Enhanced OECD テストガイドライン407の策定作業の過程で、内分泌影響を検出するための新規パラメーター候補である α 2u-グロブリンの肝・腎における発現解析を行う目的で、ラットを用いた低用量エストラジオールの経口投与実験とジェニスタインの28日間反復投与実験を行った。

9. 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(厚生科学研究補助金)

1) 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、脳の性分化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応答性遺伝子の発現変化が、性成熟後の内分泌関連器官の変化を予測できる指標となりうることを示された。関連技術として、パラフィン包埋切片の微量組織からRNA、蛋白質の定量解析及びDNAの変異解析が可能な組織固定法を確立した。

2) メトキシクロール、ジイソノニルフタレート、ビスフェノールA、ノニルフェノール、ジェニスタインの混餌投与

実験を終了し、in life parameter及び解剖所見から、メトキシクロールの高用量投与群のみで、性成熟後に明らかな内分泌影響が確認された。

10. 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(厚生科学研究補助金)

ヒトプロト型c-Ha-ras導入トランスジェニック(rasH2)マウス、p53ノックアウト(p53K0)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結果、rasH2とp53K0マウスが遺伝毒性発癌物質の検出に有用であった事を確認した。

11. 発癌メカニズム解明のための新手法に関する研究(文部科学省科学研究費)

ラット肝発癌モデルを用いて、フェノバルビタール投与により発現増加を示した遺伝子群をcDNA subtractionにより得、ノザン解析によるスクリーニングにより、プロモーション活性の短期検索指標として有効と考えられる12候補遺伝子を得た。

12. 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(厚生労働省がん助成金)

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えて、その発現特性から、ペルオキシゾーム増殖過程に関与するものの、その発癌過程には積極的に関与しない遺伝子産物である可能性が指摘された。

13. がんの化学予防効果の検索モデルの検討に関する研究(厚生労働省がん助成金)

膀胱予防物質検索のための中期モデルの検討を行い、12週間のモデルを開発し、その有用なマーカーを検討した結果、Cyclin D1が初期腫瘍性病変に陽性を示し、マーカーとしての可能性が示された。

14. in vivoでの突然変異と発がんの関連に関する研究(厚生労働省がん助成金)

gpt deltaマウスおよびラットを用いて、臭素酸カリウムの変異原性と発癌性を比較する実験を開始した。

15. 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)

gpt deltaマウスを用いて塩素処理水副生成物MXの変異原性および発癌性を検討した結果、明らかな影響は認められなかった。

16. 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。

17. 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) 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ジメチルアニリンを26週間混餌投与した実験を終了した結果、肺腫瘍修飾作用はないことが明らかとなった。

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週間混餌投与した結果、シンナムアルデヒドは雄rasH2マウスに対して発がん抑制作用を示すことを明らかにした。

3) 肺発癌物質であるNNKをrasH2マウスに投与後、肺発癌プロモーターであるグリセロールを26週間飲水投与し、肺腫瘍に対する修飾作用を病理組織学的に解析した結果、グリセロールによる発がん増強作用はみられなかった。

18. 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。

2) PhIP投与終了後からカカオポリフェノールを与えた結果、肉眼観察において、乳腺腫瘍発生の抑制傾向が認められた。

3) 多臓器発癌モデルにおいて、カカオポリフェノールの投与により実験期間中の死亡率が低下した。

19. 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 (科学技術振興調整費)

p53欠損CBAマウスの子宮発癌モデルでエストラジオール投与による発癌増強メカニズムを明確にするため、誘発された腫瘍でのエストロゲン受容体とエストロゲン応答性遺伝子の発現解析を行った結果、エストロゲン受容体 α のdown-regulationの起こることが明らかとなった。

20. 食品中内分泌かく乱物質等の発がん修飾作用に関する実験的研究 (厚生科学研究費助成金)

1) p53欠損CBAマウスの子宮腫瘍モデルを用い、内分泌攪乱作用のあるゲニステイン、ノニルフェノール及びアトラジンの子宮腫瘍に対する修飾作用を検討した結果、修飾作用のないことが明らかとなった。

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内膜肉腫が誘発されるか否かについて検討した結果、内膜腺上皮腺癌と卵巣嚢中皮腫が効率的に誘発された。

3) ラットDHPN甲状腺発癌モデルを用いて、大豆タンパクとヨード欠乏の複合的修飾作用を検討した結果、相乗的発癌促進作用が認められた。

4) 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した結果、顕著な影響は認められなかった。

5) 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した結果、弱いエストロゲン様作用をもつことが示唆された。

6) ラットDMBA乳腺発癌モデルを用いて、アトラジンの及ぼす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行った結果、そのような作用はみられなかった。

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した結果、発癌を増強する作用はみられなかった。

9) 雄p53欠損CBAマウスにジメチルニトロサミンでイニシエーション後ジエチルヘプチルフタレートと26週間混餌投与した結果、肝発癌修飾作用は見られなかった。

10) 雄p53欠損CBAマウスにエチルニトロソ尿素を一回投与して26週間後では、その標的性は雌p53欠損CBAマウスと同じであることが示された。

11) 雌rasH2マウスにエチルニトロソ尿素を一回投与後、グリセリンないしフェニールフタレンを26週間投与した結果、発癌感受性は増強されなかった。

12) 雌rasH2マウスにジメチルニトロサミンでイニシエーション後、フェノバルビタール、DEHPないしフルメキンを26週間投与した結果、肝発癌感受性は増強されなかった。

21. 食品による膀胱発癌に関する研究 (食品等試験検査費)

1) ベンジルイソチオシアネート (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した結果、イニシエーション作用を認めなかった。

2) 低用量の遺伝毒性膀胱発癌物質と種々の用量のBITCを同時投与することにより、肉眼的にBITCの用量に相関した膀胱腫瘍発生の抑制がみられた。

21. 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) 膀胱予防物質探索のための短期ハムスターBOPモデルの作成を検討した。

2) ラット胃発癌モデルを用いて、COX-2インヒビターの影響を検討する実験を開始した。

3) ハムスター膀胱発癌モデルを用いて、COX-2インヒビターの影響を検討した結果、膀胱癌を抑制した。

23. 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

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、および培養細胞研究資源の収集、保存、開発のシステム構築に関する研究を行った。国際協力事業として、国際協力事業団に協力し、マレーシアおよび中国への遺伝毒性試験に関する技術移転のプロジェクトに参画してきた。

昨年度発見された突然変異の誘発に関わる新しいDNAポリメラーゼ(UmuC/DinB/Rad30/Rev1)は、DNAポリメラーゼYファミリーと称されることとなり、平成13年3月にはこのDNAポリメラーゼを含むDNA損傷と修復、突然変異に関する国際ワークショップを開催した。また、新しい試みとして、DNAマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析技術が化学物質等の遺伝毒性評価においてどのような役割を果たせるかに関する検討を開始した。検討の一環として、行政機関や企業の研究者を集めた国際共同研究(International Life Science Institute 主催)に協力する基盤を固めた。

行政支援業務として薬事・食品衛生審議会臨時委員として、医薬品、食品関連物質、工業化学品等の生活関連物質の安全性を確保するための厚生行政に協力した。また、OECD毒性試験法ガイドラインの改訂に伴い、「新規化学物質にかかわる試験の方法について」(化審法ガイドライン)のうち、「げっ歯類を用いる小核試験」の改訂作業に着手した。

人事面では、平成12年4月1日より松井道子元主任研究官を引き続き客員研究官として迎え、これまでに行った食品添加物の再評価データの内、未発表のものをまとめて公表した。第一室においては平成13年1月1日より、科学技術振興事業団の特別研究員として王文晟氏を迎え、姉妹染色分体交換交換とゲノム安定性の解析に関する研究を開始した。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10月1日より第一室においてヒトゲノム遺伝子治療事業に従事していた田所聡氏は平成13年3月31日付で退所した。平成13年4月1日付でHS振興財団の研究支援者活用事業の一環として櫻庭真弓氏が第一室で培養細胞を用いる研究を行うために配属された。第二室では、HS振興財団の流動研究員として平成11年4月より金秀良氏が大腸菌*dinB*の遺伝学的研究に従事してきたが平成13年4月1日付でミレニアムプロジェクトに移籍となった。また、山田雅巳主任研究官が平成13年4月1日から厚生労働省大臣官房厚生科学課へ9ヶ月間の予定で出向した。第三室においては田辺秀之研究員が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的研究を行うため平成11年8月1日からドイツ・ミュンヘンのルードヴィッヒマキシミリアン大学で科学技術庁長期在外研究員として研究を行ってきたが、1年6ヶ月間の長期出張から帰国し、平成13年1月より第三室の業務に復帰した。また、4月1日からは細胞バンク事業に協力するため、高野寿子、北條麻紀両氏を非常勤職員として迎えた。

短期海外出張としては、林部長は平成12年4月5日から15日まで米国・ワシントンへ出張し、FDAを訪問し遺伝毒性試験法に関する国際ワークショップに関する講演を行い、その後ニューオーリンズで開催された米国環境変異原学会(4月9日から13日)に参加した。本間第一室長も平成12年4月7日から14日まで米国・ニューオーリンズへ出張し、米国環境変異原学会、およびその前に開催されたマウスリンフォーマ試験に関する国際ワークショップにに参加し、発表、意見交換を行った。

能美第二室長は平成12年4月6日から15日まで米国・ニューオーリンズに出張し、環境変異原学会において変異検出用トランスジェニックマウス*gpt delta*に関する招待講演を行った。

水澤第三室長と増井主任研究官は平成12年6月10日から6月16日まで米国・サンディエゴに出張し、米国・インビトロバイオロジー学会ならびに国際培養学会に出席し、ヒト細胞増殖抑制因子(Eti-1)に関する発表を行うと共に、細胞バンクワークショップに出席しヒト細胞の個別識別技術を導入して品質管理発展させている現状の報告を行った。

林部長は平成12年7月1日から7月6日まで英国・スワンシーへ出張し、英国環境変異原学会で開催されたシンポジウム「各国の遺伝毒性ガイドラインと戦略」において日本の現状を化審法ガイドラインを中心に講演した。

本間第一室長は日中医学協会の支援を受け、平成12年7月7日より7月20日まで中国・四川省の華西医科大学を訪問し、遺伝子突然変異試験の技術指導、および講義を行った。

松岡主任研究官と鈴木主任研究官は平成12年8月20日から8月28日まで、ハンガリー・ブダペストに出張し、ヨーロッパ環境変異原学会に出席し、それぞれ染色体の異数性誘発機構に関する研究、トランスジェニックマウスを用いた突然変異誘発機構に関する研究について発表した。

能美第二室長は8月17日から9月2日まで、英国、フランス、スイスに出張し、英国では王立癌研究財団クレアホール研究所で大腸菌*dinB*遺伝子に関する講演を行うとともに、8月20日から26日までオックスフォードで開かれたゴードン研究会議に参加し発表を行った。

林部長は平成12年10月20日から10月21日まで韓国・ソウルに出張し、第一回韓国食品医薬品安全庁毒性研究所及び国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センターとのシンポジウムに出席し、国立医薬品食品衛生研究所・変異

遺伝部の紹介をすると共に、遺伝毒性分野の最近の動きについて意見交換を行った。

本間第一室長は平成12年10月12日より、10月19日まで中国・北京に出張し、国際協力事業団(JICA)が進める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の一環として、第1回遺伝毒性セミナーを組織、開催し、遺伝子突然変異に関する発表を行った。

本間第一室長は平成12年10月26日から11月2日までスイス・ジュネーブに出張し、がん研究におけるバイオテクノロジーのインパクトに関する国際会議に出席し、がん抑制遺伝子p53による遺伝的安定化機構について発表した。

林部長は平成12年2月2日から12月7日まで英国・ロンドンとオランダ・ライデンに出張し、英国では試験管内小核試験に関するワークショップで講演すると共に、オランダでは2001年10月に日本で開催される第5回国際染色体異常シンポジウムに関する打ち合わせを行った。

能美第二室長は平成12年12月14日から20日まで米国・ハワイへ出張し、パシフィック2000(環太平洋国際化学会議2000)においてトランスジェニックマウス変異原性試験に関する招待講演を行った。

林部長は平成13年2月11日から2月17日までマレーシア・シャーラムに出張し、JICAが進めるマレーシア化学物質リスク管理プロジェクトにおける遺伝毒性試験に関する技術移転の視察と短期指導を行うと共に、JICAとマレーシア側共同主催によるセミナーに参加して遺伝毒性試験での国際動向について講演を行った。

林部長、本間第一室長、鈴木主任研究官は平成13年3月5日から3月8日まで中国・北京に出張し、JICAが進める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第2回中日医薬品安全性評価学術シンポジウムに出席し、それぞれ「遺伝毒性試験に関する国際調和とガイドライン及びGLP」、「遺伝毒性試験におけるマウスリンフォーマ試験の有用性」および「*in vivo*での遺伝毒性試験：小核試験およびトランスジェニックマウスを用いた遺伝子突然変異試験の手法と適用」について講演を行った。

林部長、鈴木主任研究官および増村研究員は平成13年3月15日から3月23日まで米国・サンディエゴに出張し、米国環境変異原学会、トキシコジェノミックスに関する国際集會に出席し、林部長は本会議の前日まで行われたマウスリンフォーマTK試験に関する国際ワークショップにてデータの統計解析に関する討論に参加し、鈴木主任研究官はトキシコジェノミックスの集會に出席し共同研究に関する討議を行い、増村研究員は本会議において*gpt delta*トランスジェニックマウスに関する最新の知見を発表した。

能美第二室長は平成13年3月26日から31日まで、HS国際共同研究の一環として米国・ダーラムへ出張し、デューク大学ピーズ研究室を訪問し、大腸菌DinB蛋白質の結晶化に関する共同研究について討論を行った。

研究業績

1. 食品添加物の変異原性に関する研究

2種類天然添加物(ウルシロウ(ガムベース)およびオゾケライト(ガムベース))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。その結果、両化合物とも染色体異常を誘発しないことが明らかとなった(生活衛生局食品化学課)。

2. 化学物質の光毒性にかかわる評価方法に関する研究

紫外線特異的変異であるCCからTTへの変化を、マウス癌抑制遺伝子*p53*遺伝子を指標として検出するための変異アレル特異的PCR法の確立を行い、 10^{-6} レベルの検出感度を得ることができた。また、新しい試みとして、DNAマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析技術を用い、約1000個の遺伝子についてヒト培養細胞株TK6におけるリボフラビンの光毒性発現時に解析したところ、数種の遺伝子について2倍以上の発現変化が認められた(厚生科学研究費補助金生活総合研究事業)。

3. ダイオキシン類の変異原性に関する研究

平成9年度以降の文献調査を行った。遺伝毒性に関する新しい報告としては酸化ストレスを高めDNA単鎖切断の誘発、および薬物代謝酵素の誘導によりDNA附加体の生成を修飾するなど、一部二次的な作用を示すものがある。しかし、現状においても当時の結論である「ダイオキシン類には直接的な遺伝子傷害性はないものと考えられる」を覆すような情報は得られていない(厚生科学研究費補助金)。

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

*p53*ノックアウトマウスと交配した*gpt delta*トランスジェニックマウスを電離放射線処理し、得られた変異体について詳細な解析を行い、*p53*の影響には臓器特異性のある結果を示唆した(HS財団受託研究費)。

5. ほ乳類培養細胞を用いる変異原性試験の開発に関する研究

チャイニーズハムスター肺由来細胞株CHL/IUを用いる小核試験法バリデーションのための共同研究に参加し、標準的手法の有用性を確認した。また、これまでの共同研究の成果を論文として発表すると共に、平成12年12月に英国で開催された試験管内小核試験に関するワークショップで発表した(労働省化学物質情報課・JETOC)。

6. 培養細胞を用いる異数性検出系の開発

染色体の数的異常検出系としての、*in vitro*小核試験の有用性について確認のための試験を行い、分裂細胞の出現頻度、多核細胞の出現頻度等の増加が数的異常の出現と相関することを確認した。

7. *in vivo*での突然変異と発がんの関連に関する研究

*gpt delta*マウスを用いdimethylnitrosamine(DMN)による肝臓での変異誘発と発現時間との関連について検討し、DMNによる変異誘発には1週間以上の発現期間が必要であ

ることを明らかにした(厚生省がん研究助成金)。

8. 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

ヘテロサイクリックアミン関連物質(PhIP等)について *in vivo*での遺伝子突然変異誘発性を *gpt delta* トランスジェニックマウスを用いて検討した。その結果、PhIPは塩基置換型の変異が欠失型のものと比較して高頻度に観察された。また、塩基対欠失はG:C対が連続する箇所ですべてとして誘発された。これらの成果は平成13年3月に開催された米国の環境変異原学会において発表された(厚生省がん研究助成金)。

9. 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

DNAの初期損傷を検出する試験系である、単細胞ゲル電気泳動法の導入を行い、6種のジメチルアニリン(DMA)異性体の作用を検討した結果、肝臓、腎臓、肺、骨髄においてDNA損傷の誘発が観察され、その強度は臓器ごと、異性体間で差のあることが判明した。このうち2,5-, 2,6-, 3,5-DMAについてトランスジェニックマウスで検討を行ったところ、2,6-DMAの発がん標的臓器である鼻腔において2,5-および2,6-DMAは変異頻度を上昇させ、シークエンス解析の結果からATからGCへの変異とGCからTAへの変異が増加していることが明らかとなった(厚生省がん研究助成金)。

10. トランスジェニックマウスを用いる変異原性試験のバリデーションに関する研究

日本環境変異原学会MMS研究会の共同研究の一環として、当部で開発した *gpt delta* トランスジェニックマウスを用いる *in vivo*突然変異誘発系のバリデーション研究を行った。

11. 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

アリストロキア酸およびジベンゾ[*a, l*]ピレンの遺伝子傷害性について、トランスジェニックマウス(MutaTMMouse)を用いる *in vivo*突然変異試験にて検討し、臓器特異的な変異の誘発を検出した。誘発された突然変異の解析により、いずれもアデニンのアダクト由来と考えられる変異が特徴的に誘発されていることが明らかとなった(環境省国立機関公害防止等試験研究費)。

12. DNAマイクロアレイを用いた遺伝子発現変化を指標とした遺伝毒性の検索

ヒト培養細胞TK6およびその *p53* 変異体であるWTK-1株を用い、 γ 線を照射した際の遺伝子発現の変化を、オリゴヌクレオチドマイクロアレイを用いて約1000種類の遺伝子に対して解析を行い、放射線により誘発される遺伝子、およびそれに対する *p53* 遺伝子の影響に関して検討した。

13. 生殖細胞に対する遺伝毒性の評価法に関する研究

トランスジェニックマウスを用いた変異原性試験において、精巢の生殖細胞における変異誘発性を解析することによ

り、生殖細胞に対する遺伝毒性の評価を行った。被験物質として、既に体細胞臓器に対しては強い突然変異誘発性を持つことが知られているベンツピレンを用いて検討を行ったが、同様の処理条件では生殖細胞には突然変異は誘発されないことが明らかとなった。

14. 多臓器小核試験に関する研究

幼若ラットの肝臓を用いた小核に関する共同研究に参加し、本試験法の確立と普及をめざし、基礎的な検討を行った。被験物質として肝発がん物質であるジエチルニトロソアミンを用い、肝臓における小核の誘発を検討したところ、用量依存的な小核の誘発が確認できた。

15. Mutagenesis Proteinの構造と機能に関する研究

大腸菌DinB蛋白質の結晶化条件を検討すると共に、耐熱性古細菌のDinBホモログについて精製標品を得た(HS国際共同研究)。

16. *In vivo*での突然変異と発がんの関連に関する研究

ジメチルニトロソアミン投与Big Blue[®]マウスに発生した腫瘍における突然変異頻度を周囲の正常組織と比較した。その結果、腫瘍部における突然変異頻度はむしろ正常部位に比べて低く、がん細胞において突然変異が多発するという現象は見られなかった。MeIQx投与した *p53* ノックアウトBig Blue[®]マウスに発生した腫瘍を解析した場合にも、同様の結果が得られた。

17. 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における遺伝毒性の試験等に関するメンテナンスでは *in vitro*小核試験が検討課題の1つとなっている。本研究は、国際的な共同研究(SFTG)の一環として行われたものであり、*in vitro*小核試験が染色体の構造および数的異常を誘発する化学物質をかなり効率よく検出することが判明した。ただし、試験プロトコルを画一化するには至らなかった(厚生科学研究)。

18. ヒト肝細胞を用いた新しい遺伝毒性試験系の開発

*in vitro*の遺伝毒性試験では、代謝活性化を必要とする化学物質の評価に関しては、ラット肝S9等の添加を必要とすることが問題の一つである。薬物代謝薬物代謝酵素を高発現するヒト肝がん由来細胞株を用い、S9の添加を必要としない遺伝子突然変異検出系の確立を試みた(創薬等HS総合研究)。

19. 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

大腸菌DNAポリメラーゼIV(DinB)の活性は、DNAポリメラーゼIIIホロ酵素の連続的な複製を保証する β サブユニットの添加により著しく促進されることを明らかにした。また平成13年3月14日から16日まで「放射線障害の修復と可視化に関する国際ワークショップ」を開催した(原子力国立機関原子力試験研究費、文部科学省)。

20. 損傷DNAの複製に関する研究

大腸菌DNAポリメラーゼIV(DinB)は、DNAポリメラーゼ

II, DNAポリメラーゼVに比べ10倍以上発現量が高いことをウェスタン・ブロッティング法を用いて明らかにした(ヒューマン・フロンティア・サイエンス・プログラム(HFSP))。

21. 酸化的DNA損傷に対する防御機構の研究

ヒトhMYH1の酸化的DNA損傷に対する修復機構について検討し、この酵素が8-オキソグアニンと対合したアデニンの除去に関わることを明らかにした。

22. DNA修復異常遺伝病の分子機構の解明に関する研究

早期老化症であるウェルナー症候群、ブルーム症候群の病態解明のため、患者由来細胞、もしくは原因遺伝子をノックアウトした細胞を用い、DNAおよび染色体不安定性を検討した。両疾患とも強い染色体不安定が認められたが、その特徴は極めて異なることが示された(厚生科学研究補助金・ヒトゲノム再生医療等研究事業)。

23. プラスミドを用いた*in vitro*突然変異検出系を用いた変異誘発機構に関する研究

M13mp2一本鎖ファージを用い、*in vitro*で処理し、*lacZ* α 遺伝子に誘発された突然変異を大腸菌にて選択した。ENUによる変異体はGからAの変異の他に、CからTへの変異も多く見られた。これまでENUは主にGへの付加体によりGCからTAへのトランスポージョン型変異を誘発するとされていたが、Cの付加体も突然変異に関与することが示唆された。

24. ほ乳類細胞におけるDNA2本鎖切断修復に関する研究

哺乳類細胞におけるDNAの2本鎖切断は、一般にend-rejoiningによって修復されると考えられてきたが、ヒトリンパ球細胞株を用いた遺伝子突然変異の研究から、組換え修復も起きており、その制御にはがん抑制遺伝子であるp53が重要な役割をしていることが示された。

25. トランスジェニックマウスより得られる変異スペクトルデータベースの構築と公開

当研究室にて得られたMutaTMMouseおよびBig Blue[®]マウス由来の*cII*遺伝子突然変異体に関するデータを用い、WWWへの公開を行うためのデータベースを作製した。現在までに、自然突然変異および化学物質処理による突然変異体を含め、1753個の変異体に関する情報を公開した。

26. 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

27. 培養細胞研究資源の整備に関する研究(基盤整備)

新規細胞33種の寄託を受けた。そのうち12種について品質管理実施後JCRB細胞として登録した。品質管理実験は、マイコプラズマ検査、BVDVウイルス検出を実施し、必要に応じて除去作業を行った。ヒト細胞についてはSTR-PCR法によりクロスコンタミ検査を実施し、1種類の細胞について誤りがあることを発見した。

28. 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利用して、病院からの細胞の入手について検討を加えた。検討に基づいて病院からヒト組織材料を入手し、長期保存を確立した。また、ヒト組織を研究材料として利用する際の課題について検討し、公開の勉強会を開催した(HS財団受託研究費)。

29. 生命科学研究に必須な培養細胞研究資源管理基盤の整備に関する総合的研究

培養細胞保存管理のためのコンピュータシステムの再構築を実施した。内部管理用ファイルサーバならびに情報公開用WWWサーバをLINUX化し、クライアントをWINDOWS98とした。このシステムに合わせて、細胞バンク設立当初より使用してきた管理プログラムを全面的に見直しGUI化した。その中で新たに追加した品質管理項目に対応するデータベースの作成と公開システムを開発した。新規受入細胞は33種。品質管理の実施は12種(厚生科学研究費補助金事業)。

30. 上皮細胞の増殖停止機構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を明らかにしたことを受けて引き続き詳細な性状について調べている。Eti-1遺伝子については国際特許が成立した(文部省科学研究費補助金)。

31. 生物系研究資源データベース構築に関する研究

昨年に引き続き約500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。当所のWWWサーバが外部のクラッカーにより攻撃を受けて内容を書き換えられる事故への対処として、WindowsによるWWWサーバを全てLINUX化してセキュリティーを強固なものとした。同時にWWWサーバをバックアップするシステムも確立した(科学技術振興調整費、科学技術庁)。

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たが、平成13年4月2日付けで併任解除となり、新たに鎌田栄一主任研究官が併任となった。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9回 既存化学物質に関するタスクフォース会合」(平成12年5月, フランス), 「PFOS非公式評価会合」(平成12年10月, 米国), 「第11回高生産量化学物質初期評価会議」(平成13年1月, 米国), 「第10回 既存化学物質に関するタスクフォース会合」(平成13年4月, フランス)に、広瀬主任研究官が「第2回IUCLID開発専門家パネル」(平成12年7月, フランス)に出席した。また、長谷川室長は「第1回韓国食品医薬品安全庁毒性研究所及び国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センターとのシンポジウム」(平成12年10月, 韓国)にセンター各部長とともに出張した。広瀬主任研究官が「第8回国際簡潔評価文書(CICAD)最終レビュー会議」(平成13年1月, スイス)に出席した。長谷川室長および広瀬主任研究官は「第42回米国トキシコロジー学会」に(平成13年3月, 米国)に出張した。鎌田主任研究官は「化学物質規制に関するシンポジウム」(平成13年8月, 韓国)に出張した。

化審法GLPの査察には、当室から3カ所、延べ4名が参加した。

業務業績

1. OECD高生産量化学物質の初期評価文書の作成及び発表

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4物質の初期評価文書を作成し、2001年1月に開催された第11回初期評価会議に提出・討議した。このうち、*m*-Toluidine および3-Methyl-1,5-pentanediol は健康影響と環境部分ともに合意されたが、*N,N*-Dicyclo-2-benzothiazolesulfenamideとCitralは健康影響部分のみが合意された。また、本会議からは日本産業界も評価文書を作成することになり、日本政府はその原案作成に協力すると共に提出前の評価および評価会議での支援を行った。その結果、提出されたMethoxypropanol acetate, 3,4-Dichlorobuteneおよび6,6'-Di-tert-butyl-2,2'-methylene-p-cresolはいずれも合意された。第12回初期評価会議は2001年6月に開催されることになっており、日本政府はドイツ企業が作成した*o*-Phthalodinitrileの原案に日本政府の試験データを入れて修正・完成させた評価文書をOECD事務局に提出した。

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

作業を行うとともに、これら試験結果のデータベース化を行っている。平成12年度は計143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を行うとともに、これら試験結果のデータベース化を行っている。平成12年度は16物質についての67試験の試験計画書確認作業、45物質についての162試験のピアレビュー及び評価作業を行った。

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の電子化が進められており、それに伴う新規化学物質の届け出様式の電子化整備およびバリデーション作業、並びに評価作業に関わる電子化整備に協力した。

5. その他(各種調査会等)

薬事・食品衛生審議会の医薬品添加物調査会、化学物質調査会、PRTR対象物質調査会及び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、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[環境省]の活動に協力した。

研究業務

1. 化審法における既存化学物質および新規化学物質の毒性評価に関する研究

新規に入手した既存化学物質の162試験データおよび新規化学物質の143試験データをデータベースに入力し、前年度までに入力したデータと共に解析した結果、以下の構造を有する化学物質は、特に注意あるいは追加した試験項目が必要であると結論した。内分泌攪乱物質の代表例として挙げられているビスフェノールAと類似構造を有するジフェニルメタン誘導体については、精巣や卵巣の重量や組織学的所見に変化が見られなくとも、血液中のコレステロール値が明確に低下する場合は、ビスフェノールAと同様な評価をする必要がある。構造類推の観点から内分泌攪乱物質と云われている化学物質の構造を有している届出物質の場合は、精巣や卵巣等の生殖器ばかりでなく甲状腺やその他の内分泌を含めた総合的な検査を実施する必要がある。

2. 化学物質の乳幼児における毒性発現に関する研究

出生直後の動物に対し適切かつ可能な化学物質の投与方法や投与期間の設定等の検討を行い、新生児試験法の確定を行った。その結果に基づいて、14種の化学物質の出生直後から21日目までの動物への投与試験、および同じ化学物質を同系の6週齢の動物の28日間投与試験を受託試験機関に依頼し、両者の試験結果を比較しながらピアレビューを行っ

た。

3. ラットα2U-グロブリンの分析手法に関する研究

雄ラット尿からα2U-グロブリンに対するウサギ抗血清を作成し、腎組織標本上で免疫組織学的に同定できる手法を用いて、9種の化学物質の投与により認められた腎の好酸性小体が抗α2U-グロブリン抗体に陽性反応を示すことを明らかにした。本手法を用いたα2U-グロブリン腎症の証明について、日本トキシコロジー学会で発表した。

4. 内分泌かく乱化学物質の毒性評価に関する研究

内分泌かく乱化学物質のうち、アルキルフェノール類及びビスフェノールA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・評価し、日本臨床に投稿・掲載された。また、フタル酸エステル類については、生殖、発生毒性機構、各毒性指標についての無毒性量、精巣毒性の週齢差、種差およびDEHPの1日耐容摂取量に関して、情報の収集・整理・評価を行い、日本食品化学学会誌に投稿・掲載された。〔厚生科学研究分担研究〕

5. 水道水に係わる毒性情報評価に関する研究

平成12年度は、WHO飲料水ガイドラインの改訂作業に係わる日本担当分3物質(エピクロロヒドリン、ヘキサクロブタジエン、1,4-ジオキサン)について、毒性情報の収集、整理、評価を行い、ヒトの健康評価および基準値部分の原案を作成・提出した。また、ホルムアルデヒドについて、経口および吸入暴露による毒性と水道水における安全性の評価を行い、水環境学会誌に投稿・掲載された。〔厚生科学研究分担研究〕

6. ダイオキシンの毒性評価に関する研究

平成12年度中に公表されたダイオキシン類(ポリ塩化ダイオキシン、ポリ塩化ダイベンゾフラン、コプラナーPCB及びポリ臭化ダイオキシン)の文献情報を収集し、評価した。また、平成12年に公表された米国EPAの再評価ドラフトについての解析を行った。さらに、米国サンフランシスコで開催された「米国トキシコロジー学会第40回年会」(平成13年3月)に出席し、最新の情報の収集を行った。〔厚生科学研究主任研究〕

7. 室内空気中の化学物質に関する研究

ホルムアルデヒドとパラジクロロベンゼンの併用暴露装置の開発を行い、一般毒性及び免疫学系への相互影響についての解析を行った。その結果、ホルムアルデヒドの高濃度、長期間暴露ではI型アレルギーが誘導されやすいことが示唆されたが、パラジクロロベンゼンを併用暴露することで毒性の増悪は見られなかった。また、パラジクロロベンゼン単独暴露およびホルムアルデヒド併用暴露した場合でも、肝への作用が同様に見られた。〔厚生科学研究分担研究〕

8. 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、平成12年度も継続的に、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た(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「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

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12年度の審査センター業務はおおむね順調に推移した。4月の人事異動により豊島聡センター長及び橋爪章審査第三部長がそれぞれ就任し、豊島聡センター長は審査第四部長を兼任することとなった。また、同年7月には平山佳伸審査第一部長が、平成13年1月には山本弘史審査第二部長が就任した。増員も1名が認められ、4月から5月にかけて基礎研修を行った。

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13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るが、平成12年度においては、①重要な問題点については、審査チームと薬事食品衛生審議会から指名された専門委員とで協議(専門協議)する。②申請企業との面接審査会を経て、承認の可否に関する基本的な方向性を検討する。③審査センターの承認の可否についての判断を審査報告書にまとめる。という一連の審査体制が整備された。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いきたい。

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 平山 佳伸
 (前審査第一部長 池谷 壮一)
 審査第二部長 山本 弘史
 (前審査第二部長 古澤 康秀)
 審査第三部長 橋爪 章
 審査第四部長(併) 豊島 聡

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た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12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12,000余に上る。これらは、更に本省において、必要なものは薬事食品衛生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3,393件の届出があった。また、治験中

の副作用報告として15,253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42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58品目、医薬品再評価については371品目の処理を行った。

大 阪 支 所

支所長 岡 田 敏 史

平成12年度は、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)の創設に向けた動きが、一気に具体化してきた年であった。基盤研の具体化を図るため、平成11年度に組織された厚生科学研究班(主任研究者:岸本忠三大阪大学学長)により、平成12年度も引き続き検討された結果、8月に「画期的な医薬品等の開発促進のための基盤技術開発研究等のあり方に関する研究」(中間報告)が示された。この中間報告に基づいての基盤研設立に向けての平成13年度予算概算要求では、基本設計及び実施設計のみならず工事費の一部(10億円)までが上乘せられて認められた。

この結果、平成16年4月発足の予定で基盤研設立が公式に認められ、新段階を迎えたことから、大阪支所改組に向けての準備作業の開始が求められることとなった。各々が法律又は行政通知等に基づいて行っている業務等について類別し、それぞれについて整理の方向を示すとともに、現場だけでは考えきれない問題については、関連する行政部局又は担当課と相談することで、それぞれの業務について整理の方向を探ることとした。

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の廃止に関する医薬安全局長通知(医薬発第912号、平成12年9月11日)が出され、昭和61年4月より行われてきたこれらの製剤に対する国家検査に終止符が打たれ、今後はGMPによる製造及び品質管理により品質確保が図られることとされた。一方、食用タール色素に対する製品検査は引き続き実施された。

平成12年度の国家検査、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3件、食用タール色素の製品検査176件、一斉取締試験88件について実施した。このうち、色素の製品検査で1件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45品目につき、計8,463個を製造した。

平成11年度の厚生科学研究費補助金及びH S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は3課題、厚生省特別研究2課題、厚生科学研究11課題、食品等試験検査費による研究4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12年12月1日付けで食品試験部天倉吉章技官が本所食品部へ配置換えとなった。平成13年4月1日付けで笠木直一郎庶務課長が本所業務課長に配置換えとなり、新たに酒井正行筑波薬用植物栽培農場庶務課長が庶務課長に就任した。また、遠藤庶務課長補佐が医薬局総務課主査に配置換えとなり、新たに本所総務部庶務課中島一登庶務係長が庶務課課長補佐に就任した。

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、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、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2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、それぞれに着実な成果をあげることができた。

ヒトインスリン製剤の国家検査3件が行われたが、これは平成11年度受付の未検査分であり、ヒトインスリン製剤の国家検査は平成12年9月を以て正式に終了した。今後は、GMPによる製造工程管理により、製造者責任の下で品質確保が図られることになる。

新規標準品として、センノシドA、センノシドB及びプエラリンの3品目を新たに製造した。ただし、国立衛研標準品としての告示は、厚生科学課の判断により、正式に日局標準品として掲載される時点でされる予定である。

斎藤博幸技官は、アポリポ蛋白質と脂質及び細胞表面レセプターとの相互作用に関する共同研究のため米国ペンシルバニア大学へ出張した（平成12年7月17日～平成13年7月16日予定）。谷本 剛室長は、ICH/Q7A専門家会議及びICH-5に出席し、原薬GMPガイドライン作成のための協議を行った（平成12年11月4日～13日、サンディエゴ）。四方田千佳子室長は、第220回アメリカ化学会（平成12年8月20日～24日、ワシントン）に出席し、ヒアルロン酸架橋ゲル中からの薬物の放出挙動に関する研究発表を行った。また、小出達夫技官は第14回国際伝統薬学会に出席して研究成果を

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（平成13年1月22日～30日、リマ）。

業務成績

1. 国家検査

ヒトインスリン製剤の国家検査は3件あり、すべて合格であった。なお、昭和61年以来行われてきたヒトインスリン製剤の国家検定又は国家検査は、平成12年9月を以て終了した（医薬発第912号）。

2. 一斉取締試験

平成12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44件、輸液製剤等（ブドウ糖注射液）37件及び後発品の多い経口剤7件の計88件が対象品目となった。このうち後発品の多い注射剤44件については不溶性異物試験を、輸液製剤等37件については不溶性異物試験及び純度試験を、後発品の多い経口剤（臭化ブチルスコポラミン錠）7件については、製剤機能試験（崩壊試験又は溶出試験）、純度試験及び定量試験を実施した結果、すべて合格であった。

3. 標準品製造

医薬品試験用標準品39品目、計4,716個の製造を行った。なお、平成12年度新規製造標準品としてセンノシドA、センノシドB及びプエラリンの3品目の製造を行った。ただし、標準品としての告示については、厚生科学課の判断により、日局収載に合わせて行うことされている。

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53機関を対象としたが、別に希望する地方衛生研究所18機関を対象として、同一内容での技能試験を実施した。

また、後発医薬品の再評価事業の一環として、地方衛生研究所の溶出試験技術の向上を図るために、溶出試験に限定しての技能試験を実施した。地方衛生研究所27機関を対象としたほか、希望する薬剤師会試験検査センター26機関も対象として試験を実施した。

4. 国際協力

WHOからの委託事業として、「不正医薬品対策マニュアル」の改訂作業に協力した。

5. 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。

また、中央薬事審議会臨時委員として医薬品の承認審査に係わる専門協議及び申請資料に対する専門家の立場からのコメントの作成・提出を行った。なお、平成13年1月8日

より、中央薬事審議会と食品衛生調査会が一本化され、薬事・食品衛生審議会と名称及び組織が変更された。

研究業績

1. 医薬品の分析化学的研究

(1) 医薬品の規格及び試験法作成に関する研究

(1)-1 日局一般試験法の改正及び新規設定に関する研究
日局一般試験法「電気滴定法」について「滴定終点検出法」と改め、指示薬法をも包含する試験法として再構成を行った。これに関連して、容量分析用標準液の標定操作の項の見直しを行い、一部の標準液につき、指示薬法だけでなく、電位差滴定法によっても標定操作が行えるよう改めた。また、「抗生物質の微生物学的力価試験法」の作成に協力した。一方、「導電率測定法」を新規に設定すべく試験法案の作成・提出を行った（厚生科学研究費補助金）。

また、昨年に引き続き、生物薬品の品質評価のための「SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法」及び「アミノ酸分析法」の国際調和案の作成に協力した。

(1)-2 医薬品の品質評価技術を高度化するために、生物薬品に適用されているバイオアッセイ法の生化学的方法や理化学的方法への代替について検討し、カリジノゲナーゼ製剤の純度試験や特殊性能試験に用いられている *in vitro* バイオアッセイ法に代わる酵素免疫測定法を確立し、日局に反映させた。

(1)-3 日抗基の日局への移行に際して解決すべき問題点や課題を明らかにしてその対応策を提示し、日局改正に反映させた（厚生科学研究費補助金）。

(1)-4 地域における医薬品試験等のネットワーク構築の一環として、標準物質に関する情報ネットワークを構築した（厚生科学研究費補助金）。

(1)-5 製剤原料の品質確保の一環として、ICH/Q7A・原薬 GMP ガイドラインの策定に参画するとともに、不純物プロファイルによる製造管理・品質管理の在り方について検討した（厚生科学研究費補助金）。

(2) 標準品の品質規格の設定に関する研究：

(2)-1 センシッド A 標準品、センシッド B 標準品及びブエラリン標準品の各候補品について、生薬部及びその他の外部機関を含む複数機関での共同実験による品質評価を行い、それぞれ生薬の品質試験用標準品として確立した。

(2)-2 平成 13 年度新規製造予定のギンセノシド Rb1 標準品及びギンセノシド Rg1 標準品の予備調査及び試験を行った。

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) 酸性多糖と医薬品との複合体生成

ヒアルロン酸とドキシサイクリン及び二価金属イオンからなる水溶性ゲルについて、マウスを用いた *in vivo* 実験により、難治性創傷治療剤としての有用性評価を行った。この結果、ゲルからの滲出水分量を制御することにより外用

性の創傷治療剤として応用可能であることが示唆された。また、ヒアルロン酸架橋ゲルと医薬品との相互作用では、界面活性の大きな医薬品ではゲル中でラメラ様の構造を形成し、薬物の放出が強く抑制されることを見いだした（HS 財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業）。

(2) 静的光散乱法によるヒアルロン酸溶液物性の測定

静的光散乱測定により、ヒアルロン酸の溶解状態に及ぼす共存イオンの影響について検討し、NaCl 溶液では 0.1 ~ 3M の範囲内で、回転自乗半径に大きな変化は認められなかったが、同程度のイオン強度における MgCl₂ あるいは AlCl₃ 溶液では、カチオンの価数が大きいほど回転自乗半径が小さくなる傾向が見られた。また、高塩濃度領域における屈折率の濃度依存性 (dn/dc) の低下は、ヒアルロン酸の溶解状態の変化を反映しているものと推測された（HS 財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業）。

(3) リポソームの薬物キャリアーとしての応用に関する研究

カチオニックリポソームとプラスミドとの複合体形成機構につき、超高感度マイクロカロリメータ測定によって検討し、複合体形成の際の熱反応を解析した。

3. 創薬基盤技術の開発に関する生物化学的研究

(1) ヒト型試験系の確立に関する研究

ヒト型アルドース還元酵素遺伝子発現マウス作製用ターゲットベクターを構築するためのヒトアルドース還元酵素遺伝子を含むミニジーンを設計した。

(2) 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

ラットの糖尿病合併症好発組織及びその他の組織におけるアルドース還元酵素及びソルビトール脱水素酵素の mRNA の発現量を RT-PCR 法で明らかにし、糖尿病合併症発症へのポリオール経路の関与の程度を推定することができた。

(3) 熱帯病に対する新たな治療薬の開発に関する研究

リーシュマニア治療薬の開発を目的として、伝統的に南米で用いられている薬用植物、*Elephantopus mollis* より単離した抗リーシュマニア活性をもつセスキテルペン類の作用機序を検討した結果、これら化合物の化学構造中の α -メチレン- γ -ラク톤の反応性二重結合が、抗リーシュマニア活性の発現に関与することが示唆された（HS 財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業）。

(4) モデルペプチドを用いたアポリポタンパク質脂質膜結合機構に関する研究

高分解能 ¹H-NMR、¹³C-NMR の測定および蛍光励起エネルギー移動の測定から、アポ A-I 及びそのモデルペプチドの脂質膜結合部位を原子レベルで同定し、それらの結合機構について考察した（文部省科学研究費）。

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、食品添加物等の安全性に関する研究、残留農薬の分析等に関する研究、輸入食品検査に関する研究、新開発食品等の安全性の確保に関する研究、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等を行った。人事面では平成12年12月に天倉吉章研究員が本所食品部へ配置換えとなった。

業 務 成 績

1. 製品検査

タール色素及びタール色素レーキ176検体（平成12年4月1日～平成13年3月31日）について検査を行った。食用黄色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。

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の見直しとして、食用赤色40号アルミニウムレーキ(R-40A1)の純度試験のうち、副成色素などの有機性不純物についてのHPLC定量用試験液の新たな調製法を作成した。純度試験の試験液に高濃度のアルミニウム(A1)が残存し、HPLCの再現性等の精度に悪影響を及ぼすことが判明したので、レーキをアンモニアアルカリ性で煮沸してA1を沈殿除去する方法を提案した。本法は食用黄色5号アルミニウムレーキ(Y-5A1)の純度試験としても適用できることを明らかにした。また、非スルホン化芳香族第一級アミンの試験法の改訂ミスに対する訂正案を提案した。一方、R-40A1の確認試験の極大吸収波長については、極大吸収波長測定用試験液中のA1の共存により影響を受けることを明らかにした。従って、本項にも上記で提案したA1の沈殿除去法を準用した試験液調製法を提案した。

(2) 食品中の添加物の分析法に関する研究

食品中の亜硝酸根(NO_2^-)の分析法について、試料により、アルカリとホモジナイズした際に、そのろ液が白濁し、測定不能となる場合があった。その場合の試料は温水のみでホモジナイズし、その後除タンパク及び加温抽出して試料液調製を行うことにより、澄明な試料液が得られた。また、タンパク含量の高い食肉製品は試料量を半量にすることにより解決することができ、回収率も良好であった。その方法を「食品衛生検査指針-食品中食品添加物分析法」に注釈案として提示した。

(3) 化学的合成品以外の食品添加物の規格基準に関する研究

既存添加物名簿記載の酸化防止剤ユーカリ葉抽出物について、HPLCにより含有成分を分取し、NMR、MS等のスペクトル分析により、各成分の構造を同定した。また、抗酸化活性は、リノール酸過酸化抑制能、スーパーオキシドアニオン生成抑制能及びフリーラジカル消去能等による抗酸化活性を検討した。その結果、「ユーカリ葉抽出物」製品中の主含有成分としては、没食子酸(1)、エラグ酸(2)及びそれら関連ポリフェノール類、マクロカルパール類などのフロログルシノール誘導体(3)～(8)、シネオール(9)などのモノテルペン類、グロブロール(12)などのセスキテルペン類であり、その活性本体は1,2であることを明らかにした。従って、既存添加物名簿記載品目リストにおける酸化防止剤としての「ユーカリ葉抽出物」は主成分として没食子酸(1)、エラグ酸(2)及びそれら関連ポリフェノールを羅列する必要があると考えられる。一方、今回のマクロカルパール類の抗う蝕効果、シネオールをはじめとするユーカリ油を主成分とした香料の用途などによる使用も考えられ、「ユーカリ葉抽出物」の名称と使用目的及び成分の区別が必要である。

2. 残留農薬の分析等に関する研究

(1) 残留農薬基準告示分析法に関する研究

ハロスルフロンメチルの残留農薬分析法を作成した。本法は、同系統の農薬のアジムスルフロン及びフラザスルフロン残留農薬分析法を改良し、3農薬の同時分析法を確立した。本法を各種対象農産物に適用し、添加回収率・検出下限とも良好な結果を得た。

(2) 残留農薬告示分析法見直しに関する研究

A: ベンタゾン、フルスルファミドの個別分析法について検討した。ベンタゾン試験法は、試料をメタノールで抽出し、酢酸エチルで液-液分配を行った後、玄米の場合は分配脱脂を行う。シリカゲルカラム、次いでSupelco® Envicarbミニカラムにより精製を行い、蛍光検出器付HPLCで定量を行った。フルスルファミド試験法は、試料をメタノールで抽出し、酢酸エチルで液-液分配を行った後、シリカゲルカラム、次いでBond-Elut® SAX+PSAミニカラムにより精製を行い、DAD付HPLCで定量を行った。アブラナ科作物中のベンタゾン分析時には夾雑ピークが出現することがあり、LC/MSによる確認が必要であった。

B: 現行のN-メチルカルバメート系農薬告示試験法の見直しを行った。ジクロロメタンを酢酸エチルで代替した場合、アルディカルブスルホキシド等の水溶性の高いカルバメートが回収されにくい原因は、分解等によるものではなく抽出効率によるものであることを確かめた。水層に対する有機層の量を増加させることで回収率を向上できることが判明した。柑橘類の酢酸エチル抽出物のミニカラムによる精製を検討したが、妨害成分の除去は不十分であった。柑橘類以外の作物については、酢酸エチルによる抽出も可能であると考えられた。

(3) 残留農薬の超迅速分析法開発に関する研究

米及び水分含量の高い野菜や果実類を試料として、超臨界流体抽出(SFE)法で抽出し、Bond ElutC₁₈, Sep-Pak Florisil, Bond Elut PSAで精製後、液体クロマトグラフ/質量分析計(LC/MS)で測定する簡便で迅速な18農薬一斉分析法について検討した。LC/MSは、特に紫外吸収(UV)検出器で多くの妨害ピークが現れる農作物には有効であったが、対象農薬と同じm/zを持つ物質由来の妨害ピークにより測定できない農薬もいくつか存在した。さらに、測定値の変動が、UV検出器による測定の場合よりも大きく、測定の際に工夫を要した。

3. 輸入食品検査に関する研究

小麦中のマラチオンを厚生省告示分析法で測定すると、マラチオンは小麦中の酵素によって分解し、実際より低い測定値しか得られないことから、この分解物の検索を行った。実験では、¹⁴Cでラベルしたマラチオンを用いてHPLCで分取し、分解物に相当するRTをもつ物質をマラチオンの代謝物標品と比較して、分解物を決定した。さらに、液体クロマトグラフ/質量分析計(LC/MS)を用いてマラチオン及びその代謝物の増減を観察し、代謝経路の推定を行った。この結果、RI標識マラチオンを用いた実験で、2フラクションだけマラチオンの分解とともに放射能の増加するフラクションがあったが、このうち後方のフラクションについては、デスメチルマラチオンとマラチオンβ-モノカルボン酸であることが判明した。

4. 新開発食品等の安全性の確保に関する研究

Wistar系雄性ラットを通常食或いはコレステロール負荷食で飼育し、さらにブドウ種子ポリフェノールを0.01-1.0 g/kg強制経口投与し、脂質代謝、肝臓中ミネラル含量及びミネラル排泄に及ぼす影響を調べた。ブドウ種子ポリフェノールは血清脂質に対する抗酸化性を示し、血清トリグリセライド低下作用を示した。大量投与時には体重増加抑制を示した。3週間という短期投与ではコレステロール代謝に対する顕著な影響は認められなかった。また、肝臓中Ca、Zn貯蔵量は減少し、Fe排泄は増加傾向にあった。

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

日本国内で販売されている各種食品中のフタル酸エステル類濃度をGC/MSによって測定した。市販弁当10検体について、ポリ塩化ビニル(PVC)製手袋使用規制後にフタル酸エステル類濃度を調査した結果、DEHP濃度の平均値は平成11年度調査時点の約22分の1に減少していた。また、弁当以外の市販食品177検体を調査した。濃度として最も高く検出されたのは惣菜中のアジピン酸ジイソノニル(DINA)であり、最高20.2 µg/g含まれていた。またDEHP濃度が最も高かった検体は2000年5月に製造されたベビーフード1検体であり、4.25 µg/g含まれていた。この製品を乳児が摂取した場合の摂取量は我が国のTDIに抵触すると考えられた。しかし当該製品の他のロットについて繰り返し分析した結果、

2000年9~12月に製造された製品では痕跡量~0.099 µg/gのDEHP濃度であった。高濃度の製品は、DEHPを含有するPVC製手袋が製造に使用されていた時期に汚染されたものと推定された。これらの他の検体では摂取量が0.02mg/kgbwを超える例は見られなかった。

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、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、既存化学物質の生殖発生毒性に関する研究、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、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「遺伝子発現を指標とする化学物質の安全性評価法に関する研究」に参加し、それぞれ着実に成果を上げることができた。

江馬 眞室長は第38回ヨーロッパ毒性学会に参加し、研究発表を行った(平成12年9月17日~20日、英国)。別に、同室長は米国NTPによって開催された内分泌かく乱化学物質低用量ピアレビューにおいてビスフェノールAのラット2世代繁殖試験の結果について発表し(平成12年10月10日~12日、米国)、第1回国立衛研/韓国FDA合同シンポジウムにおいては、内分泌かく乱化学物質低用量リスク評価及び日本のダイオキシンTDI設定の基となった毒性データについて発表した(平成12年10月20日~21日、韓国)。また、英国厚生省、運輸省、環境省生態学研究所及びレスター大学を訪問し、内分泌かく乱化学物質に対する英国及びEUでの取り組みの現状について情報収集を行った(平成13年2月18日~23日、英国)。さらに、第40回米国毒性学会でモノブチルフタレート抗アンドロゲン作用について発表した(平成13年3月25日~29日、米国)。

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3件あり、すべて合格であった。なお、ヒトインスリン製剤の国家検査は、平成12年9月を以て終了した。

2. 一斉取締試験

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、後発品の多い注射剤 44 件について無菌試験を実施した。このうち、19 件については、発熱性物質試験も合わせて実施した結果、全品合格であった。また、輸液製剤等の一斉取締り試験としてブドウ糖注射液製剤 37 件について無菌試験を実施した。このうち、21 件についてはエンドトキシン試験を、16 件については発熱性物質試験も合わせて実施した結果、全品合格であった。

2. 標準品製造

エンドトキシン 10000 標準品ほか 5 品目、計 3,747 個の製造を行った。なお、エンドトキシン 100 標準品についてはロット更新を行った。

3. 国際協力

平成 12 年度より開始された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への協力を行った。

4. その他

中央薬事審議会の新薬の承認審査における専門協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 13 年 1 月より中央薬事審議会は、薬事・食品衛生審議会へと名称及び組織変更された。

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

(1) 医薬品の規格及び分析法に関する研究

日局の第十四改正に伴う一般試験法「エンドトキシン試験法」の改正作業に協力した。当該改正案は、JP フォーラム上での公開（内示）を経て第十四局に収載される運びとなった。

(2) 天然医用材料の安全性評価に関する研究

天然医用材料の安全性を評価する研究の一環として、アルギン酸塩類、キチン・キトサン類、あるいはコラーゲンなどを原料とする 9 種類の創傷被覆材について、発熱性物質汚染のサーベイを行った結果、アルギン酸塩類製品（3 種類）に発熱性物質汚染を認めた。更に、それらの汚染発熱性物質はエンドトキシンであることを明らかにした（厚生科学研究費補助金）。

2. 医薬品等の有効性、安全性に関する研究

(1) 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

新規に開発したインビトロ発熱性物質試験法は、諸種の発熱性物質のヒトに対する発熱性を的確に評価できるのみならず、複数の発熱性物質の複合汚染により生じる発熱相乗効果をも検出、評価できる可能性が示唆された。

(2) 既存化学物質の生殖発生毒性に関する研究

Butyltin trichloride (BTCl) をラットの妊娠初期に投与したとき、母体毒性を発現する用量でも胚致死作用を示さないことを明らかにした（既存化学物質等の試験調査費）。

(3) 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

可塑剤 dibutyl phthalate (DBP) の主要な代謝物である monobutyl phthalate (MBuP) は胚致死作用を示し、また、偽妊娠ラットにおける子宮の脱落膜形成を阻害したことから、MBuP による胚致死作用は脱落膜反応の抑制、すなわち子宮機能の低下に起因することが示唆された（厚生科学研究費補助金）。

(4) ダイオキシン類の健康影響に関する総合評価研究

ポリクロロジベンゾダイオキシン、コプラナ PCB 及びペンタクロロジベンゾフランの 3 種の化学物質について、これらの経口投与により動物において発生毒性の発現することを文献調査により明らかにした（厚生科学研究費補助金）。

(5) 環境中の複合化学物質による次世代影響リスクの系統的评价と対応支援

可塑剤 dibutyl phthalate (DBP) の主要な代謝物である monobutyl phthalate (MBuP) をラットの妊娠後期に投与するとき、雄胎児に抗アンドロゲン作用を発現させることを明らかにし、DBP による抗アンドロゲン作用の発現は MBuP を介して作用することが示唆された（環境省地球環境研究総合推進費）。

(6) 遺伝子発現を指標とする化学物質の安全性評価法に関する研究

マウスケラチノサイトの無血清培養系を確立し、この系において誘導性一酸化窒素合成酵素 (iNOS) の発現が、RT-PCR 法および免疫細胞化学的に検出できることを明らかにした（厚生省特別研究費）。

3. 創薬研究及び創薬研究資源の開発に関する研究

(1) 中枢神経系幹細胞の増殖と分化に関する研究

無血清培養条件下、EGF の添加により中枢神経幹細胞の増殖が誘導され、増殖後の細胞が増殖前と類似のマーカー蛋白発現パターンを示すことを明らかにした。

(2) 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 の増殖抑制作用には、癌抑制遺伝子産物として、pRb よりもむしろ同じファミリーに属する p107 および p130 が関与している可能性が示唆された。

(3) 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/Jic マウス初代培養ケラチノサイトから EGF 非依存性に増殖するクローン NCK-SG を分離した。インターフェロニン γ が EGF 非存在下において濃度依存的に NCK-SG ケラチノサイトの増殖を抑制し、iNOS 蛋白の発現を誘導することが示された（創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業）。

北海道薬用植物栽培試験場

場 長 柴 田 敏 郎

概 要

人事面では、佐藤里子事務補助員が平成13年3月31日付で退職し、後任として松原直美事務補助員が採用された。

施設整備としては、平成12年度公共事業予備費により、庁舎増築、資料保存庫、乾燥庫、高圧受変電設備及び外来者用便所の新設、外溝工事、6・7号宿舍の解体工事、自家発電機及び真空ポンプの交換、並びに温室側窓自動開閉装置の設置を実施した。また、同予算により名寄市公共下水道への接続工事を実施した。

研究業務としては、厚生労働省医薬局監視指導麻薬対策課の委託研究による「けしの直接抽出法に関する研究」、厚生労働省医政局 研究開発振興課研究開発振興課の委託研究による「薬用植物栽培・品質評価指針作成に関する栽培試験」、厚生科学研究費、ヒトゲノム・再生医療等研究事業による「薬用生物資源の種子保存法確立における研究基盤整備に関する総合的研究」、並びに平成12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。

一般市民への啓蒙活動として、第二回薬用植物に関するワークショップ「北方先住民族の有用植物とその利用法について」を、平成12年9月30日～10月1日の2日間にわたり名寄市北国博物館と共同開催し、5名の講師による講演会ならびに名寄市智東地区吉野川流域における野外薬用植物観察会を行い、合計約100名の参加のもと盛況の内に終了した。記録集を作成し、希望者に配布した。

海外出張では、熊谷健夫栽培管理室長が、科学技術振興調整費により、南米産薬用植物の活性成分の探索並びに国内導入のための意見交換及び情報収集のため、平成13年1月22日から30日までペルーに出張した。

業務成績

1. 種子交換

採取 248 種 (筑波試験場へ送付)

受け入れ 77 件 201 種

分譲 45 件 67 種

2. 指導業務

470名の来場者に薬用植物の情報提供と指導、並びに113件の栽培指導を行った。

研究業績

1. 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栽培土壌(3水準)及び栽培温度(2水準)の影響を、3年間栽培して比較検討

した。その結果、根の生育及びグリチルリチン含量には栽培土壌や栽培温度の影響が強く現れ、秋期により高温下で栽培した場合に地下部の生育が促進し、グリチルリチン含量も増加することが判明した。また、土壌粒子が小さくなるにつれ根の生育は増加するが、グリチルリチン含量は逆に低下することが判明した。

2) ウイキョウの栽培研究

特にカリウム施用量が生育および種子中のアネトール含量に及ぼす影響、ならびに2年目における最適栽植密度について検討した。その結果、生育2年目においては、10a当たり1000～1250株の栽植密度、カリウム施用量は1株当たり15g程度で効率良い栽培が期待できると考えられた。本実験及び昨年度の実験結果より、10a当たり施肥量は、N、10-12kg、P₂O₅、6-9kg、K₂O、18-28kg、CaO、6-10kgと推定した。なお、種子中のアネトール含量は、カリウム施用量、栽植密度に対していずれも統計的有意差が認められず、また、完熟種子と未熟種子の間にも差は認められなかった。

3) カワラヨモギの栽培研究

国内で栽培生産する際の最適地域を明らかにするべく、5栽培試験場で比較栽培し、生育および利胆成分ジメチルエスクレチン及びカピラリシン含量に及ぼす影響を検討した。その結果、開花日について、種子島で最も早く、緯度が高くなるにつれて順次遅くなり、種子島と名寄では約40日の差が認められた。頭花中の利胆成分は北にゆくほど低下する傾向が認められた。生薬(頭花)採取量を3場で比較した結果、和歌山で最も高く、最も低い北海道の約3倍の収量となった。以上のように、本種は栽培地の緯度や気候に極めて大きく影響を受けることが明らかとなった。

2. シャクヤクの早熟多収・高成分含量系統の選抜

1996年秋に1次選抜した53系統について、1999年秋に収量及び成分含量を調査して2次選抜を行なった。各成分の1996年と1999年の相関係数はペオニフロリン0.870、アルピフロリン0.947、オキシペオニフロリン0.895、ガロタンニン0.905と高い相関性が認められ、これらの成分産生能の遺伝性が確認された。収量については、系統間差が認められ、4系統が多収系統として有望であった。

筑波薬用植物栽培試験場

場 長 関 田 節 子
前場長 畠 山 好 雄

概 要

近年、天然資源保有国は自国の資源や環境の保存と保護に力を注ぎはじめている。生薬の90%以上を輸入に依存している我が国はその影響を免れ難く、生薬の基原植物の確保、増殖栽培、育種、品質確保、有効利用の研究は更に重要なも

のとなると考えられる。各薬用植物栽培試験場は、独自の環境を活用する一方、共同研究を通じて認識を新たにこのような状況に対処している。

人事面に関しては、平成13年3月31日付けで畠山好雄前場長が定年退官され、後任に関田節子生薬部第二室長が同年4月1日付けで着任した。また、同年3月31日付けで細川敬三栽培研究室長が退職した。HS振興財団の流動研究員として平成12年4月1日～13年3月31日まで東野薫氏が育種生理研究室において「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」に従事した。高橋真理衣氏が平成13年4月1日よりHS振興財団ヒトゲノム・再生治療研究推進事業の支援研究員として採用された。研究生として別井史枝氏（筑波大学）、淵野裕之氏（東京理科大学）、中根孝久氏（昭和薬科大学）を、実習生として池田春菜氏（東洋大学）を受け入れた。

海外出張として、下村講一郎育種生理研究室長及び吉松嘉代主任研究員が、シンガポールで開催された「植物組織培養と農業生物工学についてのアジア太平洋会議」に出席し、研究発表および討議を行った（平成12年11月19日～24日）。

本年度の施設関係では、たい肥置き場を整備し、環境制御実験棟のコンピューターの更新を行った。

研究業務としては、HS振興財団の受託研究・官民共同プロジェクト研究の一環として、「薬用植物の種に特異的な機能の分子生物学的解析」及び「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「薬用生物資源の種子保存法確立における研究基盤整備に関する総合的研究」、厚生省医薬安全局麻薬課（現厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課）の委託研究「けしの直接抽出法に関する研究」、「けしの栽培地等調査」及び「アヘンモルヒネ含有率試験」を実施し、同健康政策局研究開発振興課の委託研究「薬用植物栽培・品質評価法に関する試験」を実施した。

平成13年3月14日、筑波試験場会議室において、首藤所長・三瀬副所長・長田総務部長・佐竹生薬部長・関田生薬部第二室長出席のもと、平成12年度薬用植物栽培試験場業務打ち合わせ会議を開催し、平成12年度研究業務・平成13年度研究実行計画を報告し、討論した。

また、平成12年7月13日、第10回薬用植物栽培技術フォーラムをつくば市の文部科学省研究交流センターにて開催し、中山智紀厚生省医薬安全局監視指導課指導第一係長・大浜宏文NNFAジャパン化学・法務担当ディレクター・寺西雅弘富山県薬用植物指導センター副主幹研究員・鈴木幸子東京都薬用植物園栽培担当係長・吉澤政夫東京都薬用植物園主任・大住優子奈良県薬事指導所主任研究員・金森久幸広島県保健環境センター主任研究員の招待講演及び2試験場の研究報告を行った。

業務実績

種子保管数（貯蔵庫）

交換用種子保管数	1,065点	
12年度入手種子数	592点	
分譲種子数	4,849点	
種子目録配布数	75ヶ国	441機関
遺伝子資源保存		
低温保存試験用種子	152種	1,634点
低温保存交換導入種子	約5,600点	（昭和63年～平成12年，継続）
超低温保存培養体	40点	

研究業績

1. 薬用植物の栽培・品質評価に関する研究

(1) マオウの国内栽培に関する研究

前年度に共同研究を開始した *Ephedra distachya* の苗の2年目について成分の経時測定を行った。2000年8月から12月まで1月毎に地際から地上部を刈り取り、乾物測定および成分分析の試料に供した。また、ファイトロン内で生育時の温度条件の違いによる成分含有量への影響を測定した。総アルカロイド量は、1.6%（8月）、1.7%（9月）、1.6%（10月）、1.9%（11月）、1.8%（12月）とこの時期に関しては局方におけるマオウの条件を満たす収量が得られた。ファイトロンでは同じ株から株分けした3検体の結果は、15℃（1.60%、1.50%、1.20%）、20℃（1.30%、0.90%、1.30%）、25℃（1.40%、1.70%、1.10%）、30℃（1.70%、1.20%、1.20%）であり、株により最も高い収量を示す温度が異なることから成育温度の差は総アルカロイド量に大きな影響を与えないことが判明した。

(2) けしの直接抽出法に関する研究

アヘンアルカロイドを全草から直接抽出するため、筑波試験場で保存する48系統のケシ *Papaver somniferum* の特性調査をした。2000年3月21日に播種し、開花後14日目に収穫した。収穫後の測定の結果、果殻中のアヘンアルカロイド含有率が高いのは4系統、果殻1個当たりのアヘンアルカロイド収量が多いのは3系統であった。

成分組成に特徴のある系統として、高morphine系統（75%以上）は6系統、高codeine系統（20%以上）、高papaverine系統（20%以上）及び高noscopine系統（30%以上）はそれぞれ1系統ずつであった。

(3) 牛膝の栽培方法に関する研究

筑波試験場の保存ヒナタイノコズチ *Achyranthes fauriei* を2000年5月23日に播種した。試験区は80cmに深耕した圃場で畦幅は80cm、株間を5、10cmの2水準、摘心処理の回数を0、1、2回とした。12月に収穫後収量調査とエクジステロン、サポニン、希エタノールエキス及び糖含量を測定した。全ての試験区で局方の規定値を充足する生薬が得られ、1株当たりの主根乾重は、株間10cmの栽植密度、摘心処理した区が他の4試験区に比べ大きかった。摘心処理は、何れの栽植密度でも、1株当たりの主根乾重を増加させる効果があることを明らかにした。

2. 薬用植物の組織培養に関する研究

(1) ムラサキ培養シュートにおけるシコニン及びコーヒー酸誘導体生産に対するシグナル伝達物質の影響

暗所で培養したムラサキシュートを、MS液体培地で1週間培養した後、各々、ジャスモン酸(JA)、ジャスモン酸メチル(MJ)、サリチル酸(SA)、 H_2O_2 を添加した。添加後、7日目の生育量、シコニンおよびコーヒー酸誘導体含量について、コントロールと比較した。MJ, JA添加によりシコニン及びコーヒー酸誘導体[RA(ロズマリン酸), LAB(リソスペルミン酸B)]生産は、ともに増加したことより、ムラサキ培養シュートにおいてMJ, JAはシコニン及びコーヒー酸誘導体の生合成に関与していることが考えられた。また、SA添加によりコーヒー酸誘導体は変化せず、シコニン誘導体のみ減少したことから、SAはシコニン誘導体生産を抑制することが考えられ、シコニン生合成経路のスイッチを決めるシグナル物質である可能性あるいはSAはシコニン生合成経路には関与せず、他の化合物を誘導するという可能性も推測された。また、 H_2O_2 添加により、シコニン生産は減少し、コーヒー酸誘導体(RA)生産は増加した。 H_2O_2 は、SAの二次メッセンジャーとして機能していると考えられており、SAによってシコニン誘導体を抑制した後、増加した過酸化水素によりコーヒー酸誘導体が誘導されるということが考えられた。

(2) 種々の培養条件下におけるムラサキ培養シュートのシコニン誘導体生産の特徴

シュートをMS固形培地(シャーレ)、液体培地(フラスコ)に植付けて、暗所にて培養した。その結果、固形(シャーレ)および液体培地(アルミホイルキャップ)で培養したムラサキシュートは、茎においてシコニン誘導体を生産した。一方、培養容器中の通気を良くしたシャーレおよびシリコセン使用フラスコで培養したシュートでは、培地に接触している部分においてシコニン誘導体生産が少量観察されたが、培地面上部に伸長した茎においては、シコニン誘導体生産は認められず、シャーレおよびアルミホイルキャップ使用で培養したシュートよりもシコニン誘導体含量が低かった。

以上の結果より、暗所で培養しているムラサキ培養シュートにおいてシコニン生産は、培養容器中の酸素濃度又は培養物が生成した二酸化炭素、エチレン等の何らかの要因が色素生産に関連している可能性が示唆された。

(3) ムラサキ培養シュートにおけるシコニン誘導体形成に対するエチレンの効果

ムラサキシュートをMS固形培地(通気の良好なシャーレ)で培養した時の2,4週間目の培養容器中のエチレン量及びシコニン含量を調査した。その結果、2,4週目の通気を良くした培養容器中のエチレン量は、検出限界以下であったのに対して、密封培養容器中のエチレン量は、2週目で、約0.19, 4週目で約0.33nl/petri dishと増加した。また、シコニン含量は、2週目約0.03%(乾燥重量)、4週目約0.2%と増加し、培養容器中のエチレン量とシコニン含量との間に相関が

確認された。

エチレン阻害剤の $AgNO_3$ あるいはAVG(amino-ethoxyvinylglycine)を添加したMS固形培地(9cmφシャーレ)において培養した後、シュートにおけるシコニン誘導体含量を調べた。その結果、各々の阻害剤、すべての濃度において、シコニン誘導体の含量はコントロールと比較して低い値を示し、シコニン誘導体生産に対するエチレンの関与が示唆された。

3. けしがら抽出物の製法に関する研究

日本におけるけしがら抽出物(Concentrate of poppy straw)(CPS)生産のため、一貫種を用い、部位別のアルカロイド含量と、種々の栽培条件がアルカロイド含量に与える影響について調べた。1997年秋播き(播種日:10月24日)および1998年春播き栽培(播種日:3月23日)したケン収穫後、果殻(果実から種子を取り除いたもの)、種子、主茎および分枝の果殻に分けて風乾し、粉碎し、アルカロイドをHPLCにより分析した。

果殻のアルカロイド含量の方が、茎のアルカロイド含量よりも高かった。また、頂生果殻のアルカロイド含量よりも分枝果殻のアルカロイド含量の方が高く、果殻の主アルカロイドはモルヒネであった。頂生果殻のアルカロイド含量およびその変動は、秋播きおよび春播き間で大きな違いは認められなかったが、秋播き栽培株の分枝果殻のアルカロイド含量は、春播き栽培株よりも低い傾向が認められた。春播きの分枝果殻は、最高のアルカロイド含量を示し、収穫時期が遅くなるにつれて含量が低下した。しかし、この傾向は秋播きの分枝果殻には認められなかった。

春播き栽培で、アヘン採集が植物体のアルカロイド含量に与える影響について調べた結果、アヘン採集を行わなかった株のモルヒネ含量は収穫時期の影響が認められず比較的一定であるのに対し、アヘン採集後の植物体は、果殻および茎ともにモルヒネ含量の著しい低下が認められた。

主茎果殻、分枝果殻ともにアルカロイド抽出材料として有効であり、秋播き栽培株でも春播き栽培株でも同様に使用できることが判明した。

伊豆薬用植物栽培試験場

場 長 飯 田 修

概 要

平成13年3月31日付けで圃場作業長の栗原孝吾技官が定年退職し、同年4月1日付けで井上修技官が圃場作業長として、筑波薬用植物栽培試験場から配置換えされた。平成9年8月1日から科学技術振興事業団科学技術特別研究員として当場で研究活動を行ってきた高上馬希重氏は、平成12年7月31日で任期が終了し、同年8月1日から10月31

日まで当所の協力研究員として、同年11月1日から平成13年3月31日まで当所の非常勤職員として研究を行った。

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「薬用植物資源の種子保存法確立における研究基盤整備に関する総合的研究」において、*Curcuma*属植物の収集、保存及び利用に関する研究並びにマオウの増殖法に関する研究を行い、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」では、センナ、マオウ、アミガサユリ、カラスビシャク及びオオツヅラフジの栽培試験を行い、センナとマオウの栽培指針を作成した。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」を行った。

施設整備関係では、国有財産管理のため、当敷地面積の確定作業を測量業者に委託した。登記簿上の敷地面積は7,827.10㎡であったが、実測の結果7,713.07㎡であり、114.03㎡の減少となった。この原因は、登記簿の誤記や境界線の変更などによるものであった。また昭和58年に青野川河川改修工事に伴い厚生省から建設省に所管換された区域内に、厚生省所有地がまだ一地番残っているのが判明し、改めて所管換を行うこととなった。なお、実測面積の中には、その面積3.30㎡が含まれている。

上記結果に基づき隣接地との境界確定を行い、平成13年度に登記を行う予定である。

業務成績

1. 種子交換

採種	191種（筑波試験場へ送付）	
内訳	野生植物	104種
	標本植物	85種
	温室植物	2種
受入	36件	143種
分譲	17件	27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、とくに今年度は伊豆半島南部における、エゴマとレモンエゴマの分布及び変異について重点的に調査した。

研究業績

1. *Curcuma*属植物の収集、保存及び利用に関する研究

*Curcuma*属植物の種の特性を明らかにするため、伊豆、種子島及び筑波の各試験場で保存されている70系統を用い、それらを2分し伊豆及び種子島試験場でそれぞれ栽培し、試験に供した。伊豆試験場では、外部形態の観察、生産性の調査及びDNA解析を行った。

地上部及び地下部の外部形態は系統により異なり、根茎内部の色が種の特性を示す最も重要な指標形質であった。70系統の中には種名が不明なものが多数あり、また種内変異と思われる系統があり、外部形態のみから種名を特定することは困難であった。SSCP及びAFLP解析によるDNA分析から種の特定を検討した結果、典型的な種を区分することは可能で

あったが、種間あるいは種内変異を明確に特定するまでには至らなかった。

2. マオウの増殖法について

前年度にマオウの挿し木について検討したが、活着が極めて悪く有効な増殖法ではなかった。そこで、地上茎に根を付けた「根挿し法」を用い、植え付け時期を検討した。

植え付けは2月17日、3月10,23日、4月6,21日、5月2,16日、6月2,16日、7月10日、9月21日、10月20日に行った。9月13日に7月植え付け分までの生育状況を調査した結果、根挿し苗の活着率は5月16日が最も高く、次いで4月6日、3月23日であった。6月16日植えでは活着率が極めて低く、7月10日植えでは全て活着せず枯死した。また苗の生長の程度は、3月10日から4月6日植えで大苗の割合が高かった。春期に根挿しした苗を当年秋に定植する場合、植え付けの適期は3月下旬から4月上旬と判定した。

3. けしの直接抽出法に関する研究

1) けし殻の収穫期、2) けし殻収穫後の乾燥法、及び3) 生育周囲環境とけし殻中のモルヒネ含量の関係について検討した。

1) について、開花後10日、14日、20日、25日、32日に収穫したけし殻（果梗30cmを含む）中のモルヒネ含量は、開花後14日が最も高く0.289%であった。けし殻乾燥重量は開花後25日が最も大きく、モルヒネ含量とけし殻重量を積算して求めたモルヒネ収量は、開花後20日が最も多くなる結果を得た。

2) では、けし殻収穫直後に60℃温風乾燥、収穫後屋外で1週間乾燥後60℃で乾燥、及び収穫後黒ビニール袋内で室内放置5日間後60℃で乾燥の3区を設けた。けし殻中のモルヒネ含量は、収穫後1週間屋外乾燥した区が最も高く0.332%であった。けし殻乾燥重量は、収穫直後60℃乾燥区が最も大きかった。けし殻収穫後の乾燥処理の違いは重量の変化にみられ、けし殻中のモルヒネ含量には影響を及ぼさなかった。

3) では、けしに対する高温、多湿条件が、けし殻中のモルヒネ含量に及ぼす影響を検討するため、生育中の植物体を透明ビニールで被覆した。処理は、けし殻の収穫前3日間、2日間及び1日間行い、併せて無処理区を設けた。その結果、けし殻中のモルヒネ含量は、被覆1日区が最も高く0.308%であったが、各処理間の差はほとんどみられなかった。けし殻乾燥重量は被覆期間が長くなるほど小さかった。このように、けし殻重量及びモルヒネ含量におけるビニール被覆処理の有効性はほとんどみられず、それゆえ高温、多湿条件は、けし殻中のモルヒネ含量に対し有益な生育環境にはならなかった。

和歌山薬用植物栽培試験場

場 長 関 田 節 子
前場長事務取扱 三 瀬 勝 利

概 要

人事関係では、平成 13 年 3 月 31 日付けで三瀬事務取扱場長、酒井主任研究員が退職した。同年 4 月 1 日付けで筑波薬用植物栽培試験場関田場長が和歌山薬用植物栽培試験場場長に併任した。また、出納員としては大阪支所の中島一登会計課長補佐、支出負担行為事務補助として谷本薬品試験部室長が任に就いた。

施設関係では、南側圃場にフェンス設置の決定を受け予備作業として測量と境界確定を行った。その結果、一部、境界線を超えて当場の建造物があることが確認された。

フェンス本工事は、平成 12 年 12 月に着工し、13 年 1 月に完成した。フェンス設置に併せて案内表示板を設置した。室内関係では、照明器具の PCB 使用状況調査にともない 2 カ所の取り替えを行った。本年度は、台風の被害もなく特に修繕を必要とすることはなかったが、作業舎の老朽化が進んでいる旨の報告を行った。当地では、野焼きによる消却が禁止されているため、昨年度に引き続き、除草した草や剪定した樹木の枝などを業者により廃棄処理した。

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、『オオバコ』の報告書案を作成した。平成 12 年 9 月の生薬学会では『絡石藤』を、同 12 月の生薬分析シンポジウムでは『ハッカ』を、平成 13 年 3 月の薬学会では『オオバコ』をテーマとして研究報告を行った。

備品については、スキャナープリンター、CD/RW を購入し、薬用植物情報の電子化の試みを始めた。また、人工気象器を購入し、貯蔵種子の発芽についてのデータ収集を開始した。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	82 種	(筑波試験場に送付)
導入	56 件	58 種
分譲	10 件	28 種

2. 指導業務

見学者は、年間で 124 名余り (23 件) を数えた。農業関係者の見学もあり、スライドや実物を利用して薬用植物の流通などについて 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, 45 名) や田辺営林署(営林署, 25 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 (13 件)、栽培 (14 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 (10 種) の鉢植えを貸し出した。

酒井主任研究員は、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。また生薬分析シンポジウムのプログラム事務局委員、生薬学会関西支部委員の委嘱を受け、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

オオバコは、重要な日本の民間薬であり、局方生薬として、全草 (シャゼンソウ)、種子 (シャゼンシ) が収載されている。日本各地に自生している植物であるが、近年、帰化植物のセイヨウオオバコとの生育地争いが見られるようになった。また、中国では、近縁種の植物も利用していることから、輸入品の中には異なる基原のものも含まれる可能性があり、品質維持のためには国内生産が必要と思われる。そこで、栽培指針の品目として、栽培研究に着手した。オオバコは、種子の発芽に光を必要とするため、播種後に覆土をした場合、発芽しないこともある。よって、予め育苗し、定植する方法での生産増殖を提案することとした。また、遮光栽培実験の結果、弱い遮光条件では生育が旺盛であることが明らかになったが、成分含量がやや低下することから、遮光の必要性はなく、生育のためには十分灌水することとした。(薬学会、栽培指針 Part 10 原稿案を提出)

2. 絡石藤の市場品について

漢薬『絡石藤』の市場品には、基原の異なる数種の植物が使われていると思われるので、その顕微鏡鑑定および成分鑑定を行った。中国薬典ではタイワンテイカカズラ (*Trachelosperum jasminoides* Lem.) の茎葉が記載されており、上海、南京、安国、天津での市場品はこれに一致した。台湾、ハルピン市場品は、オオイタビ (*Ficus pumila* L.)、瀋陽市場品は前述両種の混合、香港、シンガポール市場品は、シラタマカズラ (*Psychotria serpens* L.) を基原としていることを明らかにした。(生薬学会)

3. ハッカについて

ハッカは、薬用および香辛料として古くから利用され、北海道、岡山県を中心に栽培、品種改良が進められてきた。現在も国内生産されているが、多くは香料として利用されている。ハッカは交雑によって多くの品種が作り出されており、特に生薬としての品種は存在しない。一般には和種ハッカが薬用として利用されており、中国、インドなどからの輸入に依存している現状である。セイヨウハッカ、スペアミントなど、香料としての品種も多く日本に輸入されていることから、生薬ハッカという観点で市場品の検討を行った。セイヨウハッカ、スペアミントは成分的に容易に和種ハッカとの区別が可能であることを明らかにした。また、和種ハッカであっても、産地により収穫調整の方法の違いから成分含量に大きな違いが認められた。灰分の値が高く局方不適となる商品 (香料として流通していたもの) も認められた。(生薬分析シンポジウム)

種子島薬用植物栽培試験場

場 長 香 月 茂 樹

概 要

施設環境整備として、鹿児島県熊毛支庁土木課の発注により、種子島空港に面し航空法に抵触する防風林の部分伐採等を実施した。工期は平成12年6月～11月、面積約1.8ha行い、窪地で風が当たりにくい一部については将来のことを考慮し、伐根し圃場を新設した。農具庫の老朽化に伴い外壁塗装工事を平成13年3月実施した。

備品として実体顕微鏡システムを購入した。

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、「ウツボグサ」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「ケシ直接抽出法に関する研究」などを実施した。

平成12年5月25日、NHKT「情報スタジオかごしまVふるさと発信」の番組で「種子島の薬用植物研究」という内容で種子島試験場が紹介された。

平成13年2月26日、造成中の圃場において世界最小のヘビ類であるメクラヘビ(全長20cm以下、重量数g以内)を種子島で初めて発見・捕獲し、3月5日の南日本新聞に掲載された。その後、3頭(2頭は生体)捕獲した。

気象面では、梅雨の期間は6月3日から7月14日の42日間で、総降雨量は664.5mmであった。台風の接近・通過は1個あり、内容は下記のとおりである。被害は栽培植物・樹木に生じただけで軽微であり、特に施設への被害はなかった。

7月27日～8月2日 6号

最大瞬間風速22.0 m/s・総降雨量188.0 mm

業務成績

1. 種子交換

採種 426種(筑波試験場へ送付)

内訳 野生種 279種

栽培種 147種

露地 145種

温室 2種

受入 54件 104種

分譲 68件 254種

2. 指導業務

見学者 63件 256名以上

問い合わせ件数は36件以上あり、内訳(重複あり)は種苗の入手法15、栽培法9、植物鑑定4、薬効・用法3、その他(地域振興、薬用植物の自生地、販売先など)9件であった。

平成12年6月、鹿児島県薬務課・県警から捜査対象植物の鑑定依頼があり、アサと同定した。

研究業績

1. ケシの直接抽出法に関する研究

開花期の施肥効果に関する研究を実施した。

1993年伊豆試験場より導入した「一貫種」の継代栽培した1999年産種子を、1月14日に播種した。肥料条件は基肥として窒素、リン酸、加里を成分量でそれぞれ4.68 kg/10a、苦土石灰200 kgを施用した。追肥の形で開花最盛期に尿素(窒素全量46.0%)26.1 kgを条間に施用した。あへんは5月18日、21日、24日に切傷し、翌日収穫した。果殻は5月23日に収穫した。

あへんのアルカロイド含量はモルヒネ、コデイン、パパペリン、ノスカピンについては2回目に、テバインは1回目に増加が顕著であった。果殻のアルカロイドは処理日当日のものに増加がみられたが、その前後に差異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

1) ヒキオコシの発芽適温に関する試験を実施した。1962年に和歌山試験場より導入し栽培してきた個体より、1999年秋に採種したものを使用した。アクリル製透明容器に、濾紙を2枚重ね、蒸留水にて飽和状態としたその上に静置した。照明は恒温培養庫内中央で約10,000lx、12時間照明とした。温度は15～35℃で、5℃刻みに設定し、昼夜間の温度差は設けなかった。発芽率は非常に良好で、また発芽期間も短く、全温度処理区で9日目には95%以上を示した。発芽は早く、25℃以上では翌々日から、15℃でも6日目には始まった。形態の差異は多少見られたものの、極端なものではなかった。

ヒキオコシの挿し木・種子繁殖の2年目、株分けによる1年目の育成状況を観察した。夏は7月4日、秋は10月11日に収穫した。いずれの繁殖法も、収量は夏に多く、秋にはやや減少した。生乾比は夏より秋に高くなった。株分け苗の活着は100%で、その後の生育は挿し木・種子繁殖以上に揃っていた。風により折損・倒伏などが生じ、防風対策なくしては栽培は困難と思われた。

2) ウツボグサの株分けによる栽培試験を実施した。1992年島内自生株を採取し、株分けにより繁殖を行っていたもの。肥料は10a当たり、基肥として堆肥300 kg、窒素、リン酸、加里を成分量でそれぞれ3 kgを全面に施した。追肥はハイポネックス1000倍液を春2度施した。栽植密度は20×20 cmとした。この栽植密度では比較的早い時期より過密状態となった。こぼれ種による幼苗が初冬にはかなりみられた。栄養繁殖によるためか、開花数に比べ、結実歩合が非常に悪かった。10a当たりの収量(花穂)は、生体重で350 kg、乾物重で75 kgが期待できた。花穂100個の重量は生体重で約48.8 g、乾物量で10.6 gで、乾燥歩留まりは21.7%であった。

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、開花したごく一部が結実し、播種した結果、翌年に開花した。このことから、実生による

育種が国内で可能なことが示唆された。

4. 植物資源の保存及び保護に関する研究

種子島試験場における現在の自生・栽培植物を同定し、その科名・学名・和名・入手先・入手状況・入手形態を調査した。まだ、未調査・未同定植物はあるものの174科652属948種105変種1亜種18品種157園芸品種、計1434点について明らかにした。温帯性植物：ウメ、モモ、キキョウ、アミガサユリ、ハナスゲ、ヤマザクラ、キハダ、サンショウ、コブシ等、熱帯・亜熱帯性植物：カンラン、シナニッケイ、セイ

ロンニッケイ、トウシキミ、ハズ、ゲッキツ、ナンバンサイカチ、リュウガン、キナノヒ、アラビアコーヒーノキ、インドジャボク、クズウコン、ヤクチ、リョウキョウ、ソウズク等が露地で生育可能である。低温休眠期間が短い：自生のヤマザクラ。開花が揃わず、開花期間が長い：ソメイヨシノ。抽苔が早い：本土採種のカワラヨモギ。抽苔・開花率が低い：本土採種のトウキ。休眠がないか、極めて短い：ミシマサイコ等の日本本土とは異なった現象が見られた。

平成12年度所外研究員等の受け入れ名簿

Researchers' List in Fiscal Year 2000

(平成13年3月31日現在)

(客員研究員) 11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	
田中 悟	医薬品機構	毒性薬品部	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	
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	評価部	10.4.9	12.4.8	男	
渡辺 昌昌	東京農薬大学応用生物科学部教授	毒性部	10.12.1	13.3.31	男	
鈴木 幸子	元当所毒性部	毒性部	12.4.1	13.3.31	女	
降矢 強	医薬品機構	毒性部	12.6.1		男	
三森 国敏	元当所病理部	病理部	12.10.2		男	
門脇 孝	東京大学大学院医学研究科	薬理部	13.3.15		男	

(協力研究員) 13名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
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	
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	13.3.31	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	
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	12.4.8	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	13.3.31	男	
Jung Da-Woon	全南大薬科大学研究助手	筑波試験場	11.4.12	12.4.11	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	
Ramadan Ahmad Mohammed El-Marakdy		変異遺伝部	12.4.1	12.6.30	男	
津田 雅之	筑波大学生科学研究科	変異遺伝部	12.6.1	13.3.31	男	
高上馬 希重	元科学技術振興事業団	伊豆試験場	12.8.1	12.10.31	男	
千野 誠	日本大学生物資源科学部	食品添加物部	12.8.1		男	

(流動研究員) 8名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
瀧野 裕之	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	生薬部	10.12.1	13.3.31	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	13.3.31	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	13.3.31	男	
朴 正雄	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	療薬品部	11.4.1	13.3.31	男	
六鹿 元雄	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	食薬品部	12.4.1	12.12.31	男	
洪 志駿	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	衛生微生物部	12.4.1	13.3.31	男	
藤野 智史	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	代謝生化学部	12.4.1	13.3.31	男	
東野 薫	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	筑波試験場	12.4.1	13.3.31	女	

(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
高上馬 希重	科学技術振興事業団	伊豆試験場	9.8.1	12.7.31	男	
市川 明	科学技術振興事業団	療薬品部	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	
黛 聡子	科学技術振興事業団	衛生微生物部	11.1.1	13.3.31	女	
津田 誠	科学技術振興事業団	衛生微生物部	11.1.1		男	
佐久嶋 順一郎	科学技術振興事業団	食薬品部	12.1.1	13.3.31	男	
中西 郁夫	科学技術振興事業団	有機化学部	12.1.1		男	
王 文晟	科学技術振興事業団	変異遺伝部	13.1.1		男	
六鹿 元雄	科学技術振興事業団	食品部	13.1.1	13.3.31	男	

(重点支援協力研究員) 10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	13.3.31	女	
高木 加代子	科学技術振興事業団	機能生化学部	8.8.26		女	
柴山 理恵	科学技術振興事業団	生物薬品部	9.4.1	13.3.31	女	
日向 須美子	科学技術振興事業団	生物薬品部	9.11.1	12.9.30	女	
伊藤 かつき	科学技術振興事業団	生物薬品部	12.10.1	13.3.31	女	
楠井 薫	科学技術振興事業団	代謝生化学部	11.4.1	13.3.31	女	
細野 哲司	科学技術振興事業団	生物薬品部	12.1.1	13.3.31	男	
浅野 卓哉	科学技術振興事業団	機能生化学部	13.1.1	13.3.31	男	
奥貫 晴代	科学技術振興事業団	機能生化学部	13.1.1		女	
杉本 和恵	科学技術振興事業団	機能生化学部	13.1.1	13.3.31	女	

(日中笹川医学研究者) 1名

氏名	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性別	備考
季 書 淵	広州市薬品検験所中薬室	生 薬 部	12. 4. 4	13. 3. 26	女	

(科学技術庁フェロー) 7名

氏名	国 籍	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性別	備考
Karen Skinner Scott	英国	University of Glasgow	薬 品 部	10. 8. 1	12. 7. 31	女	
kou Zou	中国	Beijing Medical University	生 薬 部	10. 10. 10	12. 10. 9	男	
N.Chandrasekaran	インド	School of Energy Sciences Department of Environment Madurai Kamara.Univ	環 境 衛 生 化 学 部	11. 2. 2	13. 2. 1	男	
HWa-Young Son	韓国	Toxicology Research Center.KRICT	病 理 部	11. 5. 10	13. 2. 26	男	
M.S.Rahman	パングラッジャ	Monowara Hospital(Pvt.) Limited	療 品 部	11. 12. 24		男	
A.M.Shraim	オーストラリア	University of Queensland	環 境 衛 生 化 学 部	12. 4. 4	12. 10. 31	男	
MD.M.Rahman	パングラッジャ	Bangladesh Agricultural University	衛 生 微 生 物 部	12. 5. 10	12. 8. 9	男	

(医薬品機構・派遣研究者) 8名

氏名	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性別	備考
Byung-Il Yoon	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	毒 性 部	10. 9. 1	13. 3. 31	男	
村 山 典 恵	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	薬 理 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	
中 島 由起子	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	薬 品 部	12. 4. 1		女	
長 野 美千代	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	機 能 生 化 学 部	12. 4. 1		女	
中 村 隆 広	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	機 能 生 化 学 部	12. 4. 1		男	
長 田 和 浩	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	療 品 部	12. 4. 1	13. 3. 31	男	
五十嵐 克 秀	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	毒 性 部	12. 4. 1	13. 3. 31	男	

(リサーチ・レジデント) 5名

氏名	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性別	備考
森 原 元 彦	日本公定書協会	薬 品 部	10. 9. 1	13. 3. 31	男	
尹 永 淑	長寿科学振興財団	生 薬 部	11. 4. 1	13. 3. 31	女	
中 根 孝 久	日本公定書協会	生 薬 部	11. 9. 1	13. 3. 31	男	
高 橋 則 行	日本食品衛生協会	病 理 部	11. 11. 1		男	
日 向 須美子	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	生 物 薬 品 部	12. 10. 1		女	

(研究支援者) 3名

氏名	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性別	備考
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	13. 3. 31	男	
瓶 子 宣 子	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	生 物 薬 品 部	12. 10. 1	13. 3. 31	女	
高 橋 真理衣	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	生 薬 部	12. 10. 1		女	

(研究生) 46名

氏名	依 頼 者	受入部(室)	入 所	退 所	性別	備考
高 木 久 宜	麻布大学教授	病理 3室	9. 4. 1	12. 9. 30	男	
相 原 真 紀	お茶の水女子大学生生活科学部教授	衛微 3室	10. 4. 1	13. 3. 31	女	
清 水 万紀子	昭和薬科大学教授	薬理 3室	10. 4. 20	12. 10. 1	女	
中 村 英 明	岐阜大学大学院教授	病理 1室	10. 7. 1	12. 7. 7	男	
明 谷 早映子	東京大学教授	機能 3室	11. 3. 1		女	
武木田 薫	昭和女子大学大学院教授	衛微 3室	11. 4. 1		女	
大 田 久美子	昭和薬科大学薬学部教授	薬理 3室	11. 4. 1	13. 3. 31	女	
国 谷 健 介	昭和薬科大学教授	変異 2室	11. 4. 1	13. 3. 31	男	
高 橋 真理衣	千葉大学薬学部教授	生薬 3室	11. 4. 1	12. 9. 30	女	
小 原 有 弘	名古屋市立大学薬学部教授	変異 1室	11. 5. 10		男	
水 卜 慶 子	お茶の水女子大学生生活科学部教授	衛微 3室	11. 6. 1	13. 3. 31	女	
木 村 千 暁	お茶の水女子大学生生活科学部教授	衛微 3室	11. 6. 1	13. 3. 31	女	
田 村 啓 啓	日本獣医畜産大学教授	病理 3室	11. 7. 1	12. 6. 30	男	
稲 田 知 佳	共立女子大学教授	衛微 3室	11. 7. 26		女	
角 出 泰 造	名古屋市立大学医学部教授	療品 3室	11. 9. 1	13. 3. 31	男	
山 岸 恵 恵	昭和女子大学教授	病理 1室	11. 10. 1		女	
津 田 雅 之	大阪大学大学院教授	毒性 3室	12. 3. 15	12. 5. 31	男	
田 中 光 光	東邦大学教授	生物 3室	12. 4. 1		男	
小 泉 直 也	昭和薬科大学助教授	生物 遺伝子	12. 4. 1		男	
徐 志 利	大阪大学大学院教授	生物 遺伝子	12. 4. 1		男	
石原島 栄 二	栃木県保健環境センター所長	生薬 3室	12. 4. 1		男	
中 村 亮 介	名古屋市立大学教授	機能 3室	12. 4. 1	12. 9. 30	男	
渡 辺 秀 実	共立薬科大学学長	代謝 1室	12. 4. 1		男	
梶 富 直 哉	東京農工大学教授	病理 2室	12. 4. 1	13. 3. 31	男	

濱田昌志	昭和薬科大学教授	薬理	3室	12. 4. 1		男	
杉崎真弓	埼玉大学助教授	変異	1室	12. 4. 1	13. 3. 31	女	
瀧澤保男	徳島大学医学部教授	病理	3室	12. 4. 6		男	
石川好男	(株)三菱化学安全科学研究所	評価室		12. 4. 7	12. 10. 13	男	
山本譲	(財)畜産生物科学安全研究所理事長	評価室		12. 4. 7	12. 10. 13	男	
澤英明	明治薬科大学学長	薬理	2室	12. 4. 10		男	
清水雅富	大妻女子大学教授	変異	2室	12. 4. 25		男	
星野真紀子	昭和薬科大学教授	変異	2室	12. 4. 25		女	
常盤俊之	(財)食品薬品安全センター	衛微	3室	12. 5. 15	12. 11. 30	男	
橋井則貴	城西大学学長	療品	1室	12. 6. 15		男	
岡崎和志	岐阜大学教授	病理		12. 7. 3		男	
宮崎仁志	名古屋市衛生研究所長	食品		12. 7. 31	12. 8. 4	男	
上山田誠	帯広畜産大学教授	病理		12. 9. 1		男	
平田利隆	農林水産省農薬検査所長	毒性		12. 9. 18	12. 12. 15	男	
佐藤義隆	東京大学医学部助教授	機能		12. 10. 1		男	
富樫真一	川崎市衛生研究所長	環境	1室	12. 10. 2	12. 10. 31	男	
土屋健次	岐阜県食肉衛生検査所長	衛微	2室	12. 10. 2	12. 10. 31	男	
富田律子	栃木県保健福祉部長	衛微	3室	12. 10. 16	12. 11. 15	女	
谷田晶子	愛知県食品衛生検査所	食品	3室	12. 12. 4	12. 12. 8	女	
がリエ	筑波大学教授	筑波		11. 11. 1	12. 6. 9	女	
田中章江	佐賀大学助教授	筑波		12. 4. 3	13. 3. 31	女	
李淑英	東新大学校総長	筑波		12. 7. 7	12. 9. 3	女	

(実習生) 40名

氏名	依頼者	受入部(室)	入所	退所	性別	備考
丸山久美子	昭和女子大学大学院教授	衛微 1室	11. 7. 26	13. 3. 1	女	
岡原祐子	昭和女子大学大学院教授	食品 3室	11. 7. 26	13. 3. 31	女	
太田久恵	昭和女子大学大学院教授	食品 3室	11. 7. 26	13. 3. 31	女	
諸星るり子	昭和女子大学大学院教授	食添 1室	11. 7. 26	13. 3. 7	女	
飯嶋広代	昭和女子大学大学院教授	食添 3室	11. 8. 1	13. 3. 31	女	
大塩明子	昭和女子大学大学院教授	評価室	11. 8. 1	13. 3. 31	女	
小沼ルミ	東京農業大学学長	生薬 2室	11. 8. 1	13. 3. 20	女	
稲川雅美	日本大学生物資源科学部長	生物	11. 12. 20	13. 3. 22	女	
堀川麻衣	日本大学生物資源科学部長	生物	11. 12. 20	13. 3. 22	女	
志茂雅敏	日本大学生物資源科学部長	有機	11. 12. 20	13. 3. 31	男	
霧我英和	北里大学教授	衛微 1室	12. 3. 1	13. 2. 28	男	
菊地博之	日本大学生物資源科学部学部長	食添 2室	12. 3. 13	13. 3. 12	男	
齊藤祐一	日本大学生物資源科学部学部長	食添 2室	12. 3. 13	13. 2. 27	男	
木村光宏	芝浦工業大学学長	有機	12. 3. 13	13. 3. 12	男	
柿原芳輝	日本大学生物資源科学部学部長	食品 3室	12. 3. 22	13. 3. 21	男	
松浪優哉	日本大学生物資源科学部学部長	食品 3室	12. 3. 22	13. 3. 21	男	
山下麻衣子	東京理科大学教授	環境 3室	12. 4. 1	13. 3. 31	女	
鈴木玲央	東京理科大学教授	環境 3室	12. 4. 1	13. 3. 31	男	
千葉公雄	東海大学主任教授	生物 2室	12. 4. 1	13. 3. 31	男	
木村多恵	(財)日本食品分析センター理事長	環境	12. 4. 1	13. 3. 31	女	
小林恵	東京医薬専門学校校長	環境 3室	12. 4. 1	13. 2. 19	女	
玉井奈都子	麻布大学学部長	衛微 2室	12. 4. 1	13. 3. 8	女	
田向真理	共立薬科大学学長	薬理 2室	12. 4. 1	13. 3. 31	女	
秦美幸	実践女子大学教授	食品	12. 4. 25	13. 3. 16	女	
廣瀬幸円	東京理科大学教授	薬品	12. 5. 10	12. 12. 31	女	
田島紳介	東京理科大学教授	薬品	12. 5. 10	12. 12. 31	男	
並木崇	日本大学理工学部学部長	環境 1室	12. 5. 15	13. 2. 28	男	
村井裕二	日本大学理工学部学部長	環境 1室	12. 5. 15	13. 2. 28	男	
渡部佳世子	共立薬科大学学長	環境 3室	12. 6. 1	12. 12. 31	女	
松本幸子	共立薬科大学学長	代謝 1室	12. 6. 5	12. 12. 22	女	
青柳有美	共立薬科大学学長	食品	12. 7. 3	12. 12. 28	女	
岸香織	昭和女子大学大学院教授	食添 3室	12. 7. 24	13. 3. 31	女	
柳澤真紀子	昭和女子大学大学院教授	衛微 1室	12. 7. 24		女	
長岡陽子	日本大学生物資源科学部教授	生物	13. 2. 5		女	
原真由美	日本大学生物資源科学部教授	生物	13. 2. 5		女	
秋野和美	日本大学生物資源科学部長	有機	13. 2. 6		女	
島田知一	芝浦工業大学工業化学科主任教授	有機 1室	13. 2. 8		男	
遠藤正吾	北里大学理学部教授	衛微	13. 3. 1		男	
井上かおり	日本大学生物資源科学部長	食添	13. 3. 21		女	
別井史枝	東洋大学教授	筑波	12. 2. 14	13. 3. 31	女	

Morihara, M., Aoyagi, N., Kaniwa, N., Kojima, S. and Ogata, H.*: **Assessment of gastric acidity of Japanese subjects over the last 15 years**

Biol.Pharm.Bull., **24**, 209-320 (2001).

The gastric acidity of young to elderly Japanese subjects from 1989 to 1999 was assessed and compared with that obtained in 1984, using GA-Test capsules containing acid-dissolving granules of riboflavin. The percentage of achlorhydric subjects increased with the age as observed before, which, however, tended to decrease in all age categories year by year. The percentage of achlorhydric subjects of 50 years in 1995-1999 was about 40%, which was lower than that (60%) in 1984. However, such a chronological change was not observed when the percentage of achlorhydric subjects was determined according to the birth year, indicating that it is related with the birth year of subjects. The percentage of achlorhydric subjects is correlated with that of the infection of *Helicobacter pylori*. Considering the high percentage of achlorhydric elderly that still exists, bioavailability and bioequivalence studies should be performed by taking into consideration the effects of gastric acidity on the in vivo performance of drug products.

Keywords: gastric acidity, achlorhydric elderly, *Helicobacter pylori*

*明治薬科大学

Izutsu, K., Kojima, S.:

Freeze-concentration separates proteins and polymer excipients into different amorphous phases

Pharm. Res., **17**, 1316-1322 (2000).

The miscibility of proteins and polymer excipients in frozen solutions and freeze-dried solids was studied as protein formulation models. Thermal profiles of frozen solutions and freeze-dried solids containing various proteins (lysozyme, ovalbumin, BSA), nonionic polymers (Ficoll, PVP), and salts were analyzed by DSC. The polymer miscibility in frozen solutions was determined from the glass transition temperature of maximally freeze-concentrated solute (Tg'). All the protein and polymer combinations (5% w/w, each) were miscible in frozen solutions and presented single Tg's that rose with increases in the protein ratio. Various salts concentration-dependently lowered the single Tg's of the proteins and Ficoll combinations maintaining the mixed amorphous phase. In contrast, some salts induced the separation of the proteins and PVP combinations into protein-rich and PVP-rich phases among ice crystals. Freeze-concentration separates some combinations of proteins and nonionic polymers into different amorphous phases in a frozen solution.

Keywords: Freeze-drying, Phase separation, Formulation

伊豆津健一, 小嶋茂雄:

凍結濃縮による生体高分子の相分離と共存物質の影響
低温生物工学会誌 **46**, 91-94 (2000)

Miscibility of polymers in aqueous frozen solutions was studied through thermal analysis. Freeze-concentration separated some polymer combinations (e.g., PVP and dextran) in single-phase initial solutions into different amorphous phases among ice crys-

tal. Other polymer combinations (e.g., PVP and ovalbumin) were concentrated into mixture amorphous phase. Addition of salts altered the polymer miscibility by covering the electrostatic interactions and hydration state of polymers. Possible mechanisms and effects of the phase separation were discussed.

キーワード: 相分離、凍結濃縮、製剤

Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: **Temperature Dependence of Bimolecular Reactions Associated with Molecular Mobility in Lyophilized Formulations**

Pharm. Res., **17**, 925-929 (2000)

The temperature dependence of acetyl transfer between aspirin and sulfadiazine, a bimolecular reaction, in lyophilized formulations at temperatures near the glass transition temperature (Tg) and NMR relaxation-based critical mobility temperature (Tmc) was studied to further understand the effect of molecular mobility on chemical degradation rates in solid pharmaceutical formulations. The temperature dependence of the hydrolysis rates of aspirin and cephalothin was also studied. The diffusion barrier of water molecules in lyophilized formulations appears to be smaller than the activation barrier of the hydrolysis of aspirin and cephalothin based on the results of this study that the temperature dependence of the hydrolysis rate is almost linear regardless of Tmc and Tg. The diffusion barrier of aspirin and sulfadiazine molecules appears to be comparable to the activation barrier of the acetyl transfer reaction between these compounds, resulting in nonlinear temperature dependence.

Key words: acetyl transfer, lyophilized formulation, molecular mobility.

吉岡澄江, 阿曾幸男, 小嶋茂雄: タンパク質凍結乾燥製剤の安定性に及ぼす分子運動性の影響に関する検討
低温生物工学会誌, **46**, 8-11 (2000)

種々の高分子添加剤を含有するタンパク質凍結乾燥製剤の分子運動性をパルス¹H-NMRおよび高分解能¹³C-NMRを用いて測定し、製剤中のタンパク質の安定性との関連を検討した。温度がプロトンのスピン-スピン緩和から測定した分子運動性の限界温度(Tmc)以上になると高分子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。Tmcは添加剤の種類および水分含量に大きく依存することが分かった。さらに、温度がTmc以上に上昇すると製剤中のタンパク質分子の凝集が顕著になり、安定性が著しく低下することが明らかになった。

Key words: protein stability, lyophilized formulation, molecular mobility.

坂本知昭, 花尻瑠理, 石橋無味雄, 小嶋茂雄: 日本薬局方の参照吸収スペクトルに関する研究 その2 参照紫外可視吸収スペクトルに関する研究 (I)
医薬品研究, **31**, 871-882 (2000)

第十四改正日本薬局方(JP14)では、医薬品各条の紫外可視吸収スペクトルによる確認試験、参照スペクトルあるいは標準品を測定して得られた吸収スペクトルのパターンを、試料を測定して得られた吸収スペクトルのパターンとの比較により行う方法が全面的に導入される。著者らは、JP14に収

載予定の医薬品のうち、250品目（第一部249品目、第二部1品目）について、紫外可視吸収スペクトルを測定し、参照スペクトル法と従来法を比較した。紫外可視吸収スペクトルは、各医薬品に固有のパターンを示すため、参照スペクトル法を用いれば、吸収の極大波長を用いた従来の方法より高い精度で確認試験が行える。しかしながら、本研究において、酷似したスペクトルパターンを示す医薬品が存在することが判明し、ほぼ同一のスペクトルパターンを有する医薬品も存在することが分かった。一般的に、医薬品の確認試験では数種類の試験を行った結果を総合して判定するため、類似した紫外可視吸収スペクトルを与える医薬品が存在しても直ちに重大な問題とはなることはないが、個々の確認試験の精度を向上させるとの観点からは参照スペクトルと試料のスペクトルパターンの比較を行うのみばかりではなく、吸収の極大波長、そして必要に応じて、吸光係数（ ϵ ）や局方規定濃度で測定したときの吸光度などを参考情報として付記しておくことが望ましいと思われる。

Keywords: Ultraviolet and visible absorption, The Japanese Pharmacopoeia, Reference spectrum

Saisho, K., Tanaka, E.* and Nakahara, Y. : **Hair Analysis for Pharmaceutical Drugs. I. Effective Extraction and Determination of Phenobarbital, Phenytoin and their major metabolites in Rat and Human hair.**

Biol. Pharm. Bull., **24**, 59-64 (2001)

In order to establish an analytical method for the determination of phenobarbital (PB), phenytoin (PPH) and their hydroxylated metabolites in hair, animal model experiments were performed. Five male dark-agouti pigmented rats, aged 5 weeks, were intraperitoneally and orally administered PB or PPH independently at 25 mg/kg once a day for 5 successive days. The growing back hair was collected 15 days after the first administration. Four typical extraction methods were evaluated using the rat hair samples containing PB or PPH. Methanol-acetone-NH₄OH (10:10:1) was the best extraction method from all aspects. The analytes in the extract were methylated in acetonitrile with 20% tetramethylammonium hydroxide and methyl iodide at 70°C for 10 min. After purification with Bond Elut Certify, the methylated products were analyzed by GC-MS. From rat hair, PB, p-hydroxy PB, PPH and p-hydroxy PPH were detected at average concentrations of 26.9, trace, 4.2 and 0.4 ng/mg with an ip injection, and at 30.9, trace, 4.0 and 0.4 ng/mg with oral administration, respectively. This method was applied to the head hair of two patients who orally took toxic amounts of PB and two volunteers who orally took 100 mg of PPH daily for 5 days. The hair concentrations of PB in the two patients were 16.2 and 14.7 ng/mg, and those of PPH in the two volunteers were 3.3 and 0.1 ng/mg.

Keywords: hair analysis, phenytoin, phenobarbital

*筑波大学社会医学系

Kaddoumi, A.*, Nakashima, M.*, Wada, M.*, Kuroda, N.*, Nakahara, Y., Nakashima, K.* : **HPLC of (±) fenfluramine and phentermine in plasma after derivatization with dansyl chloride.**

J. Liq. Chrom. & Rel. Technol., **24**, 57-67 (2001)

A high-performance liquid chromatographic method is described

for the simultaneous determination of the dansyl derivatives of (±)-fenfluramine (Fen) and phentermine (Phen) in addition to four other sympathomimetic amines, norephedrine (NE), ephedrine (E), 2-phenylethylamine (PEA) and 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2-CB). The separation was performed on a reversed phase C18 column with fluorescence detection. The dansylation conditions were examined and the optimum derivatization was obtained at pH 9.0 with 4.7 mM dansyl chloride. A preliminary study for the simultaneous determination of the dansyl derivatives in spiked human plasma was showed good linearities from 0.005 to 2 μ M with detection limits ranging from 16 to 255 fmol on the column. Extraction recovery of the compounds was greater than 90%. The application of the method was studied in rat plasma following an intraperitoneal administration of Fen and Phen.

Keywords: HPLC, sympathomimetic amines, dansyl chloride

*長崎大薬学部

早川 堯夫, 内田 恵理子, 黒澤 努^{*1}, 白倉 良太^{*2} : **トランスジェニック動物由来細胞の品質・安全性確保に関する基礎的研究**

医薬品研究, **31**, 791-817 (2000)

This study is aimed to provide points to consider on the assurance of quality and safety of cellular products derived from transgenic animals for human therapy. Points were described based on the characteristics of the cellular products derived from transgenic animals and on scientific principles of guidelines of biotechnology products for human therapy. The most careful consideration must be given to prevent the transmission of infectious diseases from cellular products derived from transgenic animals to the xenograft recipients, and to minimize potential risks to public health. Consideration required for the production and maintenance, stability and safety of transgenic animals, quality and safety of cellular products, and the system for the surveillance of xenograft recipients, archiving health records and specimens of recipients and donor animals to prevent infections after clinical trials, are also described.

Keywords: Transgenic animal, Cellular therapy,

Xenotransplantation

^{*1}大阪大学医学部付属動物実験施設

^{*2}大阪大学医学部付属バイオメディカル教育研究センター

早川 堯夫, 真弓 忠範^{*1}, 黒澤 努^{*2}, 豊島 聡^{*3}, 山口 照英, 川西 徹 : **トランスジェニック動物由来医薬品の品質・安全性確保に関する基礎的検討**

医薬品研究, **32**, 223-246 (2001)

Recently the pharmaceuticals, which were produced using transgenic animals, have been developed, and will be submitted for registration in nearly future in Japan as well as in USA and EU. This study has been, therefore, undertaken to establish the technical requirement for registration. The pharmaceuticals should be evaluated from the following standpoints: 1) Transgene construct and its characterization; 2) Creation and characterization of the transgenic founder animal; 3) Establishment of a reliable and continuous source of transgenic founder animals; 4) Generation and selection of the production animals; 5) Maintenance of

transgenic animals; 6) Recovery of products from transgenic animals; 7) Purification of products; 8) Characterization of products; 9) Process evaluation and in-process test; 10) Specification of products, 11) stability of products, 12) Preclinical safety evaluation and clinical evaluation.

Keywords: transgenic animal, quality evaluation, clone animal

*1 大阪大学大学院薬学研究科

*2 大阪大学医学部

*3 星薬科大学薬学部

Kawakami, N.*¹, Kita, K.*², Hayakawa, T., Yamaguchi, T., and Fujimoto, S.*³: **Phorbol myristate acetate induces NADPH oxidase activity of cytochalasin B-primed neutrophils through the protein kinase C-independent pathway**

Biol. Pharm. Bull., **23**, 1100-1104 (2000)

We examined the effect of cytochalasin B (CB) or granulocyte colony stimulating factor (GCSF) on superoxide radical (O_2^-) production of neutrophils by phorbol myristate acetate (PMA)-stimulation. It was observed that O_2^- generation of intact and GCSF-treated neutrophils by PMA-stimulation showed a lag during the early stage, and was largely inhibited by 1-(5-isoquinoline-sulfonyl)-3-methyl-piperazine (200 μ M) or GF109203X (GFX) (0.2 μ M), but not by ethanol (1%) and wortmannin (100 nM). In contrast, O_2^- generation of CB-pretreated neutrophils by PMA-stimulation did not show a lag, but was less than that of intact cells, and was only minimally depressed by the above inhibitors, but was markedly depressed by the simultaneous addition of GFX and ethanol or GFX and wortmannin. Although translocation of p47phox and p67phox to the membrane fraction by PMA-stimulation of intact and GCSF-treated neutrophils occurred in parallel with O_2^- production, that of CB-treated neutrophils by PMA-stimulation was not always proportional to O_2^- production. These findings suggest that pretreatment of neutrophils with CB dramatically alters the PMA response of the cells; that is, the protein kinase C-dependent pathway is largely depressed, and a phospholipase D-dependent one for NADPH oxidase activation appears in CB-treated cells.

Keywords: NADPH oxidase, protein kinase C, neutrophils

*京都薬科大学

Shimohama, S.*¹, Tanino, H.*², Kawakami, N.*², Okamura, N.*³, Kodama, H.*³, Yamaguchi, T., Hayakawa, T., Nunomura, A.*⁴, Chiba, S.*⁴, Perry, G.*⁵, Smith, M.A.*⁵, and Fujimoto, S.*²: **Activation of NADPH oxidase in Alzheimer's disease brains**

Biochem. Biophys. Res. Commun., **273**, 5-9 (2000)

The present study is the first to show that superoxide (O_2^-) forming NADPH oxidase is activated in Alzheimer's disease (AD) brains by demonstrating the marked translocation of the cytosolic factors p47-phox and p67-phox to the membrane. In conjunction with a recent *in vitro* study showing that amyloid beta activates O_2^- forming NADPH oxidase in microglia, where these phox proteins are localized in this study, the present results suggest that, in AD, NADPH oxidase is activated in microglia, resulting in the formation of reactive oxygen species which can be toxic to neighboring neurons in AD.

Keywords: Alzheimer's disease, NADPH oxidase, superoxide

*1 京都大学医学部

*2 京都薬科大学

*3 広島大学医学部

*4 旭川医科大学

*5 Case Western Reserve University

Okabe, J.*¹, Eguchi, A.*², Msago, A.*³, Hakayawa, T., and Nakanishi, M.*⁴: **TRF1 is a critical trans-acting factor required for de novo telomere formation in human cells**

Hum. Mol. Genet., **9**, 2639-2650 (2000)

The duplex telomere repeat (TTAGGG)_n is an essential cis-acting element of the mammalian telomere, and an exogenous telomere repeat can induce chromosome breakage and *de novo* telomere formation at the site of a break (telomere seeding). Telomere seeding requires the telomere repeat (TTAGGG)_n more stringently than does an *in vitro* telomerase assay, suggesting that it reflects the activity of a critical *trans*-acting element of the functional telomere, in addition to telomerase. Furthermore, telomere seeding is induced at a frequency fluctuating widely among human cell lines, suggesting variation in the activity of this hypothetical factor among cells. In this study, we investigated the cellular factor(s) required for telomere formation using the frequency of telomere seeding as an index and identified TRF1, one of the telomere repeat binding proteins, as an essential *trans*-acting factor. The exogenous telomere repeat induces telomere formation at a frequency determined by the availability of TRF1, even in telomerase-negative cells. Our study shows clearly that TRF1 has a novel physiological significance distinct from its role as a regulator of telomere length in the endogenous chromosome. The possible role of TRF1 in cell aging and immortalization is discussed.

Keywords: telomere, TRF1, chromosome

* 大阪大学微生物病研究所

Kawasaki, N., Ohta, M., Hyuga, S., Hyuga, M. and Hayakawa, T.: **Application of liquid chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography with tandem mass spectrometry to the analysis of the site-specific carbohydrate heterogeneity in erythropoietin**

Anal. Biochem., **285**, 82-91 (2000)

High-performance liquid chromatography with electrospray ionization mass spectrometry (LC/MS) and liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) were applied to the analysis of the site-specific carbohydrate heterogeneity in erythropoietin (EPO) used as a model of the sialylated glycoprotein. *N*-linked oligosaccharides were released from recombinant human EPO expressed in Chinese hamster ovary cells enzymatically and reduced with NaBH₄. Many different sialylated oligosaccharides of EPO were separated and characterized by LC/MS equipped with a graphitized carbon column (GCC). Glycosylation sites and the preliminary glycosylation pattern at each glycosylation site were determined by LC/MS of endoproteinase Glu-C digested EPO. The detailed site-specific carbohydrate heterogeneity caused by the differences in the molecular weight, branch, linkage, and sequence were elucidated by GCC-LC/MS of the *N*-linked oligosaccharides released from the isolated gly-

copeptides. Structural details of the isomers were analyzed by LC/MS/MS, and it was indicated that di- and trisialylated tetraantennary oligosaccharides are attached to Asn24, 38, and 83, whereas their isomers, di- and trisialylated triantennary oligosaccharides containing N-acetylglucosamines, are combined with Asn24. Our method is useful for determining of glycosylation sites, the site-specific carbohydrate heterogeneity of glycoproteins, and carbohydrate structure.

Key words: ESI-LC/MS, erythropoietin, carbohydrates

Ohta, M., Kawasaki, N., Hyuga, S., Hyuga, M., and Hayakawa, T. : **Selective glycopeptide mapping of erythropoietin by on-line high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry**

J. Chromatogr. A., **910**, 1-11 (2001)

Selective glycopeptide mapping of recombinant human erythropoietin (rhEPO) used as a model glycoprotein was successfully carried out by on-line high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry (ESI-LC/MS) using a Vydac C18 column eluted in acetonitrile-1mM ammonium acetate, pH 6.8. RhEPO expressed in a Chinese hamster ovary clone was exhaustively digested into four glycopeptides and nine peptides with endoproteinase Glu-C. Both glycopeptides and peptides were eluted with trifluoroacetic acid as the eluent, whereas only glycopeptides were eluted selectively with ammonium acetate in the following order: N38, N24, O126, and N83. Furthermore, many glycoforms included in each glycopeptide were found to be separated by differences in the numbers of sialic acid and N-acetylglucosaminyl repeats. Twenty, 16 and 22 different N-linked oligosaccharides were determined at Asn24, 38, and 83, respectively, and two different O-linked oligosaccharides were observed at Ser126. Our method is simple, rapid, and useful for determining the carbohydrate structures at each glycosylation site and for elucidating the site-specific carbohydrate heterogeneity.

Key words: glycopeptide mapping, ESI-LC/MS, erythropoietin

Oda, Y.*¹, Nakayama, K.*¹, Abdul-Rahman, B.*², Kinoshita, M.*¹, Hashimoto, O., Kawasaki, N., Hayakawa, T., Kakehi, K.*¹, Tomiya, N.*², and Lee, Y. C.*² : **Crocus sativus lectin recognizes (Man)₃GlcNAc in the N-glycan core structure**

J. Biol. Chem., **275**, 26772-26779 (2000)

Crocus sativus lectin (CSL) is one of the truly mannose-specific plant lectins that has a unique binding specificity that sets it apart from others. We studied sugar-binding specificity of CSL in detail by a solution phase method (fluorescence polarization) and three solid phase methods (flow injection, surface plasmon resonance, and microtiter plate), using a number of different glycopeptides and oligosaccharides. CSL binds the branched mannose structure in the N-glycan core. Substitution of the terminal Man in the Man α (1-3)Man branch with GlcNAc drastically decreases binding affinity much more than masking of the terminal Man in the Man α (1-6)Man branch. Most interestingly, the beta-Man-linked GlcNAc in N-glycan core structure contributes greatly to the binding. The effect of this GlcNAc is so strong that it can substantially offset the negative effect of substitution on the nonreducing terminal Man residues. On the other

hand, the GlcNAc that is usually attached to Asn in N-glycans and the L-Fuc linked at the 6-position of the GlcNAc are irrelevant to the binding. A bisecting GlcNAc neither contributes to nor interferes with the binding. This unique binding specificity of CSL offers many possibilities of its use in analytical and preparative applications.

Keywords : *crocus sativus* lectin, (Man)₃GlcNAc

*¹ 近畿大学薬学部

*² Department of Biology, Johns Hopkins University

Hashimoto, O., Kawasaki, N., Tsutida, K.*¹, Shimasaki, S.*², Hayakawa, T., and Sugino, H.*¹ : **Difference between follistatin isoforms in the inhibition of activin signalling: Activin neutralizing activity of follistatin isoforms is dependent on their affinity for activin**

Cell. Signal., **12**, 565-571 (2000)

We demonstrate the difference between the follistatin isoforms (FS-288 and FS-315), two activin-binding proteins, in the neutralizing activity for activin signalling. Transcriptional reporter assay using 3TP-Lux, an activin-responsive reporter construct, showed that the inhibitory effect of FS-288 on activin-induced transcriptional response is more potent than that of FS-315. The potency was not influenced by the presence of heparan sulfates, by which FS, in particular FS-288, associates with cell surfaces at a high affinity. Furthermore, FS-288 inhibited the binding of activin to its type II receptor more markedly than did FS-315, as evidenced by surface plasmon resonance and affinity cross-linking experiments. Moreover, the K_d of FS-288 and FS-315 for activin A was estimated to be 46.5 \pm 0.37 pM and 432 \pm 26 pM, respectively, by surface plasmon resonance experiments. These results indicate that the different potency between the two FS isoforms in the inhibition of activin activities depends on their affinity for activin A.

Keywords: Follistatin, FS-288, FS-315

*¹ 徳島大学分子酵素学研究センター

*² School of Medicine, University of California

Kawai, H., Kotake, Y.*, and Ohta, S.* : **Inhibition of Dopamine Receptors by Endogenous Amines: Binding to Striatal Receptors and Pharmacological Effects on Locomotor Activity**

Bioorg. Med. Chem. Lett., **10**, 1669-1671 (2000)

Endogenous amine 1-benzyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (1BnTIQ) derivatives are synthesized, and their activity for dopaminergic systems are evaluated *in vitro* and *in vivo* by receptor binding assay and pharmacological tests. It is proposed that 1BnTIQ derivatives can act as endogenous dopaminergic antagonists.

Keywords: endogenous amine, dopamine receptor, locomotor activity

* 広島大学医学部

Kawai, H., Kotake, Y.*, and Ohta, S.* : **Dopamine transporter and catechol-O-methyltransferase activities are required for the toxicity of 1-(3',4'-Dihydroxybenzyl)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline**

Chem. Res. Toxicol., **13**, 1294-1301 (2000)

1-(3',4'-Dihydroxybenzyl)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (3',4'DHBnTIQ, 1) is an endogenous parkinsonism-inducing substance. It is taken up into dopaminergic neurons via the dopamine transporter, inhibits mitochondrial respiration and induces parkinsonism in mice. We synthesized four derivatives (aromatized, *N*-methylated, *N*-methyl-aromatized, and *O*-methylated, 2 - 5) and studied the cellular uptake and cytotoxicity of 1 - 5, as well as the metabolism of 1. All except the *O*-methyl derivative (5) were specifically taken up by the dopamine transporter, but 1 was taken up most efficiently. Relative to 1, oxidation reduced v_{max} , *N*-methylation markedly increased K_m , and *O*-methylation eliminated the uptake activity. Cytotoxicity of 1 - 5 was examined in a mesencephalic cell primary culture. Compound 1 reduced cell viability by nearly 80% at 100 μ M, but the other compounds had little or no effect on cell viability. *In vivo* and *in vitro* studies revealed that 1 was *O*-methylated by soluble catechol-*O*-methyltransferase (COMT). Aromatization and *N*-methylation of 1 were not observed. We found that dopamine transporter inhibitors and a COMT inhibitor each blocked the cytotoxicity of 1, indicating that uptake and *O*-methylation are both necessary for neurotoxicity. Thus, we consider that 1 is taken up into dopaminergic neurons via the dopamine transporter and then converted by COMT to 5, which has cytotoxic and parkinsonism-inducing activities.

Keywords: metabolism, dopamine transporter, parkinsonism

*広島大学医学部

Niimi, S., Takizawa, M.*, Sugimura, Y.*, Seki, T.*, Ariga, T.*, Kobayashi, T. and Hayakawa, T. : **Effect of lactacystin on the herbimycin-A-dependent decrease in glucocorticoid receptors in primary cultured rat hepatocytes**

Recent Res. Devel. Steroid Biochem. Mol. Biol., **1**, 53-62 (2000)

We previously showed that herbimycin A causes a decrease in glucocorticoid receptor (GR) level in primary cultured rat hepatocytes and suggested that the decrease was due to degradation of GR protein. In this paper, we examined the nature of the protease involved in the degradation by using a specific protease inhibitor. The proteasome-specific inhibitor lactacystin prevented the herbimycin-A-induced decrease in GR protein and binding capacity. Lactacystin also prevented the decrease in GR level during culture in the absence of herbimycin A. These results suggest that proteasome may be involved in herbimycin-A-dependent and independent decrease in GR protein.

Keywords: glucocorticoid receptor, proteasome, degradation

*日本大学生物資源科学部

Mizuguchi, H., Kay, M. A. *, and Hayakawa, T. : **In vitro ligation-based cloning of foreign DNAs into the E3 as well as E1 deletion region for generation of recombinant adenovirus vector**

BioTechniques, **30**, 1112-1116 (2001)

We develop a simple system that allows for the insertion of foreign genes into the E3 deletion region as well as into the E1 deletion region of adenoviral vector. By using this system, we constructed, as a model, a self-contained Ad vector carrying a tetracycline-regulatable gene expression system. The tet-responsive

transcriptional activator gene was inserted into the E3 deletion region, while the luciferase gene with a tetracycline-regulatable promoter was inserted into the E1 deletion region. Tetracycline-regulatable luciferase expression was observed in the cells transduced with such a vector. This single vector system, combined with tetracycline-regulatable gene expression system, should greatly facilitate the application of the adenovirus vector for gene therapy and gene transfer experiment.

Keywords: adenovirus vector, gene therapy

*Stanford University

Mizuguchi, H., Koizumi, N., Hosono, T., Utoguchi, U.*¹, Watanabe, Y.*¹, Kay, M. A.*², and Hayakawa, T. : **A simplified system for constructing recombinant adenoviral vectors containing heterologous peptides in the HI loop of their fiber knob**

Gene Ther., **8**, 730-735 (2001)

The use of recombinant adenovirus (Ad) vectors containing genetically modified capsid proteins is an attractive strategy for achieving targeted gene transfer. The HI loop of the fiber knob is a promising candidate location for the incorporation of foreign ligands for achieving this goal. However, the method of constructing an Ad vector containing a foreign ligand in the HI loop of the fiber knob has proven difficult. In this study, we developed a simple system to construct fiber-modified vectors. To do this, a vector plasmid containing a complete E1/E3-deleted Ad type 5 genome and a unique *Csp45I* and/or *ClaI* site between positions 32679 and 32680 of the Ad genome (residues threonine-546 and proline-547 of the fiber protein) was constructed. Oligonucleotides corresponding to the Arg-Gly-Asp (RGD) or Asn-Gly-Arg (NGR)-containing peptide motif (as a model) and containing a *Csp45I* and/or *ClaI* recognition site, were ligated into the *Csp45I* and/or *ClaI* digested plasmid. The simplicity of this method allows not only for easy construction of fiber-mutant Ad vectors, but also for screening of the peptides that target the vector to the desired cells and tissues.

Keywords: adenovirus vector, gene therapy, targeting

*¹昭和薬科大学

*² Stanford University

Okada, N.*¹, Tsukada, Y.*², Nakagawa, S.*², Mizuguchi, H., Mori, K.*¹, Saito, T.*¹, Fujita, T.*¹, Yamamoto, A.*¹, Hayakawa, T., and Mayumi, T.*² : **Efficient gene delivery into dendritic cells by fiber-mutant adenovirus vectors**

Biochem. Biophys. Res. Commun., **282**, 173-179 (2001)

Recent studies have demonstrated the usefulness of dendritic cells (DCs) genetically modified by adenovirus vectors (Ad) to immunotherapy, while sufficient gene transduction into DCs is required for high doses of Ad. The RT-PCR analysis revealed that the relative resistance of DCs to Ad-mediated gene transfer is due to the absence of Coxsackie-adenovirus receptor expression, and that DCs expressed adequate $\alpha(v)$ -integrins. Therefore, we investigated whether fiber-mutant Ad containing the Arg-Gly-Asp (RGD) sequence in the fiber knob can efficiently transduce and express high levels of the LacZ gene into DCs. The gene delivery by fiber-mutant Ad was more efficient than that by conventional

Ad in both murine DC lines and normal human DCs (NHDC). Furthermore, NHDC transduced with fiber-mutant Ad and conventional Ad at 8000-vector particles/cell resulted in a 70-fold difference in beta-galactosidase activity. We propose that alpha(v)-integrin-targeted Ad is a very powerful tool with which to implement DC-based vaccination strategies.

Keywords: adenovirus vector, gene therapy, dendritic cells

*1 京都薬科大学

*2 大阪大学大学院薬学研究科

Nakanishi, M.*¹, Akuta, T.*¹, Nagoshi, E.*¹, Eguchi, A.*¹, Mizuguchi, H., and Senda, T.*²: **Nuclear Targeting of DNA** *Eur. J. Pharmaceu. Sci.*, **13**, 17-24 (2001)

The nuclear membrane is a tight barrier for cytoplasmic proteins, but nuclear proteins have the intrinsic ability to overcome this barrier by an active signal-mediated process. Specific cytoplasmic carrier proteins have the responsibility to escort these proteins into the nucleus through the nuclear pore. The nuclear membrane is also a tight barrier for exogenous DNA delivered by synthetic vehicles, while many of the karyophilic viruses have a mechanism to actively deliver their genome through the nuclear pore. Virus DNA and RNA cannot move into the nucleus by themselves and require the viral structural proteins for efficient nuclear transport. In this article, we review the recent progress in understanding the mechanism of the nuclear transport of proteins and the virus genome, and discuss the possibility of developing synthetic gene-delivery systems based on these outcomes.

Keywords: adenovirus vector, gene therapy, dendritic cells

*1 大阪大学微生物病研究所

*2 名古屋大学医学部

Nagayama, Y.*¹, Nishihara, E.*¹, Namba, H.*¹, Yokoi, H.*¹, Hasegawa, M.*², Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Hamada, H.*³, Yamashita, S.*¹, and Niwa, M.*¹: **Targeting the replication of adenovirus to p53-defective thyroid carcinoma with a p53-regulated cre/loxP system**

Cancer Gene Ther., **8**, 36-44 (2001)

In this article, we evaluated the feasibility of the restricted replication-competent adenoviruses for treatment of anaplastic thyroid carcinomas (ATCs), which are very aggressive and difficult to treat. Because ATCs very often harbor p53 mutations, we used wt-p53 as a regulatory factor to restrict virus replication and cytopathic effect to p53-mutated cells. The recently reported "gene inactivation strategy" using p53-regulated Cre/loxP system was employed; this system consists of two recombinant adenoviruses. One has an expression unit of the synthetic p53-responsive promoter and the Cre recombinase gene (Axp53RECre), and another contains two expression units; the first consists of E1A gene flanked by a pair of loxP sites downstream of the constitutive CAG promoter and the second E1B19K gene under the control of the CMV promoter (AdCALE1AL). In vitro data demonstrate that although infection of AdCALE1AL alone led to E1A expression, viral replication and cytolysis in all the thyroid cells examined irrespective of their p53 status, the double infection did so in FRO cells (p53-null ATC) but not in FRO cells stably expressing wt-p53 and normal thyroid cells with wt-p53. These data indicate

that our double infection method may have a potential for treatment of ATC and probably also other p53-defective cancer cells.

Keywords: adenovirus vector, gene therapy, p53

*1 長崎大学医学部

*2 ディナベック研究所

*3 札幌医科大学

Imazu, S.*¹, Nakagawa, S.*¹, Nakanishi, T.*¹, Mizuguchi, H., Uemura, H.*², Yamada, O.*², and Mayumi, T.*¹: **A novel nonviral vector based on vesicular stomatitis virus** *J. Control. Release*, **68**, 187-194 (2000)

Here we report a simple and efficient method for nonviral gene transfer using liposomes which have envelope protein of vesicular stomatitis virus (VSV) on their surface (VSV-liposomes). We prepared VSV-liposome by fusing simple liposomes with VSV particles. To evaluate whether these particles can efficiently introduce their internal contents into the cytoplasm of mammalian cells, we examined the delivery of fragment A of diphtheria toxin (DTA) by VSV-liposomes into the cytoplasm of FL cells. We found that VSV-liposomes encapsulating DTA were highly cytotoxic to the cells, while empty VSV-liposomes and plain liposomes encapsulating DTA were not, suggesting that VSV-liposomes delivered DTA into cytoplasm. Consistent with this, the cells cultured with plasmid DNA entrapped in VSV-liposomes and coding for firefly luciferase showed significant luciferase expression, whereas cells culture with plasmid DNA in plain liposomes and plasmid DNA-cationic liposomes complex did not. Thus, VSV-liposomes function as a simple and efficient nonviral vector for the delivery of DNA.

Keywords: vesicular stomatitis virus, gene therapy

*1 大阪大学大学院薬学研究科

*2 扶桑薬品

Kondoh, M.*¹, Matsuyama, T.*¹, Suzuki, R.*¹, Mizuguchi, H., Nakanishi, T.*¹, Nakagawa, S.*¹, Tsutsumi, Y.*¹, Nakanishi, M.*², Sato, M.*³, and Mayumi, T.*¹: **Growth inhibition of human leukemia HL-60 cells by antisense phosphodiester oligonucleotide encapsulated into fusogenic liposome** *Biol. Pharm. Bull.*, **23**, 1011-1013 (2000)

We report here the antisense effect of phosphodiester oligodeoxynucleotide (D-ODN) using fusogenic liposomes (FL) as its carrier. Using antisense (AS) D-ODN 15-mer complementary to the c-myc proto-oncogene mRNA, including the translation initiation codon site, we analyzed the growth of HL-60 cells by [³H]-thymidine uptake. AS-ODNs encapsulated in FL inhibited the growth by about 70% that of the control HL-60 cells at 2.48 microM. In contrast, sense and scramble D-ODNs encapsulated in FL showed no effect of the growth of HL-60 cells at the same concentration. Even at 50 microM, free form D-ODNs did not show any effect. These results suggest that FL is potentially a useful delivery vehicle for oligonucleotide-based therapeutics, and that D-ODN may be a likely candidate for oligodeoxynucleotides when an efficient delivery system is used.

Keywords: vesicular stomatitis virus, gene therapy

*1 大阪大学大学院薬学研究科

*2 大阪大学微生物病研究所

*3 徳島文理大学薬学部

Eguchi, A.*¹, Kondoh, T.*², Kosaka, H.*³, Suzuki, T.*³, Momota, H.*⁴, Masago, A.*¹, Yoshida, T.*⁵, Taira, H.*⁶, Ishii-Watabe, A., Okabe, J.*¹, Hu, J.*¹, Miura, N.*⁷, Ueda, S.*¹, Suzuki, Y.*³, Taki, T.*⁴, Hayakawa, T., and Nakanishi, M.*¹: **Identification and characterization of cell lines with a defect in a post-adsorption stage of Sendai virus-mediated membrane fusion**

J. Biol. Chem. **275**, 17549-17555 (2000)

In the early stage of infection, Sendai virus delivers its genome into the cytoplasm by fusing the viral envelope with the cell membrane. Although the adsorption of virus particles to cell surface receptors has been characterized in detail, the ensuing complex process that leads to the fusion between the lipid bilayers remains mostly obscure. In the present study, we identified and characterized cell lines with a defect in the Sendai virus-mediated membrane fusion, using fusion-mediated delivery of fragment A of diphtheria toxin as an index. These cells, persistently infected with the temperature-sensitive variant Sendai virus, had primary viral receptors indistinguishable in number and affinity from those of parental susceptible cells. However, they proved to be thoroughly defective in the Sendai virus-mediated membrane fusion. We also found that viral HN protein expressed in the defective cells was responsible for the interference with membrane fusion. These results suggested the presence of a previously uncharacterized, HN-dependent intermediate stage in the Sendai virus-mediated membrane fusion.

Keywords: Sendai virus, fusion, HN protein

*¹ 大阪大学微生物病研究所

*² University College London

*³ 静岡大学薬学部

*⁴ 大塚製薬

*⁵ 広島大学医学部

*⁶ 岩手大学農学部

*⁷ 浜松医科大学

Kawahara, N., Nozawa M., Flores, D., Bonilla P.,*¹ Sekita, S. Motoyoshi Satake : **Sesterterpenoid from *Gentianella alborosea***

Phytochemistry, **53** (8) 881-884 (2000).

Gentianella alborosea and *G. nitida* (Gentianaceae), commonly known as "Hercampuri" or "Hircampure" are biennial medicinal plants growing in the Andes Region. The aqueous extracts of the whole plants have been used in traditional Peruvian folk medicine as a remedy for hepatitis, as a cholagogue and in treatment of. During our on going research on the plants above mentioned, we have isolated a novel sesterterpenoid, named alborosin, from the CHCl₃ extract of *G. alborosea*. The paper describes the structure elucidation of the above compound, occurring in the plant together with xanthenes and phenolic compounds.

Keywords: Hercampuri, *Gentianella alborosea*, alborosin

*¹Fucultad de Farmacia, Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Kuroyanagi, M.,*¹ Kazumasa Sugiyama,*² Kanazawa M.,*³

Kawahara N. : **Novel A-Seco-Rearranged Lanostane Triterpenoids from *Abies sachalinensis***

Chem. Pharm. Bull., **48** (12), 1917-1920 (2000).

From the needles of *Abies sachalinensis*, novel rearranged lanostane type triterpenes, 1-4, were isolated along with a known triterpene (5). The structures of the new compounds, 1-4, were elucidated to be 3,4-*seco*-8-(14→13*R*)*abeo*-17,13-*friedo*-9 β -lanosta-4(28),7,14(30),22*Z*,24-pentaen-26,23-olide-3-oic acid, methyl 3,4-*seco*-8-(14→13*R*)*abeo*-17,13-*friedo*-9 β -lanosta-4(28),7,14(30),22*Z*,24-penten-26,23-olide-3-oate, 3,4-*seco*-8(14→13*R*)*abeo*-17,13-*friedo*-9 β -lanosta-4(28),7,14,22*Z*,24-pentaene-26,23-olide-3-oic acid and methyl 3,4-*seco*-8(14→13*R*)*abeo*-17,13-*friedo*-9 β -lanosta-4(28),7,14,22*Z*,24-pentaene-26,23-olide-3-oate, respectively, by means of spectral experiments, especially two dimensional NMR spectroscopy, such as ¹H-detected multiple quantum coherence (HMQC), ¹H-detected heteronuclear multiple bond connectivity (HMBC) and ¹H-¹H-correlation spectroscopy (COSY) experiments. These new compounds have novel structures containing A-*seco*, rearranged spiro structure and a γ-lactone conjugated with a diene. Some of these compounds showed potent antibacterial activity against gram positive bacteria.

Keywords: *Abies sachalinensis*, Pinaceae, rearranged lanostane

*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

Yun Y. S., Sugimoto, N., Sekita S., Maitani T., Yamada T., Satake M.: **Two New Alkaloids from Cigarette Smoke Condensate**

Chem. Pharm. Bull., **48**, 1990-1991 (2000).

The structural elucidation of minor constituents in mainstream smoke of cigarette was carried out. After mainstream smoke was collected on the grass filters by inhalation apparatus "Hamburg II", the condensate was extracted by MeOH. Seven known alkaloids and two new alkaloids named Cigatin A (1) and B (2) were isolated. Their structures were determined, on the basis of spectral data and chemical method

Keywords: Cigarette, Cigatin A, Cigatin B

Tsuchiya, T.: **A useful marker for evaluating tissue-engineered products: Gap-junctional communication for assessment of the tumor-promoting action and disruption of cell differentiation in tissue-engineered products**

J. Biomater. Sci. Polymer Edn., **11** (9), 947-959 (2000)

An in vitro system for evaluating the safety of tissue-engineered products is a convenient because of its rapidity and low cost. On the basis of recent studies, intercellular channels called gap-junctions are considered to play an important role on the tumor-promotion stage during the tumorigenesis induced by polyurethanes. Further, we also demonstrate the significance of the intercellular communication during neuronal cell differentiation. From these results, we propose a survey of the function of the gap-junctional communication as a probable useful marker for evaluating the safety of tissue-engineered products.

Keywords: tissue-engineered products, cell differentiation, tumor-promotion

角出泰造, 土屋利江: 代謝協同試験によるソフトコンタクトレンズ用化学消毒剤の評価
生体材料, 19, 93-97 (2001)

For the evaluation of long-term safety of contact lens care solution used repeatedly for human eyes, inhibitory effects of chemical disinfectants on the gap-junctional intercellular communication (GJIC) were studied with the metabolic cooperation (MC) assay. Three types of contact lens care solutions were investigated using a colony formation test and MC assay, its ingredients, poloxamine and polyhexamethylenebiguanide (PHMB), were investigated as well. Poloxamine showed an inhibitory effect on the GJIC, whereas PHMB had no effect. The MC assay was concluded to be suitable for evaluating the inhibitory activity of GJIC at non-cytotoxic concentrations. To support this MC assay, further studies are needed to evaluate the long-term safety of contact lens care solutions.

Keywords: metabolic cooperation assay, colony formation test, polyhexamethylenebiguanide

Kondo, S.*, Haishima, Y., Ishida, K.*, Isshiki, Y.*, Hisatsune, K.*: **The O-polysaccharide of lipopolysaccharide isolated from *Vibrio fluvialis* O19 is identical to that of *Vibrio bioserogroup* 1875 Variant**
Microbiol. Immunol., 44, 941-944 (2000)

Vibrio bioserogroup 1875 Variant 株と同一の抗原性 (O1 コレラ菌イナバ因子 C, 1875 株共通抗原因子 D および E) を持つ新規分離株 *Vibrio fluvialis* O19 (Kobe 株) の LPS O- 抗原多糖部分のエピトープ構造解析を行った。その結果, Kobe 株の O- 抗原特異鎖は N-3-hydroxypropinyl-D-perosamine (4-amino-4,6-dideoxy-D-mannopyranose) の α (1 \rightarrow 2) 結合ホモポリマーにより構成されており, 1875 Variant 株 LPS O- 抗原特異鎖と同一の構造を持つことが明らかになった。

Keywords: LPS, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio bioserogroup* 1875

*城西大学

Haishima, Y., Hayashi, Y., Yagami, T., Nakamura, A.: **Elution of bisphenol-A from hemodialyzers consisting of polycarbonate and polysulfone resins**

J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater.), 58, 209-215 (2001)

ポリカーボネートおよびポリスルホン製血液透析器からのビスフェノール A (BPA) の溶出状況を検討するため, 原材料ペレット中の BPA 総含量試験, ウシ血清を含めた各種溶媒を使用したハウジングケースおよび血液透析器からの溶出試験を行った。BPA の溶出は全ての回収実験において認められたが, その溶出量は最大でも 2090 ng/modul (ウシ血清使用時) であり, 溶出した BPA による人体への影響は殆どないものと判断された。また, 血液透析器の実際の使用条件に最も近似した回収条件と思われるウシ血清循環と同等の BPA 溶出を与える簡易疑似溶媒組成を検討した結果, 17.2% エタノールが使用できることが明らかになった。

Keywords: bisphenol-A, hemodialyzer, endocrine disruptor

Haishima, Y., Murai, T., Nakagawa, Y., Hirata, M.*, Yagami, T., Nakamura, A.: **Chemical and biological evaluation of endotoxin contamination on natural rubber latex products**

J. Biomed. Mater. Res., 55, 424-432 (2001)

ラテックス製品による発熱とエンドトキシン (LPS) 汚染の相関性について検討した。ウサギ発熱活性を指標として市販ラテックス製品のサーベイ試験を行った結果, 数種の製品抽出液が発熱陽性を示した。これらの各抽出液の化学的性状 (エンドトキシン常成分の GC/MS 分析) および各種生物学的性状 (菌体成分分析, 発熱動態, ヒト由来単球様細胞株に対する各種サイトカイン産生誘導能, LPS 阻害剤による同誘導能の抑制試験, LPS 除去試験) に関して検討した結果, これらのラテックス製品には相当量の LPS が混入しており, 同製品による発熱は混在する LPS に由来していることが明らかになった。

Keywords: pyrogenicity, endotoxin, latex

*岩手医科大

Yagami, T., Kitagawa, K.*¹, Aida, C.*¹, Fujiwara, H.*¹, Futaki, S.*²: **Stabilization of a tyrosine O-sulfate residue by a cationic functional group: Formation of a conjugate acid-base pair**

J. Peptide Res., 56, 239-249 (2000)

硫酸化チロシン残基は, 蛋白質間の相互作用に重要な役割を果たすと考えられている。本研究では, 硫酸化チロシン残基と塩基性官能基との相互作用を MS と HPLC で調べた。硫酸化チロシン残基が塩基性残基とイオンペアを形成している場合, 気相及び液相中で脱硫酸化反応を起こしにくくなることから, 脱硫酸化の程度を基に相互作用の強さを推測することができる。まず, ペプチド中の塩基性残基数が増すにつれ, 脱硫酸化反応が起こりにくくなることが確かめられた。アルギニン残基はリジン残基よりも強い安定化能を示した。また, 複数のアルギニン残基と硫酸化チロシン残基との分子間相互作用が, MALDI-TOFMS スペクトルから確認された。以上の結果は, 特にアルギニン残基とイオンペアを形成することによる硫酸化チロシンの安定化が, 蛋白質のフォールディングや蛋白質間の相互作用を推進する力の一つとなっていることを示唆するものであった。

Keywords: tyrosine O-sulfate, acid-base pair, protein interaction

*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.*, Ikezawa, Z.*: **Digestibility of allergens extracted from natural rubber latex and vegetable foods**

J. Allergy Clin. Immunol., 106, 752-762 (2000)

天然ゴムラテックスや植物性食品に由来する交叉反応性アレルゲンの幾つかは, 植物の生体防御に関わる蛋白質であることが既に明らかにされている。一方, 遺伝子組み換え法など用いてこういった抵抗性蛋白質を人為的に発現させる試みが多くなされており, 農作物中のアレルゲン量が増加する可能性が懸念される。本研究では, 発現させた蛋白質が食物アレルゲンとなるかどうかを評価する手法の一つとして用いられている消化性試験により, 天然ゴムラテックスや植物性食品に含まれるアレルゲン蛋白質を実際に検出できるかどうかを調べた。その結果, ラテックスアレルギーあるいは口腔アレルギー症候群 (OAS) と診断された患者の IgE 抗体が認識する蛋白質抗原は, 必ずしも消化耐性を示さないことがわかった。この実験結果を基に, 消化試験は経口感作を成立させるような食物アレルゲンの検出法としては有効であ

るものの、感作抗原との交叉反応性に基づき、主に口腔症状を誘発するような食物アレルギーの検出法としては有効ではないと結論した。

Keywords: allergen, cross-reactivity, digestibility

*横浜市立大学医学部

Kitagawa, K.*¹, Aida, C.*¹, Fujiwara, H.*¹, Yagami, T., Futaki, S.*², Kogire, M.*³, Ida, J.*³, Inoue, K.*³: **Facile solid-phase synthesis of sulfated tyrosine-containing peptides: Total synthesis of human big gastrin-II and cholecystokinin (CCK)-39**

J. Org. Chem., **66**, 1-10 (2001)

硫酸化チロシンが酸性溶液中で非常に不安定であることから、この修飾残基を含むペプチドの化学合成は極めて困難であると考えられてきた。そこで本研究は、硫酸化チロシン含有ペプチドの一般的な化学合成法を確立することを目的に行われた。まず、アリアル硫酸エステルを酸性溶液中における脱硫酸化反応のメカニズムを基に、硫酸化チロシン残基が分解しないような酸脱保護反応の条件を詳細に検討した。その結果、イオン化能の高いトリフルオロ酢酸中で低温という条件では、脱硫酸化反応の速度が極めて小さいことを見いだした。そして、酸に鋭敏なクロロトリチル樹脂を用いる固相ペプチド合成法にこの酸脱保護条件を組合せ、硫酸化ペプチドの一般的で容易な合成法を確立し、ビッグガストリン-II や CCK-39 の化学合成に応用した。

Keywords: tyrosine O-sulfate, peptide synthesis, deprotection

*¹新潟薬科大学

*²京都大学化学研究所

*³京都大学医学部

Futaki, S.*¹, Suzuki, T.*¹, Ohashi, W.*¹, Yagami, T., Tanaka, S.*¹, Ueda, K.*¹, Sugiura, Y.*¹: **Arginine-rich peptides: An abundant source of membrane-permeable peptides having potential as carriers for intracellular protein delivery**

J. Biol. Chem., **276**, 5836-5840 (2001)

HIV-1 の Tat 蛋白に由来する塩基性ペプチド (48-60) には、細胞膜を通過し核に蓄積する傾向があることが知られている。この研究では、多数のアルギニン残基を持つ様々なペプチドが Tat (48-60) と同様な細胞膜透過作用を示すことを、マクロファージ RAW264.7 細胞の蛍光顕微鏡観察により見いだした。作用が認められたペプチドの例として、各種ウイルス蛋白の RNA 結合ドメインや、ロイシンジッパー蛋白の DNA 結合セグメント等が挙げられる。アルギニンを多く含むことを除き、これらのペプチドの 1 次構造や 2 次構造に共通性は認められなかった。また、細胞膜透過性は 4°C においても認められた。さらに、アルギニンを 8 残基ほど含むペプチドが最も効率的に細胞膜を通過することが、(Arg)_n (n=4~16) という合成ペプチドを用いた実験で明らかになった。一連の結果は、アルギニンを多く含むペプチドに、従来のエンドサイトーシス機構とは異なった共通の細胞膜透過機構がある可能性を示唆するものであった。

Keywords: internalization, protein delivery, translocation

*京都大学化学研究所

中島晴信^{*1}, 松永一朗^{*1}, 宮野直子^{*1}, 宮内留美^{*2}, 糴川日出男^{*2}, 増田ゆり^{*2}, 伊佐間和郎, 五十嵐良明, 鹿庭正昭: **抗菌防臭加工剤の安全性評価に関する研究—大阪府にお**

る抗菌製品の市場実態調査 (1991 年度から 1999 年度) —大阪府立公衛研所報, 38, 21-32 (2000)

抗菌防臭加工剤の安全性評価の一環として、大阪府における抗菌製品の市場実態調査を 1991 年度から 1999 年度にかけて行った結果、抗菌製品において抗菌剤名が具体的に表示されたものが少なく、消費者が抗菌剤に関する情報をほとんど得ることができない実態が明らかにされた。

*¹大阪府立公衆衛生研究所

*²大阪府健康福祉部環境衛生課

Huh, W.-K.*¹, Masuji, Y.*², Tada, J.*¹, Arata, J.*¹, Kaniwa, M.: **Allergic contact dermatitis from a pyridine derivative in polyvinyl chloride leather**

Am. J. Contact Dermatitis, **12**(1), 35-37 (2001)

椅子の表地として使用されたポリ塩化ビニル製合成皮革 (ビニルレザー) によって大腿部にアレルギー性接触皮膚炎を生じた事例において、ビニルレザーの抗菌処理に使用されたピリジン系抗菌剤の 2,3,5,6-tetrachloro-4-(methylsulfonyl)pyridine が原因化学物質であったことを明らかにした。

Keywords: household product, allergic contact dermatitis, antimicrobial agent

*¹岡山大学医学部皮膚科

*²岡山協立病院皮膚科

五十嵐良明, 鹿庭正昭, 中村晃忠: **椅子張り地に用いられる人工皮革中の抗菌剤 10,10'-oxybis-10H-phenoxarsine の分析**

YAKUGAKU ZASSHI, **120**, 795-799 (2000)

最近、抗菌剤 10,10'-oxybis-10H-phenoxarsine (OBPA) を使用したポリ塩化ビニル (PVC) 製の椅子用張り地によってアレルギー性接触皮膚炎を起こした症例が報告されたことから、原因物質を特定するため人工皮革中の OBPA の定量法を開発した。OBPA はメタノールで抽出し、酸化アルミニウムカラムにかけ、ジエチルエーテル:ヘキササンで洗浄後、エタノール:ヘキササンで溶出した。溶出物はメタノールに溶解後、ODS カラムと UV 検出器 (波長 300nm) をつけた HPLC に注入した。OBPA の検量線は 0.1~100 µg/ml の範囲で直線性が得られ、検出限界及び定量限界はそれぞれ 0.07 及び 0.25 µg/g であった。本方法を用いて椅子張り地に用いられる 8 種の PVC シートを分析した結果、2 種からそれぞれ 52.7, 84.9 µg/g の OBPA を検出したが、皮膚炎を起こした PVC 製品から OBPA は検出されなかった。

Keywords: antimicrobial, poly(vinyl chloride), HPLC

Ikarashi, Y., Kaniwa, M.: **Determination of p-phenylenediamine and related antioxidants in rubber boots by high performance liquid chromatography. Development of an analytical method for N-(1-methylheptyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine**

J. Health Sci., **46**, 467-473 (2000)

We developed a method for the determination of PPD derivatives, such as N-(1-methylheptyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine (MHPPD), N-isopropyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine (IPPD) and N-1,3-dimethylbutyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine (DMBPPD). The PPD derivatives were extracted from rubber boots with acetone:chloroform (1:1). The extract was loaded then on to a silica-gel column. MHPPD and DMBPPD were eluted in

the diethylether:hexane (10:90) fraction. IPPD was detected in the diethylether:hexane (20:80) fraction. Each fraction was subjected to HPLC with an ODS column and a UV detector (detection wavelength 290 nm). The mobile phase was methanol:water (85:15). MHPPD was not found in any of the rubber boots, but DMBPPD and IPPD were detected.

Keywords: *p*-phenylenediamine, antioxidant, HPLC

Ikarashi, Y., Tsuchiya, T., Kaniwa, M., Nakamura, A.: **Activation of osteoblast-like MC3T3-E1 cell responses by poly(lactide)** *Biol. Pharm. Bull.*, **23**, 1470-1476 (2000)

This study examined the osteoblast-like MC3T3-E1 cell responses to poly(DL-lactide) (PDLLA) and poly(L-lactide)(PLLA) with different weight average molecular weight (Mw). The protein, DNA and hydroxyproline (HYP) content and alkaline phosphatase (ALP) activity for cells cultured on the PLLA (Mw. 270000 or 1370000) were almost similar to those on glass. The ALP activity of the cells cultured on low Mw PLLA (Mw. 20000) increased. The addition of low Mw PDLLA (Mw. 5000 or 10000), L-lactide or L-lactic acid into culture increased the protein, DNA and HYP content and ALP activity for cells. The release of L-lactic acid from PLLA and PDLLA into aqueous solution during incubation was little. These results suggested that increased osteoblast differentiation was induced by low Mw PDLLA and PLLA, and these may be used as a effective material in the field of orthopedic and drug delivery systems for the treatment of bone diseases.

Keywords: poly(DL-lactide), poly(L-lactide), osteoblast

Takayama, M.*, Hayashi, Y.: **Prediction of measurement precision based on FUMI theory for quantitative mass spectrometry with electron ionization**

J. Mass Spectrom. Soc. Jpn., **48**, 248-253 (2000)

The precision or relative standard deviation (RSD) of measurements in a sector type mass spectrometer equipped with an electron ionization system is examined experimentally and theoretically. The observed RSD is obtained by the usual replication and the theoretical RSD is predicted from the probabilistic properties of the baseline noise by the uncertainty theory called the FUMI theory (Function of Mutual Information). The peak corresponding to the limit of detection (RSD = 33%) is demonstrated.

Keywords : precision, mass spectrometry, FUMI theory

*東邦大学

Shintani, H : **Pretreatment and chromatographic analysis of phthalate esters and their biochemical behavior in blood products**

Chromatogr., **52**, 721-726 (2000)

医療器具に用いられているポリ塩化ビニルの可塑剤であるフタル酸エステルの内分泌攪乱作用が問題になっている。本論文では血液バッグからのフタル酸ジエステル, フタル酸モノエステルならびにフタル酸が血液中の酵素によって生成する。これらの成分をHPLC法で分離, 分析した。またそれらの成分の選択的な固相抽出前処理法を開発した。

Keywords : phthalate esters, blood products, solid phase extraction

Shintani, H : **Determination of the endocrine disrupter bisphenol-A in the blood of uremia patients treated by dialysis** *Chromatogr.*, **53**, 331-333 (2001)

透析患者に使用されている人工透析器にはポリサルフォン, ポリカーボネート, ポリスチレンなどが使用されている。これらは内分泌攪乱作用を有すると言われている。Bisphenol-Aならびにスチレンオリゴマーなどを含んでいる。本論文では人工透析器からのBisphenol-A, スチレンオリゴマーならびにシクロスチレンオリゴマーの放射線滅菌ならびに高圧蒸気滅菌での生成とその安全性について議論した。

Keywords : bisphenol-A, endocrine disrupter, artificial dialyzer

Shintani, H, Akers J.E.*: **On the cause of performance variation of biological indicator used for sterility assurance**

PDA J. Pharm. Sci. Technol., **54**, 332-342 (2000).

生物指標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抵抗値 (D 値) の差の原因について調べた。

Keywords : biological indicator, D value, variation

*Akers Kennedy & Associates

Sasaki, K.*¹, Shintani, H., Itoh, J.*²: **Effect of calcium in assay medium on D value of *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953 spores**

Appl. Environm. Microbiol., **66**, 5509-5513 (2000)

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わかりかたにされていない。著者らは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量の差によることを究明した。

Keywords: sterility assurance, calcium ion, culture medium

*¹エーザイ (株) 美里工場

*²ベクトンデケンズン (株) 福島工場

Kim, J.-G.*¹, Lee, Y.-W.*², Kim, P.-G.*³, Roh, W.-S.*⁴, Shintani, H.: **Reduction of aflatoxins by Korean soybean paste and its effect on cytotoxicity and reproductive toxicity-Part 1. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* by Korean soybean paste (Doen-jang) and identification of the active component**

J. Food Production, **63**, 1295-1298 (2000)

The inhibitory effect of methanol extract of Korean soybean paste on the mold growth and aflatoxin production of a toxigenic strain of *Aspergillus parasiticus* ATCC 15517 was studied using different concentrations of the extract in yeast-extract sucrose broth.

Keywords: soybean paste, aflatoxin, *Aspergillus parasiticus*

*¹Department of Public Health, Keimyung University, Taegu

*²Graduate School of Public Health, Seoul National University

*³Department of Environmental Health, Yongin University

*⁴Korea Health Industry Development Institute

安藤正典:インド・バングラディッシュにおける地下水ヒ素汚染と健康影響

公衆衛生研究, 49(3), 266-274 (2000)

平成 4 年に水道水質基準の改正が行われたが, ヒ素は地下水の利用や温泉排水などの混入によって水質基準を超える可能性の高い原水が多く存在していることが明らかになってきた。更に最近, US. EPA ではヒ素のリスクアセスメントにおける暴露評価の結果から高いリスクがあることが明らかで基準値の見直しを検討中である。著者は国際協力事業の一つとして, インドやバングラディッシュの西ベンガル周辺地域における地下水ヒ素汚染に伴う健康影響の改善のためヒ素の自然環境での挙動, 健康影響及び暴露量を考察すると共に, ヒ素の地下水汚染の現状と課題の概要についてインド西ベンガル州の状況について述べた。

Keywords : arsenic, India, contamination of ground water

安藤正典, 徳永裕司:化粧品将来に向けての産官学の共同研究の展望

フレグランスジャーナル, 29(1), 37-40 (2001)

化粧品の規制緩和が 2001 年 4 月を目指して, 秒読み体制に入り, 化粧品の承認許可制度に大きな変革の波が押し寄せている。従来は, 化粧品の新規原料に関して, その安全性の面から, 化粧品の使用の承認・許可を行ってきたが, 化粧品の規制緩和以降は, 製造, 品質確保, 安全性確保などに関し企業の自己責任を前提に, 消費者への化粧品の安全性と有効性の情報の提供を充実させることが大きな狙いとなっている。本編では 21 世紀を展望した化粧品の在り方あるいは化粧品に関する産官学の共同研究の在り方を展望する。

Keywords : cosmetics, efficacy, effectiveness

安藤正典, 五十嵐良明, 鎌田栄一:ホルムアルデヒドの暴露評価と健康影響

アレルギーの臨床, 21(2), 113-118 (2001)

生活環境には数え切れないほどの化学物質や微生物その他の生物が存在し, その発生源も極めて多様な挙動を示している。これらの化学物質や生物は, 食品, 水などを介して経口的に, また居住空間や労働環境の空気あるいは大気を通して経気道的に, 更に化粧品等の故意の接触や家庭用品や建築資材などの居住環境を通して経皮的にヒトを絶えず暴露している。

特に, 室内空气中に多く存在する化学物質は濃度も高く, しかも飲食に伴う食品や水などのように間欠的摂取による暴露ではなく 1 日の大部分を継続して暴露している。このことから, 室内空气中化学物質が健康に影響を及ぼす可能性について懸念されることは当然であり, その結果としてシックハウス症候群や化学物質過敏症として知られる疾病の発症原因として取り扱われている。特に, ホルムアルデヒドはその代表的化学物質で, 目や粘膜などに対する刺激性と共に, アレルギーとの関連性が指摘されている。本稿では, こうしたホルムアルデヒドによる発症要因や健康影響を検討すると共に, アレルギーとの関連性について紹介した。

Keywords : formaldehyde, risk assessment, carcinogenicis

安藤正典:水質管理の課題とその対応

資源環境対策, 37(3), 242-246 (2001)

2000 年末, 生活環境審議会 (厚生省の諮問機関) は, ①

水道事業の一部を第三者に委託することを可能にすること, ②水道による専用水道の規制対象を居住人口 (100 人以上) から, それと同等の給水の能力がある水道も加えること, ③未規制の小規模受水槽 (10m³以下) 水道の管理の充実, ④水道事業における情報提供の制度的位置づけ, などの水道法一部改正について答申した。これを受けて厚生労働省は水道法の改正案を提出する予定である。

このような新たな施策を推進することは, きわめて好ましいことではあるが, このことはひるがえると旧来の水道における水質管理の在り方に大きな課題を突きつけられたことに他ならない。本稿では, 厚生労働省が新たに施行するに至った水質管理について水道事業体の観点からの問題点を考えてみる。

Keywords : control of drinking water quality, water sources, drinking water treatment

安藤正典:室内化学物質の毒性と対策

建築雑誌, 116(4), 75 (2001)

室内空气中に存在する化学物質によって, シックハウス症候群や化学物質過敏症などの疾病が発生する可能性が高いことが社会的に大きな問題となっている。これらの疾病は, 慢性的な微量・長期又は多量・短気暴露によって誘発され, それ以降, 微量で発症すると考えられている。しかしながら, 室内空気に関連する疾病であるシックハウス症候群は, それと関連すると思われる揮発性有機化合物の特定あるいはそれらの毒性が動物実験によって証明されているわけではなく, まして, 暴露量と健康影響の量的関連性が示されているわけでもない。本稿では, 室内化学物質の有害性の指摘と, その有害性を回避する対策としてのガイドライン値設定の骨組みを紹介した。

Keywords : indoor air, guideline, sick house syndrom

熊谷一清^{*1}, 坊垣和明^{*2}, 池田耕一^{*3}, 堀 雅宏^{*4}, 松村年郎, 飯倉一雄^{*5}, 吉澤 晋^{*6}:実大実験住宅における内装材の室内化学物質濃度に及ぼす影響に関する研究

日本建築学会計画系論文集, 第 542 号, 77-83, (2001)

実大実験住宅において, 各施行段階ごとの気中濃度を測定し, 内装材の室内汚染に及ぼす影響を検討した。更に, 使用する材料の放散量, 使用する建材・工法の放散量に及ぼす影響, 材料の組み合わせに違い, 外的条件 (温湿度) の影響, 放散量低減対策の効果など, 総合的に検討し, 内装材の室内汚染に及ぼす影響を明らかにした。

Keywords : voc, building material, full sized experiment

*1 東京大学工学部

*2 建築研究所

*3 国立公衆衛生院

*4 横浜国立大学教育人間科学部

*5 東北文化学園大学科学技術学部

*6 愛知淑徳大学建築学部

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

日本化粧品技術者会誌, 34, 255-260 (2000)

化粧品に含まれると想定される内分泌かく乱化学物質のビスフェノール A (BA) の経皮級的な検討を行った。モルモットの腹部の剥離皮膚を Franz 型拡散セルに装着した donor

側に10mMドデシル硫酸ナトリウム溶液,10mM塩化ベンザルコニウム(BK)溶液あるいは0.5%ポリオキシエチレン(10)オレイルエーテル(POE,OE)溶液を加え,32°Cで2時間放置した.donor側の界面活性剤を除き,0.05%BA溶液を加え,32°Cで14~24時間後にreceptor側に透過してくるBAをHPLC法で測定した.また,同様に0.05%BAを含む各種界面活性剤を用いて32°Cで14~24時間後にreceptor側に透過してくるBAをHPLC法で測定した.HPLC条件は,Unisil Q C₁₈(4.6mm i. d. × 150mm)カラム及び水/アセトニトリル混液(3:2)を用い,蛍光検出器(励起波長:280nm,蛍光波長:305nm)にて測定を行った.界面活性剤のBK及びPOE,OEで2時間処理された剥離皮膚でのBAのfluxは1.6及び1.2倍と増加した.また,BAを界面活性剤BKあるいはPOE,OEと共存させた場合,fluxが0.1倍及び0.22倍と著しく低下した.

Keywords: bisphenol A, skin permeation, Franz type diffusion cell

Samanta,G,Chowdhury,UK.*,Mandal,BK.*,Chakraborti,D.*,Chandra S,N.,Tokunaga,H.,Ando,M.: **High performance liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry for speciation of arsenic compounds in urine**
Microchem.J., **65**, 113-127(2000)

A high performance liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry(HPLC-ICP-MS) system for speciation of arsenic, arsenate, monomethyl arsonic acid, dimethylarsenic acid and arsenobetaine in a single run in urine samples has been developed. Detection limits for the five arsenic species in urine samples are between 0.01 and 0.04 µg/l. To validate the method, SRM2670 containing both normal and elevated levels of arsenic have been analyzed for arsenic species. The method has been applied to determine the arsenic species in urine samples of two groups of people from two arsenic-affected villages of two districts, out of the nine affected districts of West Bengal, India. From their urine speciation, the nature of exposure of individuals to arsenic compound could be predicted. It is concluded that, even though these groups are using safe water, they cannot avoid, from time to time, arsenic contamination as any water sources of the surrounding areas are arsenic contaminated.

Keywords: arsenic species in urine samples, HPLC-ICP-MS

*Jadavpur University

内野 正, 徳永裕司, 安藤正典: **高速液体クロマトグラフィーによる化粧水, 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定量**

粧技誌, **34**, 261-266 (2000)

塩酸プロカイン及び塩酸ジブカインは局所麻酔剤として広く用いられているが, 昭和61年の厚生省通知(昭和61年3月12日薬審2第100号)により化粧品への配合禁止成分となっている. 我々は配合禁止成分の有無を効率よく確認し, 化粧品の安全性を確保するために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を確立し, 化粧品への応用について検討した. 化粧水や乳液及びクリーム中の塩酸プロカイン又は塩酸ジブカインを水又はメタノールで抽出し, ODSカラム(Shiseido CAPCELL PACK C₁₈, 4.6 × 250mm), 移動相として50mMリン酸塩緩衝液(pH 5)/アセトニトリル混液(37:3)又は(65:35), 検出器と

して紫外吸光度計(測定波長296nm又は228nm)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, 化粧水や乳液及びクリーム中の塩酸プロカイン又は塩酸ジブカインを原料の影響もなく定量することが出来ることを明らかにした.

Keywords: procaine hydrochloride, dibucaine hydrochloride, HPLC

Hanioka, N., Tanaka-Kagawa, T., Chung, Y.S., Nishimura, T., Jinno, H., Ando M.: **Changes in hepatic cytochrome P450 enzymes by biodegradation products of 4-tert-octylphenol polyethoxylate in rats.**

Bull. Environ. Contam. Toxicol., **64**, 804-810 (2000)

The effects of some biodegradation products of 4-tert-octylphenol polyethoxylate (OPEO), namely 4-tert-octylphenol (OP), 4-tert-octylphenol diethoxylate (OP2EO) and 4-tert-octylphenol monocarboxylate (OP1EC), on hepatic cytochrome P450 enzymes in rats were studied. Among the cytochrome P450-dependent monooxygenase activities, testosterone 2 α -hydroxylase activity, was significantly decreased by OP, OP2EO and OP1EC. CYP3A2-dependent monooxygenase, testosterone 6 β -hydroxylase activity was also decreased by 50% by OP. Furthermore, immunoblotting showed that OP significantly decreased by 49 and 43%, the CYP2C11/6 and 3A2/1 protein level, respectively. By contrast, CYP1A1/2-, 2A1/2-, 2B1-, 2D1-, 2E1- and 4A1/2/3-dependent monooxygenase activities were not affected by any OPEO biodegradation product. These results suggest that OPEO biodegradation products change the male-specific cytochrome P450 isoform(s) in rat liver (OP > OP1EC = OP2EO), and that these changes may relate to the toxicity of OPEO and its biodegradation products.

Keywords: Cytochrome P450; 4-tert-Octylphenol

Hanioka, N., Tatarazako, N.*, Jinno, H., Arizono, K.*, Ando, M.: **Determination of cytochrome P450 1A activities in mammalian liver microsomes by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection.**

J. Chromatogr. B., **744**, 399-406 (2000)

A sensitive method for the determination of CYP1A activities such as ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) and methoxyresorufin O-demethylase (MROD) in liver microsomes from human, monkey, rat and mouse by HPLC with fluorescence detection is reported. The newly developed method was found to be more sensitive than previous methods. The detection limit for resorufin was 0.80 pmol/assay. Intra-day and inter-day precisions (RSD) were less than 6% for both enzyme activities. With this improved sensitivity, the kinetics of EROD and MROD activities in mammalian liver microsomes could be determined more precisely. EROD activities in human and monkey liver microsomes, and MROD activities from all animal species exhibited a monophasic kinetic pattern, whereas the pattern of EROD activities in rat and mouse liver microsomes was biphasic. Therefore, this method is applicable to *in vivo* and *in vitro* studies on the interaction of xenobiotic chemicals with CYP1A isoforms in mammals.

Keywords: Cytochrome P450; EROD; MROD

*Prefectural University of Kumamoto

Hanioka, N., Jinno, H., Tanaka-Kagawa, T., Nishimura, T., Ando, M.: **Determination of UDP-glucuronosyltransferase UGT1A6 activity in human and rat liver microsomes by HPLC with UV detection.**

J. Pharm. Biomed. Anal., **25**, 65-75 (2001)

A simple and sensitive method for the determination of UDP-glucuronosyltransferase UGT1A6 activity using 4-methylumbelliferone (4-MU) and 4-nitrophenol (4-NP) as substrates in human and rat liver microsomes by HPLC with UV detection is reported. The method was validated for the determination of 4-methylumbelliferyl b-D-glucuronide (4-MUG) and 4-nitrophenyl b-D-glucuronide (4-NPG). The method was found to be more sensitive than previous methods using a spectrophotometer, a spectrofluorimeter and HPLC. The detection limit for 4-MUG and 4-NPG was 14 and 23 nM, respectively. The intra- and inter-day reproducibility (RSD) of UGT1A6 enzyme assay in liver microsomes was less than 6%. With this improved sensitivity, the kinetics of UGT activities toward 4-MU and 4-NP in human and rat liver microsomes could be determined more precisely. Therefore, this method is applicable to *in vivo* and *in vitro* studies on the interaction of xenobiotic chemicals with UGT1A6 isoform in mammals using small amounts of biological samples.

Keywords: UDP-Glucuronosyltransferase; 4-MU; 4-NP

豊田正武, 酒井 洋^{*1}, 小林ゆかり^{*1}, 小松雅美^{*1}, 星野庸二^{*2}, 堀江正一^{*2}, 佐伯政信^{*3}, 長谷川康行^{*3}, 辻 元宏^{*4}, 小嶋美穂子^{*4}, 豊村敬郎^{*5}, 熊野眞佐代^{*5}, 谷村顕雄^{*6}: **日本人の食事経由のトリブチルスズ、ジブチルスズ、トリフェニルスズ及びジフェニルスズ化合物の摂取量**
食品衛生学雑誌, **41**, 280-286 (2000)

4種有機スズ化合物の人体暴露量を推定することを目的にトータルダイエツトスタディーによる14食品群中の濃度を測定した。1998年度の1日摂取量はTBTCが平均1.73(範囲0~4.70) µg/人, DBTCが平均0.45(範囲0~1.72) µg/人, TPTCが平均0.09(範囲0~0.25) µg/人, DPTCが0 µg/人であった。TBTC及びTPTCはほとんど10群(魚介類)由来であり, 本群の1日摂取量の経年変化を7年間にわたり調べた。1998年度にTBTCは1991年度の1/2に低下し, TPTCは1/44(約2%)に低下した, TBTCの1日摂取量は我が国のTBTOの暫定ADIの2%に相当した。TPTCの平均1日摂取量は, JMPRのADIの0.3%相当であった。

Key words: organotin compounds, tributyltin, triphenyltin, total diet study, daily intake

^{*1} 新潟県保健環境科学研究所

^{*2} 埼玉県衛生研究所

^{*3} 千葉県衛生研究所

^{*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

佐々木久美子, 辰濃 隆^{*1}, 中村宗知^{*2}, 今澤 剛^{*3}, 大島辰之^{*4}, 近藤安昭^{*5}, 田形 肇^{*6}, 千葉 実^{*7}, 松田りえ子, 豊田正武: **食品衛生法告示エスプロカルブ等5農薬試験法の評価**
食品衛生学雑誌, **41**, 219-223 (2000)

エスプロカルブ等5農薬の告示試験法評価のために共同実験を行った。6分析機関で5農薬を添加した玄米等8作物を分析したときの各農薬回収率の平均値は87.2~102.2%, 併行精度及び室間再現精度の相対標準偏差はそれぞれ1.1~9.6%, 7.9~17.3%と良好な結果が得られた。8作物試験液のガスクロマトグラムには妨害ピークは検出されなかった。平均的な検出限界値は0.001~0.005 µg/gであった。

Keywords: method-performance study, notified analytical method, esprocarb

^{*1} 日本食品衛生協会

^{*2} 日本食品分析センター

^{*3} 東京顕微鏡院

^{*4} 日本油料検定協会

^{*5} 日本食品衛生協会食品衛生研究所

^{*6} 日本冷凍食品検査協会

^{*7} 日本穀物検定協会

佐々木久美子, 辰濃 隆^{*1}, 中村宗知^{*2}, 穴沢 昭^{*3}, 今澤 剛^{*4}, 宇都宮 領^{*5}, 後藤修宏^{*6}, 田形 肇^{*7}, 寺澤真二^{*8}, 松田りえ子, 豊田正武: **食品衛生法告示臭素試験法の評価**
食品衛生学雑誌, **41**, 224-227 (2000)

臭素の告示試験法評価のために共同実験を行った。6機関で臭素を添加した玄米等4作物を分析したとき, 平均回収率は88.0~89.9%であった。併行精度及び室間再現精度の相対標準偏差はそれぞれ1.7~5.2%, 10.4~12.7%であった。4農作物の臭素試験液のクロマトグラムには妨害ピークは検出されなかった。検出限界値は操作ブランクの変動に依存し, 0.2 µg/g以下であった。

Keywords: method-performance study, notified analytical method, bromine

^{*1} 日本食品衛生協会

^{*2} 日本食品分析センター

^{*3} 東京都予防医学協会

^{*4} 東京顕微鏡院

^{*5} 食品環境検査協会

^{*6} 日本海事検定協会

^{*7} 日本冷凍食品検査協会

^{*8} 日本油料検定協会

佐々木久美子, 辰濃 隆^{*1}, 中村宗知^{*2}, 穴沢 昭^{*3}, 宇都宮 領^{*4}, 近藤安昭^{*5}, 千葉 実^{*6}, 三浦嘉巳^{*7}, 松田りえ子, 豊田正武: **食品衛生法告示ダミノジッド試験法の評価**
食品衛生学雑誌, **41**, 228-232 (2000)

ダミノジッド(DZ)告示試験法の評価のために共同実験を行った。6機関でDZを添加した玄米等5作物を分析したとき, 平均回収率は69.2~84.4%であった。併行精度及び室間再現精度の相対標準偏差はそれぞれ4.1~5.5%, 7.4~11.8%であった。5農作物のDZ試験液のクロマトグラムには妨害ピークは検出されなかった。検出限界値はGC-NPDの状態に依存し, 0.1 µg/g以下であった。

Keywords: method-performance study, notified analytical method, daminozide

^{*1} 日本食品衛生協会

^{*2} 日本食品分析センター

^{*3} 東京都予防医学協会

*4 食品環境検査協会

*5 日本食品衛生協会食品衛生研究所

*6 日本穀物検定協会

*7 千葉県薬剤師会検査センター

根本 了, 佐々木久美子, 衛藤修一^{*1}, 斎藤 勲^{*2}, 酒井洋^{*3}, 高橋哲夫^{*4}, 外海泰秀, 永山敏廣^{*5}, 堀伸二郎^{*6}, 前川吉明^{*7}, 豊田正武: GC/MS (SIM) による農作物中 110 農薬の一斉分析法

食品衛生学雑誌, 41, 233-241 (2000)

農作物からアセトニトリル抽出後, GPC及びカートリッジカラムによるクリーンアップを行い, GC/MS (SIM) 測定する 110 農薬の一斉分析法を作成した。6 農作物に 4 又は 5 分析機関で添加回収試験を行った結果, 各農薬の回収率データ中 70~120% の良好な結果を示したデータが全体の 70% 以上を占めた農薬は 77 種であった。各農薬の検出限界値は 0.0004~0.08 µg/g 以下であった。

Keywords: agricultural product, pesticide residue, multiresidue analysis

*1 北九州市環境科学研究所

*2 愛知県衛生研究所

*3 新潟県保健環境科学研究所

*4 北海道立衛生研究所

*5 東京都立衛生研究所

*6 大阪府立公衆衛生研究所

*7 日本食品分析センター

根本 了, 高附 巧, 佐々木久美子, 豊田正武: 市販魚中のノニルフェノールの分析

食品衛生学雑誌, 41, 377-380 (2000)

6 店舗で購入した市販魚のノニルフェノール (NP) 汚染を調査した結果, 35 検体中 24 検体から 9~800ng/g の NP が検出された (検出限界 8 ng/g)。購入した店舗間で魚の NP 汚染に差が認められたことから, 包装材の n-ヘプタンによる溶出試験を行った。その結果, NP が検出された魚の包装に使用されていたラップフィルムから 70~931ng/cm² の NP が溶出したが, NP 不検出の魚の包装ラップフィルムからはほとんど溶出しなかった。耐衝撃性ポリスチレン製トレイからも NP が溶出したが, トレイと魚汚染レベルとの関連性は低かった。これらの結果から魚の NP 汚染には包装材, 特にラップフィルムからの移行の関与が強く示唆された。

Keywords: fish, nonylphenol, wrapping film

今中雅章^{*1}, 佐々木久美子, 根本 了, 植田英一^{*2}, 村上恵美子^{*2}, 宮田大典^{*2}, 外海泰秀: GC/MS による各種食品中のビスフェノール A の分析

食品衛生学雑誌, 42, 71-78 (2001)

各種食品中のビスフェノール A をアセトンで抽出, クリーンアップ後, ヘプタフルオロ酪酸で誘導体化し, GC/MS (SIM) で定量する汎用性のある分析法を確立し, 加工食品, 生鮮食品など 95 検体の実態調査を行った。その結果, 缶詰, 生鮮魚介類, 肉類, コンビニ弁当からそれぞれ痕跡量~602ng/g, 痕跡量~6ng/g, 痕跡量~2ng/g 及び痕跡量のビスフェノール A が検出された。一方, 乳製品, 野菜, 果実, 精白米からは検出されなかった。

Keywords: bisphenol A, GC/MS, fresh food

*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, 堤 智昭, 佐々木久美子, 豊田正武: HPLCによる農産物中のAcibenzolar-S-methyl及び分解物の分析法

食品衛生学雑誌, 41, 381-386 (2000)

HPLCによる農産物中のアシベンゾラル-S-メチル(BTH)及び分解物のbenzo[1,2,3]thiadiazole-7-carboxylic acid (BTC)の分析法を確立した。試料からリン酸緩衝液 (pH8.0) とアセトンで抽出後, BTHは塩基性溶液 (pH7.5~8.5) からエーテルヘキサン (1:1) で再抽出し, BTCはリン酸酸性溶液 (<pH3) から同溶媒で再抽出した。BTHは脱脂後, フロリジルで精製した。BTCは, 直接フロリジルで精製した。UV検出器付きHPLC及びLC/MSで測定を行った。

米, 麦及びトウモロコシに BTH 又は BTC を 0.1 µg/g 添加したときの回収率は, 平均 76.8~86.7%, 標準偏差は 0.3~2.7% であった。検出限界は UV 検出器付き HPLC で 0.003 µg/g (BTH) 及び 0.008 µg/g (BTC) であった。

Keywords: pesticide residue, HPLC, acibenzolar -S- methyl

豊田正武, 堤 智昭, 柳 俊彦^{*1}, 河野洋一^{*1}, 内部博泰^{*1}, 堀 就英^{*2}, 飯田隆雄^{*2}: 野菜中ダイオキシン類測定における振とう抽出法と還流抽出法の比較

食品衛生学雑誌, 41, 316-320 (2000)

野菜試料における, アセトン・ヘキサン振とう抽出法とトルエン還流抽出法のダイオキシン類抽出効率の比較を行った。抽出試験を 3 回行った結果, ほうれん草では, 振とう抽出で PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs が平均 0.48, 0.80 及び 7.7pg/g 検出され, 還流抽出では同様の順に 0.43, 0.72 及び 7.3pg/g 検出された。また, ちんげん菜では, 振とう抽出で PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs が平均 0.67, 0.50 及び 2.6pg/g 検出され, 還流抽出では同様の順に 0.81, 0.64 及び 2.6pg/g 検出された。両抽出法の間で, 抽出量には有意な差はなく, 両者の野菜中ダイオキシン類の抽出効率は同様であることが判明した。

Keywords: shaking extraction, reflux extraction, dioxin

*1 財日本食品分析センター

*2 福岡県保健環境研究所

松田りえ子, 佐々木久美子, 酒井洋^{*1}, 青柳由美子^{*1}, 佐伯政信^{*2}, 長谷川康行^{*2}, 日高利夫^{*3}, 石井敬子^{*3}, 望月恵美子^{*4}, 山本敬男^{*4}, 宮部正樹^{*5}, 田村征男^{*5}, 堀伸二郎^{*6}, 池田克彦^{*6}, 辻元宏^{*7}, 小嶋美穂子^{*7}, 佐伯清子^{*8}, 松岡幸恵^{*8}, 西岡千鶴^{*9}, 藤田久雄^{*9}, 城間博正^{*10}, 大城善昇^{*10}, 豊田正武: 食品からのアルミニウムの一日摂取量の推定

食品衛生学雑誌, 42, 18-23 (2001)

1996年から1998年に, トータルダイエツト試料中のアルミニウム濃度を測定しアルミニウムの一日摂取量を推定した。10カ所の機関でトータルダイエツト試料の調製及びアルミニウム濃度の測定を行った。アルミニウムの一日摂取量は平均 3.5mg であり, 範囲は 1.8mg から 8.4mg であった。分析結果の正当性は, 認証標準試料の分析により保証された。

Keywords: aluminum, daily intake, total diet sample

*1 新潟県保健環境科学研究所

*2 千葉県衛生研究所

- *3 横浜市衛生研究所
 *4 山梨県衛生公害研究所
 *5 名古屋市衛生研究所
 *6 大阪府立公衆衛生研究所
 *7 滋賀県立衛生環境センター
 *8 山口県環境保健研究センター
 *9 香川県衛生研究所
 *10 沖縄県衛生環境研究所

Kondo, K., Kurihara, M., Fukuhara, K. : **Mechanism of anti-oxidant effect of catechins**

Methods in Enzymology, **335**, 203-217 (2001)

The antioxidant mechanisms of EC, EGC, ECG, and EGCG were studied using LC/MS, spectrophotometry, chemiluminescence and electrochemical analyses, and semiempirical MO calculations. These results showed the antioxidant effect of catechins and their mechanisms were complicated. EGC has a lower oxidation potential (159 mV) than EC (307 mV) and, therefore, can scavenge peroxy radicals more quickly ($k_{inh}/k_p = 232$) than EC ($k_{inh}/k_p = 41$). This indicates that the pyrogallol structure in the B ring play an important role in the rapid scavenging ability. EGCG having the gallate group at the C-3 position show much more rapid scavenging ability ($k_{inh}/k_p = 628$) than EC and EGC, suggesting that as the number of phenolic OHs in catechins increases, the more rapidly they can scavenge peroxy radicals. However, EGC and EGCG with the pyrogallol structure have a negative aspect. They may generate superoxide and the antioxidant effect of them does not last for a long time. Catechins have both aspects as antioxidants and prooxidants as do other flavonoids. Catechin with the lowest oxidation potential does not exert the strongest antioxidant effect. Also, the effect may change based on the experimental conditions such as the solvent system or radical species being used as an initiator.

Keywords : catechin, oxidation potential, bond dissociation enthalpy

近藤一成, 栗原正明, 福原 潔, 鈴木 隆, 宮田直樹, 豊田正武: カテキンの抗酸化作用におけるC-2位プロトンの重要性

磁気共鳴と医学, **12**, 91-94 (2001)

(-)-Epicatechin (EC), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epigallocatechin gallate (EGCG), (-)-epicatechin gallate and proanthocyanidins exerted a strong antioxidant effect against peroxy radicals. EGC has a more rapid scavenging effect on peroxy radicals ($k_{inh}/k_p = 628$ for EGCG, 232 for EGC) than EC ($k_{inh}/k_p = 41$). The antioxidant effect of EC, whose oxidation potential was 304 mV was the same or greater than that of quercetin, which has lower oxidation potential (168 mV). EC, procyanidin B-2 (catechin dimer), and proanthocyanidin extracted from grape seeds (catechin polymer) showed the first oxidation potentials in the following order, EC (304 mV) < procyanidin B-2 (450 mV) < proanthocyanidin (795 mV). These three compounds inhibited peroxy radicals effectively in the order, suggesting that the first oxidation potential do not reflect the antioxidant effect. The compounds generated from each catechin and a radical initiator 2,2'-azobis(2-aminopropane) dihydrochloride (AAPH) have

been investigated using LC/MS. The calculated C-H bond dissociation enthalpies (BDEs) for catechins and catechin dimers at the C-2 position were expectedly low (65-70 kcal/mol) compared with O-H BDEs at phenolic sites (71-75 kcal/mol). Procyanidin B-2 converted into procyanidin A-2 by radical reaction, indicating that the strong effect of catechins on radical scavenging is based on the presence of the C-2 hydrogen in addition to the o-dihydroxyl structure.

Keywords : catechin, oxidation potential, bond dissociation enthalpy

Terahara, N.¹, Konczak-Islam, I.², Nakatani, M.², Yamakawa, O.², Goda, Y., Honda, T.³ : **Anthocyanins in callus induced from purple storage root of *Ipomoea batatas* L. Two acylated anthocyanins from purple sweet potato**

Phytochemistry, **54**, 919-922 (2000)

Two anthocyanins were isolated from the highly pigmented callus derived from the storage root of purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) cultivar 'Ayamurasaki'. One was identified as cyanidin 3-O-sophoroside-5-O-glucoside, and the other as cyanidin 3-O-(2-O-(6-O-(E)-p-coumaroyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside)-5-β-D-glucopyranoside, by chemical and spectroscopic analysis.

Keywords: anthocyanin, *Ipomoea batatas*, natural food colorant

*1 College of Horticulture, Minami-Kyushu University

*2 Kyushu National Agricultural Experiment Station

*3 Hoshi University

Matsufuji, H.*, Sakai, S.*, Chino, M.*, Goda, Y., Toyoda, M., Takeda, M.* : **Relationship between cardiac glycoside contents and color of *Corchorus olitorius* seeds**

J. Health, Sci., **46**, 89-93 (2001)

The relationship between the cardiac glycoside contents in *Corchorus olitorius* seeds and the seed color was examined. The seed color was assigned a shade (color value) (L value in UCS system). The dark grayish green seeds showing lower L value, contained more cardiac glycosides than dark grayish yellow seeds showing higher L value. When the total cardiac glycoside contents were plotted against the L values, a positive correlation ($r = 0.913$) was observed. Also, there was a higher content ratio of strophanthidin glycosides (erysimoside and olitoriside) in the seeds showing lower L value, while there was a lower content ratio of digitoxigenin glycosides (coroloside and glucoevatromonoside) in the seeds showing lower L value.

Keywords: *Corchorus olitorius*, cardiac glycoside, color value

* College of Bioresource Science, Nihon University

Matsuoka, T.*, Kuribara, H.*, Akiyama, H., Miura, H.*, Goda, Y., Kusakabe, Y.*, Isshiki, K.*, Toyoda, M., Hino, A.* : **A Multiplex PCR method of detecting recombinant DNAs from five lines of genetically modified maize**

J. Food Hygienic Soc. Japan, **42**, 24-32 (2001)

Seven lines of genetically modified (GM) maize were authorized in Japan as foods and feeds imported from the USA. We improved a multiplex PCR method described in the previous re-

port in order to distinguish the five lines of GM maize. Genomic DNA was extracted from GM maize by a silica spin column kit, which could reduce experimental time and improve safety in the laboratory and potentially in the environment. We sequenced recombinant DNA (r-DNA) introduced to GM maize, and re-designed new primer pairs to increase the specificity of PCR to distinguish five lines of GM maize by multiplex PCR. A primer pair for the maize intrinsic zein gene (Zel1) was also designed to confirm the presence of amplifiable maize DNA. The lengths of PCR products using these six primer pairs were different. The Zel1 and the r-DNAs from the five lines of GM maize were qualitatively detected in one tube. The specific PCR bands were distinguishable from each other on the basis of the expected length. The r-DNA could be detected from the maize sample containing 0.5 % of each of the five lines of GM maize. The sensitivity would be acceptable to secure the verification of non-GMO materials and to monitor the reliance of the labeling system.

Keywords: genetically modified maize, recombinant DNA, PCR
*National Food Research Institute, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries

合田幸広, 穂山 浩, 大槻 崇, 藤井明美*, 豊田正武: 多機能カラムとHPLCを利用した食品中のアフラトキシン分析法の応用と改良
食衛誌, 42, 56-62 (2001)

アフラトキシン (AF) 通知分析法においても, 健康危害及び環境汚染防止の目的で, 使用溶媒の見直しが要求されている。我々は既に報告した毒性の高い溶媒を用いない多機能カラムにHPLCを組み合わせたAF分析法の応用範囲を拡大する目的で, 通知で分析が義務付けられたナッツ類及びジャイアントコーンを含め, より多種の試料の添加回収実験を行った。その結果マカデミアナッツ, クルミ, ヘーゼルナッツ, ブラジルナッツ, ジャイアントコーン, コメ, コムギ, ソバで B1, B2, G1, G2 ともに良好な回収率 (85%~106%) を得た。また, 妨害ピークが検出された香辛料 6 種及び紅茶について, 市販のアフィニティーカラムを組み合わせた分析法を検討した。その結果, G2, B2 で一部回収率が低いものの, B1, G1 の回収率は良好 (71~112%) で, これらの試料でも分析可能であることが示された。

Keywords: aflatoxin, multifunctional column, spices

*横浜検疫所 輸入食品・検査検査センター

Miyahara, M., Ito, H.^{*1}, Saito, A.^{*2}, Nagasawa, T.^{*2}, Kariya, M.^{*2}, Toyoda, M., Saito, Y.: **Detection of meats by HPLC determination for o-tyrosine using novel LASER fluorometric detection with automatic pre-column reaction**
J. Health Science., 46, 304-309 (2000)

An o-Tyrosine method for detection of irradiation of foods was studied by HPLC using a novel LASAR fluorometric detection system with pre-column reaction. Sample was prepared and purified by eliminating fat and sugars using a mixture of acetone and chloroform, and then the purified protein was hydrolyzed using hydrochloric acid at 110°C for 24 hours in a vacuum. The sample was reacted with NDB-F reagent by an automatic pipetting system and was introduced into the HPLC system. Irradiated chicken, pork, beef, and tuna were examined by irradiating at 0,1,5,10 kGy.

Irradiation of chicken and pork irradiated at or over 10 kGy was successfully detected, but that of beef and tuna were more difficult to detect. After 3 months storage at 20°C, the irradiation was still detectable in chicken irradiated at 10 kGy. Thus this detection procedure can be used to detect irradiation in some chilled meats irradiated at 10 kGy. Non-irradiated o-tyrosine formation and reduction of o-tyrosine by hydroxylation are also discussed.
Keywords: o-tyrosine method, irradiated food detection, NBD-F, HPLC, pre-column derivatization

*1 原子力研究所 高崎研究所

*2 北里大学医療衛生学部

Miyahara, M., Saito, A.^{*1}, Ito, H.^{*2}, Toyoda, M.: **Capability of identification of gamma-irradiated bovine liver by new high sensitivity assay**
Biol. Pharm. Bull., 23, 1399-1405 (2000)

DNA in food will get damage by gamma radiation. The high sensitive Comet assay was studied using fluorescence-microscopy. Beef liver was irradiated at range of 1 Gy to 8kGy. Single cells were obtained from the irradiated liver, and were analyzed by agarose-gel electrophoresis. The pH of the buffer for electrophoresis was pH13, which is generally utilized for sensitive detection of DNA damage. The pattern formed by DNA was visualized by staining ethidium bromide. The resulted comets were evaluated by the scale we developed and influence scores were calculated based on the Tice method. It is possible to detect irradiation of beef liver at 10Gy. In the other hand, DNA damage will be caused not only by irradiation, but also by the other treatments. Therefore influence of freezing, preservation, irradiating temperature, atmosphere of irradiation, cooking, and homogenizing device were also examined. This new comet assay will be a useful detection procedure of irradiated foods.

Keywords: comet assay, irradiated food detection, DNA damage, beef liver

*1 北里大学医療衛生学部

*2 原子力研究所 高崎研究所

後藤典子^{*1}, 田辺寛子^{*1}, 宮原 誠: **照射鶏肉の炭化水素法およびESR法による検知**
食品照射, 35, 23-34 (2000)

Chicken meat with bone was irradiated by gamma ray at a-19 ~10°C, and both amount of hydrocarbons formed from fatty acids and intensity of ESR signals in bone fragments were measured. Very good correlation was found between the amount of hydrocarbons and the intensity of ESR signals. The amount of hydrocarbons (Cn-2:1) had 2 carbon atoms less than the original fatty acids and an additional double bond, was almost constant irrespective of the irradiation temperature raised. As the ratio between corresponding fatty acids, the ratio between hydrocarbons (Cn-2:1) is a suitable index in the detection of the irradiation. On the contrary, the ratio of hydrocarbons from same fatty acid, (Cn-2:1)/(Cn-1:0), varied according to the kind of fatty acid and temperature used at the irradiation.

It was found that under irradiation temperature of -19 ~ 10°C, intensity of ESR signals of bone is not affected by the irradiation temperature.

Keywords: irradiated chicken, hydrocarbon method, ESR method, identification

*1 東京都立産業技術研究所

Miyahara, M., Saito, A.*1, Ito, H.*2, Toyoda, M.: **Identification of low level gamma-irradiation of meats by new high sensitivity comet assay**

The 12th International Meeting on Ionization Processing, <http://www.atriplei.com/imrp>, (2001)

DNA in food will sustain damage by gamma radiation. The detection capability of the high sensitivity comet assay was studied using fluorescence-microscopy. Meats were irradiated at a range of 1 Gy to 2kGy. Single cells were obtained from the irradiated meats, then analyzed by agarose-gel electrophoresis. The pH of the buffer for electrophoresis was pH13, which is generally utilized for sensitive detection of DNA damage. The pattern formed by DNA was visualized by staining with ethidium bromide. The resulting comets were evaluated with a scale we developed, and influence scores were calculated based on the Tice method. Pork, beef, and chicken that were irradiated at or above 0.5kGy were identified by the method.

Keywords: comet assay, irradiated meats, identification

*1 北里大学医療衛生学部

*2 原子力研究所 高崎研究所

Akiyama, H., Sakushima, J., Taniuchi, S.*1, Kanda, T.*2, Yanagida, A.*2, Kojima, T.*1, Teshima, R., Kobayashi, Y.*1, Goda, Y., Toyoda, M.: **Antiallergic effect of apple polyphenols on the allergic model mouse**

Biol. Pharm. Bull., **23**, 1370-1373(2000)

We studied here the antiallergic effect of apple condensed tannins (ACT) administered orally to a type I allergy model transplanted with an IGEL a2 hybridoma secreting anti-2,4,6-trinitrophenyl (TNP) immunoglobulin E (IgE). The oral administration of ACT significantly inhibited the ear swelling responses at 1h after antigen-stimulation with picryl chloride. The response was dose dependent within 0.1 to 10 mg/mouse. The inhibition of the ear swelling response reached the maximal level (90% inhibition) when ACT was administered 2h before the antigen challenge. These findings suggest that ACT has an antiallergic effect on type I allergic symptoms.

Keywords: antiallergic activity, procyanidin, apple

*1 関西医科大学

*2 ニッカウキスキー(株)

Nagaoka M.H. and Maitani T.: **Differed preferential iron-binding lobe in human transferrin depending on the presence of bicarbonate detected by HPLC/high resolution ICP-MS.** *Biochim. Biophys. Acta*, **1523**, 182-188 (2000)

The binding of Fe to human serum transferrin (Tf) was analyzed with an HPLC system equipped with an anion exchange column and directly connected with a HR-ICP-MS for metal detection. Two monoferric-Tfs were assigned based on the results of urea-PAGE and desferrioxamine experiments. When Fe was added as Fe-citrate stepwise to an apo-Tf solution in the presence of bicarbonate, the N-lobe site was the preferential Fe-binding

site, while the C-lobe site was preferred in the absence of bicarbonate. In both cases, the Fe-peak areas of the preferential site and Fe₂-Tf increased up to an Fe/Tf molar ratio of 1, and then the peak area of the monoferric-Tf decreased while the peak area of Fe₂-Tf increased. When the Fe/Tf molar ratio was below 1, the amount of Fe bound to the lobe with a weaker affinity was higher in Fe₂-Tf than in the monoferric-Tf in each case. Namely, Fe₂-Tf was the preferential binding state of Fe to human serum Tf. The preference is reasonable for transferring Fe ions effectively to Tf-receptors.

Keywords: Fe, transferrin, HPLC/HR-ICP-MS

Nagaoka M.H. and Maitani T.: **Binding patterns of co-existing aluminium and iron to human serum transferrin studied by HPLC/high resolution ICP-MS**

Analyst, **125**, 1962-1965 (2000)

Serum transferrin (Tf) is an Fe-binding glycoprotein. Al in the blood is bound to Tf. In the present study, the chemical forms of co-existing Al and Fe bound to human serum Tf were studied by on-line combined HPLC/HR-ICP-MS. Samples were subjected to HPLC equipped with an anion-exchange column. The levels of ²⁷Al, ⁵⁶Fe and ³²S, which are interfered by polyatomic ions such as ¹³C¹⁴N⁺, ¹²C¹⁵N⁺ and ¹²C¹⁴N¹H⁺, ⁴⁰Ar¹⁶O⁺ and ⁴⁰Ca¹⁶O⁺, and ¹⁶O₂⁺, respectively, in the case of quadrupole ICP-MS, were monitored simultaneously by HR-ICP-MS at resolution $m/\Delta m = 3000$. Al added to apo-Tf as Al-citrate was preferentially bound to the N-lobe site almost selectively. Al in serum from a healthy person without any *in vitro* Al spike was present both as Al_N-Tf and Al_NFe_C-Tf. The chemical states were reproduced in apo-Tf solution supplemented with Fe (Fe/Tf = 0.6) and Al (Al/Tf = 1) successively. The cleanup procedures of column were devised, and with the procedures, the detection limit for ²⁷Al was lowered to 0.1 μg l⁻¹ (3σ_B) at the middle resolution.

Keywords: HPLC/HR-ICP-MS, Al, transferrin

Nagaoka M.H., Maitani T.: **Effects of sialic acid residues of transferrin on the binding with aluminum and iron studied by HPLC/high-resolution ICP-MS.**

Biochim. Biophys. Acta, **1526**, 175-182 (2001)

Carbohydrate-deficient transferrins (Tfs) (CDTs) with fewer sialic acids increased in several diseases. In this study, the affinity of metals (Al and Fe) to Tfs was compared between native- and asialo-Tf by on-line HPLC/HR-ICP-MS, to clarify whether the presence of sialic acids influences the metal binding. Fe added as Fe-citrate in the presence of bicarbonate preferred the N-lobe site and the binding affinity was similar between native- and asialo-Tfs. Al-citrate added also preferred the N-lobe site, while the binding affinity was higher to asialo-Tf than to native-Tf. In Al-oxalate addition, the affinity to the N-lobe site of both Tfs increased further. In the absence of bicarbonate, Al-oxalate showed a preference for the C-lobe site in native-Tf and comparable affinity to both lobes in asialo-Tf. In asialo-Tf, Al₂-Tf was the largest peak. Thus, the lack of sialic acid in glycans and the presence of oxalate enhanced the binding affinity of Al to Tf. Therefore, it was suggested that the binding affinity of Al in patients with CDTs may be enhanced.

Keywords: carbohydrate-deficient Tfs, HR-ICP-MS, AI

宇野喜貴*¹, 大本俊郎*¹, 後藤康慶*¹, 浅井以和夫*¹, 中村幹雄*¹, 米谷民雄: GPC/ICP-AES法によるカラギナン分子量測定方法

日本食品化学学会誌, 8, 33-43 (2001)

カラギナンは分子中に多数の硫黄を有する天然増粘安定剤である。その平均分子量を求めるために、GPCカラムを装着したHPLC法と硫黄検出のICP発光分光法を直結した、GPC/ICP-AES法を応用した。注入タイプ精製カラギナンからの高分子由来硫黄の回収率は、97-108%と良好であった。測定した平均分子量は、GPC/RI法による分子量と同程度であったが、若干の差異が認められた。その原因としては、カラギナンの分子量による硫黄含有率の違いと、ICP-AES側の要因が考えられた。

Keywords: carrageenan, GPC/ICP-AES, average molecular weight

*¹ 三栄源エフ・エフ・アイ(株)

宇野喜貴*¹, 大本俊郎*¹, 後藤康慶*¹, 浅井以和夫*¹, 中村幹雄*¹, 米谷民雄: GPC/ICP-AES法による食品中のカラギナン分析方法(第1法)

日本食品化学学会誌, 8, 48-56 (2001)

カラギナンは硫酸多糖の構造を有する天然増粘安定剤である。GPC/ICP-AES法により測定した高分子由来の硫黄量から食品中のカラギナンを分析できるかを、12種の市販デザートゼリーを対象に検討した。κタイプ精製カラギナン0.3%を含む調製ゼリーからの、カラギナンの回収率は103%であった。GPC/ICP-AES法では簡単な前処理のみで分析できる利点があるが、カラギナンの硫酸基の規格が15-40%であるため分析値に約2.7倍の差が生じ、また、ファーセラランなどの硫酸多糖が同時に使用されている場合にも誤差が生じるが、添加物が判明している食品製造ラインでは、品質管理等において有効な方法と考えられた。

Keywords: carrageenan, GPC/ICP-AES, dessert jelly

*¹ 三栄源エフ・エフ・アイ(株)

Akiyama, T., Yamada, T. and Maitani, T.: Analyses of enzymatically glucosylated flavonoids by capillary electrophoresis *J. Chromatogr. A*, 895, 279-283 (2000)

HPCE with a UV detector was applied for the analyses of enzymatically glucosylated flavonoids, which are used as natural food additives in Japan. Four items, which have flavonol or flavanone as aglycone, were analyzed. Each of these items is a mixture of glycosides with various lengths of maltooligosaccharide chain. On capillary zone electrophoresis with untreated fused-silica capillary at alkaline pH, glycosides with longer sugar chain migrated more rapidly. Flavonol glycosides with 1 - 13 glucose units were distinguished with the borate buffer (pH 10.0). Flavanone glycosides needed higher pHs for good separation than flavonol glycosides.

Keywords: capillary zone electrophoresis, flavonoid, malto-oligosaccharide

Akiyama, T., Yamada, M., Yamada, T. and Maitani, T.: Naringin glycosides α -glucosylated on ring B found in the natural food additive, enzymatically modified naringin

Biosci. Biotechnol. Biochem., 64, 2246-2249 (2000)

Enzymatically modified naringin is a natural food additive, which is prepared with cyclodextrin glucanotransferase. Its constituents were structurally analyzed. Four constituents were isolated from the glucoamylase-treated sample. An NMR analysis revealed that two of them were novel compounds having 4'-O- α -glucosyl moieties on ring B of the naringenin aglycone. Both the aglycone and the glucose moiety in naringin are shown to be simultaneously glucosylated.

Key words: enzymatically modified naringin, cyclodextrin glucanotransferase, nuclear magnetic resonance

Liu, H.-M., Akiyama, T., Sugimoto, N. and Maitani, T.: Isolation and identification of main constituents in an enzymatically hydrolyzed licorice extract sweetener

Food Additives and Contaminants, 18, 281-284 (2001)

Enzymatically hydrolyzed licorice extract (EHLE) is also used as a sweetener in Japan. Three oleanane-type monoglycosides along with glycyrrhizin (1) and 3-O-[β -D-glucuronopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-18 β -liquiritic acid (2) were isolated from EHLE. The structures of the three compounds have been determined to be 3-O- β -D-glucuronopyranosyl-24-hydroxy-18 β -glycyrrhetic acid (3), 3-O- β -D-glucuronopyranosyl-18 β -glycyrrhetic acid (4) and 3-O- β -D-glucuronopyranosyl-18 β -liquiritic acid (5) based on MS and NMR. 4 was the monoglycosylated derivative of glycyrrhizin (1). Compounds 3 and 5 are the monoglycosylated derivatives of the minor constituents in licorice extract. They were first isolated from EHLE, and compound 5 was a new compound.

Keywords: glycyrrhizin, sweetener, enzymatically hydrolyzed licorice

Liu, H.-M., Sugimoto, N., Akiyama, T. and Maitani, T.: Constituents and their sweetness of food additive enzymatically modified licorice extract

J. Agric. Food Chem., 48, 6044-6047 (2000)

Enzymatically modified licorice extract (EMLE) is a natural sweetener, which is prepared with cyclodextrin glucanotransferase. The structures of six major constituents isolated from EMLE were determined, and their sweetness was studied. The isolated compounds were glycyrrhizin (1), 3-O-[β -D-glucuronopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]liquiritic acid (2), and their derivatives glucosylated at the C-4 position of the terminal glucuronopyranose with additional one (3 and 4, respectively) and two (5 and 6, respectively) glucose moieties. Compounds 3 - 6 were new compounds isolated for the first time. Compound 2 was sweeter than compound 1. Interestingly, compound 3, which was a monoglucosylated derivative of compound 1, was sweeter than compound 4. Compounds 5 and 6, which have additional two glucose moieties, showed only slight sweetness.

Keywords: Glycyrrhiza, sweetener, enzymatically modified licorice

石川恵子*¹, 久保木均*², 佐藤恭子, 米谷民雄, 布村 伊*³: 4倍体シトウ果実の形態とカプサイシノイド含量
日本食品化学学会誌, 7, 74-77 (2000)

トウガラシ属における染色体倍加による倍数体を利用した品種改良の可能性を検討するため、シントウ (*Capsicum annuum* L. cv. 'Shishitoh') の4倍体を作成し、当代の果実について種子数、果実の大きさ、カプサイシノイド及びその前駆体含量を調べた。その結果、4倍体の果実は2倍体の約4割の種子しか持たず、果実の幅は同じであるが、長さは6割に減少していた。カプサイシノイド及びその前駆体含量は2倍体と同様であり、カプサイシノイドの生合成には促進あるいは抑制されているステップはないことが明らかとなった。

Keywords: Shishitoh, tetraploid, capsaicinoid

*1 千葉大学園芸学部

*2 福島県立白河実業高等学校

*3 日本園芸生産研究所

阿部有希子, 武田由比子, 石綿 肇, 山田 隆: 甘味料アセスルファムカリウムの規格試験法の検討及び純度と含量

食品衛生学雑誌, 41, 274-279 (2000)

アセスルファムカリウムの規格作成のための試験法について検討し、試供品に適用した。試験法はJECFA及びFCCの方法を大きく変える必要はなかった。4ロットの試供品について、性状、極大吸収、沈殿反応、フッ化物、紫外線吸収純物、乾燥減量、及び含量について測定したところ、JECFA及びFCCの規格に適合した。pHを第7版食品添加物公定書に準じて測定したところpH5.75~5.83で、FCC規格(6.5~7.5)より酸性を示したが、脱二酸化炭素水を用いることにより6.71~6.99を示し、FCC規格に適合した。含量は99.6~100.3%であった。

Keywords: acesulfame potassium, specification, purity test

杉田たき子, 平山クニ*1, 新野竜太*2, 石橋 亨*2, 山田 隆: ポリ塩化ビニル製玩具中のフタル酸エステル含有量

食品衛生学雑誌, 42, 48-55 (2001)

1998年10月に入手した玩具68検体の材質試験を実施したところ、全ての玩具からフタル酸エステル(PAE)類が検出された。検出されたPAEはフタル酸ジイソノニル(DINP)、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)(DEHP)、フタル酸ジブチル、フタル酸ジノニル、フタル酸ジヘプチルの5種類で、その他にアジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)が検出された。DINPは48検体から検出され、含有量は15~580mg/g、平均308mg/g、含有量が最も多かったのはおしゃぶり玩具であった。DEHPは20検体から検出され、含有量は2.0~380mg/g、平均162mg/gであり、国産品では15検体、60%から検出された。

Keywords: polyvinyl chloride toy, diisononyl phthalate, di(2-ethylhexyl) phthalate

*1 神奈川県衛生研究所

*2 ㈱東京顕微鏡院

武田由比子, 川崎洋子, 石綿肇: スクラロースの食品添加物成分規格のための定量法に関する検討

日本食品化学学会誌, 7, 56-59 (2000)

平成11年7月30日、厚生省令第75号で食品添加物として指定され、告示第167号により、規格が定められた。告示に先立ち、純度試験など成分規格設定に関する検討を行った。含量規格に関する定量法は米国食品添加物規格(FCC)

および国際規格(CFAS)では標準品を用いたHPLC法であるが、標準品の入手が困難で、また、わが国の指定の食品添加物の含量規格の定量法は標準品不要の方法が一般的である。そこで、スクラロース分子中の塩素を水酸化ナトリウム溶液で遊離し、硝酸銀で滴定する簡便な方法を考察した。試料約1gを精密に量り、100mlとした試料溶液10mlに水酸化ナトリウム溶液(1→10)10mlを加え、30分間反応後、指示電極に銀、参照電極に銀-塩化銀電極を装着した自動滴定装置を用い、0.1mol/l硝酸銀溶液で滴定した。n=6の変動係数は0.4%であった。

Keywords: sucralose, sweetener, potentiometric titration

武田由比子, 阿部有希子, 石綿 肇, 山田隆: HPLCによる粉末スープ中のポリソルベートの分析法

食品衛生学雑誌, 42, 91-95 (2001)

HPLCによる粉末スープ中のポリソルベートの定量法について検討した。試料中の油脂成分をn-ヘキサンで除去後、アセトニトリルでポリソルベートを抽出した。抽出液をボンドエルトシリカゲルカートリッジ(500mg)に負荷し、酢酸エチルで粉末スープ由来の妨害物質を流去した後、アセトニトリル-メタノール(1:2)でポリソルベートを溶出した。溶出したポリソルベートをチオシアン酸コバルトと反応させ、生成した青色の化合物を、GPCカラムを使用したHPLCで測定した。粉末スープでの添加回収率は75%以上であり、定量限界は0.04mg/gであった。市販の粉末スープ16件につき本法で分析したところ、いずれも不検出であった。

Keywords: polysorbate, powdered soup, cobalt thiocyanate

河村葉子, 前原玉枝, 飯嶋広代, 山田隆: 食品用プラスチック製品及び玩具中のノニルフェノール

食品衛生学雑誌, 41, 212-218 (2000)

プラスチック製器具・容器包装及び乳幼児用玩具中のノニルフェノール(NP)残存量をGC/MS-SIMにより測定したところ、ポリ塩化ビニル(PVC)製ラップフィルムと手袋において、全検体で10~2,600µg/gと高濃度の残存がみられ、ポリスチレン(PS)製使い捨てカップでも高頻度であった。その他、ポリカーボネート、ポリプロピレン、ABS樹脂、スチレンブタジエン製品からも検出されたが、ポリエチレン、AS樹脂、ポリ塩化ビニリデン製品では検出されなかった。NPが残存していたPSカップ、PVCラップフィルム及び手袋について溶出試験を行ったところ、n-ヘプタンにより極めて高い溶出が認められた。一方、NPを含有する試料から酸化防止剤のトリス(ノニルフェニル)フォスファイトが検出され、これが分解してNPが生成したものと推察された。

Keywords: nonylphenol, polyvinyl chloride, tris (nonylphenyl) phosphite

河村葉子, 前原玉枝, 鈴木 隆*, 山田 隆: ガスクロマトグラフィー/原子発光検出器(GC/AED)による食品用器具・容器包装及び玩具中の有機スズ化合物の分析

食品衛生学雑誌, 41, 246-253 (2000)

ガスクロマトグラフィー/原子発光検出法を用いた9種類の有機スズ化合物の分析法を検討した。選択性が高く、検出限界は標準溶液で1pgと高感度であった。食品用器具・容器包装及び玩具を分析したところ、ポリ塩化ビニル(PVC)製容器では全検体から安定剤のジオクチルスズ(DOT)が検出

され、残存量はほぼ数千 $\mu\text{g/g}$ であった。さらにその不純物や分解物のモノ及びトリオクチルスズ (MOT 及び TOT)、ジブチルスズ (DBT) などが検出され、ジメチルスズの残存もみられた。また、PVC 製手袋から DOT, MOT, TOT, シリコーン加工クッキングシートから DBT, モノ及びトリブチルスズが検出された。PVC 製容器の DOT 及び DBT は比較的溶出しにくかったが、手袋及びシートからは極めて容易に溶出した。

Keywords: organotin compounds, gas chromatography/atomic emission detection method (GC/AED), polyvinyl chloride

*京都府立大学

河村葉子, 左山佳代, 山田 隆: 食品用ポリエチレン, ポリプロピレン及びポリスチレン製品へのガンマ線照射の影響—添加剤及びその他の化合物

食品照射, 35, 7-14 (2000)

市販ポリエチレン及びポリプロピレン製品に 10~50kGy のガンマ線を照射したところ、残存していた添加剤のうち、酸化防止剤はいずれもすみやかに減少した。減少の程度は Irgafos 168 の減少が最も顕著であり、Yoshinox 2246R や Yoshinox SR はやや照射抵抗性があった。滑剤では、脂肪酸アミド類に減少がみられたが、脂肪族炭化水素には変化はみられなかった。また、可塑剤の DBP は比較的安定であった。酸化防止剤の分解物のうち、1,3-di-*tert*-butylbenzene 及び 2,6-di-*tert*-butyl-1,4-benzoquinone は照射分解物と考えられたが、2,4-di-*tert*-butylphenol は非照射試料からも検出され、製品の製造時にも生成するものと考えられた。ポリスチレン製品では、添加剤は含有されておらず、残存していた不純物のスチレンダイマー及びトリマーについては、ガンマ線照射による含有量の変化は認められなかった。

Keywords: gamma irradiation, food contact plastic, additives

河村葉子, 左山佳代, 山田 隆: 食品用ポリエチレン, ポリプロピレン及びポリスチレン製品へのガンマ線照射の影響—揮発性物質

食品照射, 35, 15-22 (2000)

市販ポリエチレン, ポリプロピレン及びポリスチレン製品に 10~50kGy のガンマ線を照射した。全てのポリエチレン及びポリプロピレンにおいて、照射により酸、アルデヒド、ケトン、アルコール等の揮発性物質が生成し、特に、酢酸及びアセトンの生成量が多かった。また、ポリプロピレンでは、分枝した化合物など生成物の種類が多く、しかも生成量も高く、ポリエチレンよりも照射分解を受けやすいことが示された。一方、ポリスチレンは、非照射時に残存していた原料モノマーであるスチレン及びエチルベンゼンの含量が照射により減少し、照射分解物と思われる揮発性物質の生成もわずかであり、ポリエチレンやポリプロピレンよりも照射耐性があることが示された。

Keywords: gamma irradiation, food contact plastic, volatiles

河村葉子, 前原玉枝, 和久井千世子, 山田 隆: ポリ塩化ビニル製手袋中の可塑剤及びノニルフェノールの溶出

食品衛生学雑誌, 41, 330-334 (2000)

ポリ塩化ビニル (PVC) 製手袋に残存するフタル酸ジ(2-エチルヘキシル) (DEHP), フタル酸ジイソノニル (DINP), アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル) (DEHA) 及び4-ノニルフェノール (NP) は、水、20%エタノール及び4%酢酸では 0.005~0.416

$\mu\text{g/cm}^2$ の溶出であったが、*n*-ヘプタン (25°C 60 分間) では DEHP が 1,410~2,500 $\mu\text{g/cm}^2$, DINP が 720 $\mu\text{g/cm}^2$, DEHA が 137~841 $\mu\text{g/cm}^2$, NP が 2.72~36.4 $\mu\text{g/cm}^2$ と極めて高い溶出を示した。ナタネ油への溶出量は、60°C 30 分間で薄手手袋では *n*-ヘプタンの 1/2~1/4, やや厚手手袋では 1/4~1/10 に相当し、試験温度が高く、時間が長いほど溶出量は多くなったが、低温や短時間でもかなりの溶出が見られた。以上より、PVC 製手袋を脂肪性食品に使用すると、残存する DEHP, DINP, DEHA, NP が大量に食品へ移行することが示唆された。

Keywords: polyvinyl chloride glove, migration test, di(2-ethylhexyl) phthalate

河村葉子, 井之上浩一*, 中澤裕之*, 山田 隆, 米谷民雄: 飲料缶からのビスフェノール A 移行原因の解明と改良缶の評価

食品衛生学雑誌, 42, 13-17 (2001)

ビスフェノール A (BPA) 含有量が高かったコーヒー及び紅茶飲料の相当缶を検討したところ、いずれもエポキシ樹脂コーティングに由来したが、サイドシームや底蓋部で BPA 濃度が極めて高かったり、胴部がやや高いため缶全体の残存量が高いなど原因部位は様々であった。水 60 及び 95°C, 20% エタノール, *n*-ヘプタンでは BPA は溶出しなかったが、水 120°C 30 分間では 35~124ng/mL 溶出した。相当缶の BPA 溶出量は材質中の残存量とほぼ一致し、缶入飲料の BPA 含有量とも近い値であった。以上より BPA の移行は、コーティング中の BPA 残存量と飲料の加熱条件に依存することが示された。一方、改良缶ではコーティング中の BPA 量が大幅に減少し、溶出量は 1/10 以下に低減された。

Keywords: bisphenol A, can for drink, epoxy resin

*星薬科大学

Fukuhara, K., Hara, Y., Nakanishi, I., Miyata, N.: Hydroxylation of Nitroated Naphthalenes with KO_2 /Crown Ether

Chem. Pharm. Bull., 48, 1532-1535 (2000)

Superoxide radical anion (O_2^-), generated by KO_2 /crown ether, is effective for hydroxylation of nitronaphthalenes. When mono- and di-nitronaphthalenes are treated with KO_2 /crown ether, hydroxylation results at the electron-deficient site caused by the electron withdrawing effect of the substituted nitro group. Kinetic experiments suggest that the hydroxylation proceeds by two different mechanisms dependent on the first one-electron reduction potential of nitronaphthalenes.

Key words: superoxide; nitroarene; hydroxylation

Kurihara, M., Tanaka, M.¹, Oba, M.¹, Suemune, H.¹, Miyata, N.: Computational study on conformation of oligopeptides prepared from α, α -disubstituted amino acids

Peptides 2000, 427-428 (2001)

Recently the conformation of peptides constituted by non-proteinogenic amino acids (β -amino acid, α, α -disubstituted amino acid, etc.) has received considerable attention. α, α -Disubstituted amino acids have two alkyl substituents at the α -position of normal α -amino acids and are conformationally restricted. To predict the conformation of these peptides presents an interesting challenge. We report the conformational analysis of oligopeptides prepared from α, α -disubstituted amino acids

(isovaline, diethylglycine, butylethylglycine) by computational study. Conformational energy computations on oligopeptides of α , α -disubstituted amino acids were performed using molecular mechanics. Conformational search calculations were carried out by the Monte Carlo method of MacroModel[®] (ver. 6.5, Schrodinger, Inc.). When AMBER* was used as the force field, the global minimum energy conformations were found to be 3_{10} -helix. These results are in agreement with their conformational properties in the solid state determined by X-ray crystallographic analysis. In the case of the MMFF force field the global minimum energy conformations of diethylglycine and butylethylglycine peptides are planar structures, which are in agreement with their conformations in solution.

Key words: α , α -disubstituted amino acid, oligopeptide, molecular mechanics calculation

*¹九州大学薬学部

Nakanishi, I., Yamakoshi, Y., Ohkubo, K.^{*1}, Fujita, S.^{*1}, Fujitsuka, M.^{*2}, Ito, O.^{*2}, Fukuzumi S.^{*1} and Miyata, N.: **Superoxide Generation in C₆₀-Photosensitized oxidation of NADH and an Analogue by Oxygen**

Fullerenes, **8**, 242-255 (2000)

Visible light irradiation of poly(vinylpyrrolidone) (PVP)-solubilized C₆₀ in water in the presence of NADH and molecular oxygen results in the formation of superoxide anion (O₂^{•-}), which was detected with use of 5-diethoxyphosphoryl-5-methyl-1-pyrroline-N-oxide (DEPMPO) as a O₂^{•-}-trapping agent. Formation of O₂^{•-} having a characteristic *g*// value of 2.18 was also evidenced by the direct observation with use of a low-temperature ESR technique at 77 K. Photoinduced O₂^{•-} formation was also observed for the N-methyl-2-pyrrolidone (NMP) solution of C₆₀ and 1-benzyl-1,4-dihydronicotinamide (BNAH) in the presence of O₂, whereas C₆₀ radical anion (C₆₀^{•-}) was formed in the absence of O₂ under otherwise the same experimental conditions. These results suggest that C₆₀^{•-} formed in the photoinduced electron-transfer reduction of C₆₀ by BNAH acts as an electron donor to molecular oxygen to give O₂^{•-} in NMP.

Key words: Fullerene, superoxide, photosensitization,

*¹ Osaka University

*² Tohoku University

Fukuhara, K., Miyata, N.: **Electrochemical studies of quinone and nitroarene in generation and quenching of superoxide.**

Environ. Mutagen Res., **22**, 155-162(2000)

Quinones are common in several natural products and endogenous biochemicals or generated through metabolism of aromatic hydrocarbons. Some quinones are potent redox active compounds which can undergo enzymatic redox cycling with their corresponding semiquinone anion radicals and as a result generate superoxide anion radicals.

In this paper, we review the catalytic activity of quinones and nitroarenes, as mediators in the reductive activation of molecular oxygen and in the oxidative quenching of superoxide, examined by electrochemical method.

Keywords: quinone, nitroarene, superoxide

栗原正明, 近藤一成, 鈴木 隆, 豊田正武, 宮田直樹: **カテキンの抗酸化作用機構: 半経験的分子軌道法による解析**

磁気共鳴と医学, **12**, 114-117 (2001)

Catechins are a group of polyphenolic compounds abundantly contained in green tea. It is well known that catechins have multiple biological activities including anticarcinogenic and anti-inflammatory effects. These protective effects are due to their antioxidative activities by scavenging free radicals. The antioxidative activity of catechins has been considered to arise from the potential to scavenge free radicals by donating hydrogen atoms from phenolic O-H. However the effectiveness of catechins for peroxy radical scavenging cannot be explained by the donation of the phenolic hydrogen atom. In this paper we calculated bond dissociation enthalpies (BDE's) of all C-H and O-H bonds in catechins ((-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin, (-)-epicatechin gallate, (-)-epigallocatechin gallate) by semiempirical molecular orbital calculation (PM3) using the SPARTAN program(ver. 5.0, Wavefunction Inc.) and found that the BDE's of benzyl hydrogens (C-2 position in catechins) were quite low compared with O-H BDE's at phenolic sites. This result suggests that the abstraction of benzyl hydrogen plays an important role in antioxidant activity. This is also supported by the reported results of LC/MS and spectrophotometric analysis of the reaction intermediate from catechins treated with 2,2'-azobis(2-aminopropane)hydrochloride (AAPH).

Key words: catechin, Antioxidation Mechanism, semiempirical molecular orbital calculation

Kobayashi, S.^{*1}, Kobayashi, H.^{*1}, Yamaguchi, T.^{*1}, Nishida, M.^{*1}, Yamaguchi, K.^{*2}, Kurihara, M., Miyata, N., Tanaka, A.^{*1}: **Synthesis, conformation, and chemical properties of new mini parallel double-stranded peptides conjugated with -Phe-Phe- and -Phe-Phe-X- sequences**

Chem. Pharm. Bull., **48**, 920-934 (2000)

To investigate the chemical conformations and functions of the -Phe-Phe-Val- or -Phe-Phe- sequences contained in the Alzheimer's disease related β -amyloid peptide, a series of mini parallel double-stranded peptides conjugated with two peptide residues to one spacer were designed and prepared. The structure of the compounds was elucidated by circular dichroism (CD) spectrum and NMR two dimensional (2D) nuclear overhauser enhancement and exchange spectroscopy (NOESY) measurements. The structure of 1,2-ethano-bis(L-Phe-L-Phe-L-Leu), 1,12-dodecano-bis(L-Phe-L-Phe-L-Leu), 1,12-dodecano-bis(L-Phe-L-Phe-L-Val), and 1,12-dodecano (D-Phe-D-Phe-D-Leu) conjugated with L-Leu and L-Val residues show a β -turn-like nucleation. The dihedral angles ($\theta = +75^\circ, +180^\circ, \omega = +90^\circ, \Phi = -87^\circ, \Psi = +180^\circ$) obtained from experimental coupling constant (*J*) data, etc. support that 1,12-dodecano-bis(L-Phe-L-Phe) adopts β -turn mimic nucleation. The 1,12-dodecano-bis(L-Leu-L-Leu-L-Phe), 1,12-dodecano-bis(L-Ile-L-Phe-L-Leu), and 1,12-dodecano-bis(L-Phe-L-Val-L-Leu), etc. adopt most probably a random structure by CD studies. It was found by titration spectrum that an inclusion complex of 1 : 1 ratio (association constant; $K_a = 1.0 \times 10^4 M^{-1}$) is formed between 1,12-dodecano-bis(L-Phe-L-Phe-L-Leu) and azobenzene (guest,

[L_0]= $1.758 \times 10^{-5} M^{-1}$). Moreover, the stability of the complexes was increased in order of 1,12-dodecano-bis(L-Phe-L-Phe-L-Leu) · azobenzene > 1,12-dodecano-bis(L-Phe-L-Phe-L-Val) · azobenzene > 1,12-dodecano-bis(L-Phe-L-Val-L-Leu) · azobenzene. The data show that X-Phe-L-Phe-L-spacer(S)-L-Phe-L-Phe-X (X=amino acids; S=1,2-ethano- and 1,12-dodecano-) plays an important role as a binding site of the artificial receptor. The hydrophobic interaction of the four Phe's in the two strands is a very interesting issue in the physiological action of proteins as well as the conformation of the backbone of X-L-Phe-L-Phe-spacer(S)-L-Phe-L-Phe-X.

Key words: double-stranded peptide, β -turn mimetics, β -amyloid peptide

*1 昭和薬科大学

*2 千葉大学分析センター

Konno, K.^{*1}, Fujishima, T.^{*1}, Maki, S.^{*1}, Liu, Z.^{*1}, Miura, D.^{*2}, Chokki, M.^{*2}, Ishizuka, S.^{*2}, Yamaguchi, K.^{*3}, Kan, Y.^{*4}, Kurihara, M., Miyata, N., Smith, C.^{*5}, DeLuca, H. F.^{*5}, Takayama, H.^{*1}: **Synthesis, biological evaluation, and conformational analysis of A-ring diastereomers of 2-methyl-1,25-dihydroxyvitamin D₃ and its 20-epimers.**

J. Med. Chem., **43**, 4247-4265 (2000)

All eight possible A-ring diastereomers of 2-methyl-1, 25-dihydroxyvitamin D₃ (**2**) and 2-methyl-20-epi-1, 25-dihydroxyvitamin D₃ (**3**) were convergently synthesized. The A-ring enyne synthons **19** were synthesized starting with methyl (S)-(+)- or (R)-(-)-3-hydroxy-2-methylpropionate (**8**). This was converted to the alcohol **14** as a 1:1 epimeric mixture in several steps. After having been separated by column chromatography, each isomer led to the requisite A-ring enyne synthons **19** again as 1:1 mixtures at C-1. Coupling of the resulting A-ring enynes **20a-h** with the CD-ring portions **5a,b** in the presence of a Pd catalyst afforded the 2-methyl analogues **2a-h** and **3a-h** in good yield. In this way, all possible A-ring diastereomers were synthesized. The synthesized analogues were biologically evaluated both in vitro and in vivo. The potency was highly dependent on the stereochemistry of each isomer. In particular, the $\alpha\alpha\beta$ -isomer **2g** exhibited 4-fold higher potency than 1 $\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D₃ (**1**) both in bovine thymus VDR binding and in elevation of rat serum calcium concentration and was twice as potent as the parent compound in HL-60 cell differentiation. Furthermore, its 20-epimer, that is, 20-epi- $\alpha\alpha\beta$ **3g**, exhibited exceptionally high activities: 12-fold higher in VDR binding affinity, 7-fold higher in calcium mobilization, and 590-fold higher in HL-60 cell differentiation, as compared to 1 $\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D₃ (**1**). Accordingly, the double modification of 2-methyl substitution and 20-epimerization resulted in unique activity profiles. Conformational analysis of the A-ring by ¹H NMR and an X-ray crystallographic analysis of the $\alpha\alpha\beta$ -isomer **2g** are also described.

Key words: vitamin D₃, conformational analysis, MacroModel

*1 帝京大学薬学部

*2 帝人

*3 千葉大学分析センター

*4 サントリー生有研

*5 University of Wisconsin-Madison

Kittaka, A.^{*1}, Sahara, Y.^{*1}, Takayanagi, H.^{*1}, Fujishima, T.^{*1}, Kurihara, M., Takayama, H.^{*1}: **A concise and efficient route to 2 α -(ω -Hydroxyalkoxy)-1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃: remarkable high affinity to vitamin D receptor**

Org. Lett., **2**, 2619-2622 (2000)

A convenient and potentially valuable synthetic approach to the novel 2 α -functionalized 1 $\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D₃ [1 $\alpha,25$ (OH)₂D₃] derivatives (**1a-c**), which are the C2-epimer of ED-71 and its analogues, has been developed. The C2 α -modified ring A precursors (1,7-enynes **16**, n = 0, 1, and 2) were constructed stereoselectively starting from D-glucose in high yield. In the synthesized 2 α -(ω -hydroxyalkoxy)-1 $\alpha,25$ (OH)₂D₃ derivatives, **1a** and **1b** showed a greater binding affinity to vitamin D receptor (VDR), up to 1.8 times that of the native hormone.

Key words: vitamin D₃, vitamin D receptor, MacroModel

*1 帝京大学薬学部

Tanaka, M.^{*1}, Oba, M.^{*1}, Imawaka, N.^{*1}, Tanaka, Y.^{*1}, Kurihara, M., Suemune, H.^{*1}: **Conformational study of heteropentapeptides containing an α -ethylated α , α -disubstituted amino acids: (S)-butylethylglycine (= 2-amino-2-ethylhexanoic acid) within dimethylglycine (= 2-aminoisobutyric acid) residues**

Helv. Chim. Acta., **84**, 32-46 (2001)

Heteropentapeptides containing the α -ethylated α , α -disubstituted amino acid (S)-butylethylglycine and four dimethylglycine residues, i.e., CF₃CO-[(S)-Beg]-(Aib)₄-OEt (**4**) and CF₃CO-(Aib)₂-[(S)-Beg]-(Aib)₂-OEt (**7**), were synthesized by conventional solution methods. In the solid state, the preferred conformation of **4** was shown to be both a right-handed (*P*) and a left-handed (*M*) 3₁₀-helical structure, and that of **7** was a right-handed (*P*) 3₁₀-helical structure. IR, CD, and ¹H-NMR spectra revealed that the dominant conformation of both **4** and **7** in solution was the 3₁₀-helical structure. These conformations were also supported by molecular-mechanics calculations.

Key words: α , α -disubstituted amino acid, oligopeptide, molecular mechanics calculation

*1 九州大学薬学部

Tanaka, M.^{*1}, Imawaka, N.^{*1}, Oba, M.^{*1}, Kurihara, M., Suemune, H.^{*1}: **Conformational study of peptides containing α -ethylated α , α -disubstituted amino acid: (s)-Buthylethylglycine.**

Peptides 2000, 441-442 (2001)

α , α -Disubstituted amino acids and their peptides have attracted considerable attention since these amino acids and peptides show unique biological activities and very stable secondary structures. The conformation of the peptides prepared from achiral α , α -disubstituted amino acids such as 2-aminobutyric acid: Aib, dialkylglycine has been studied extensively because the achiral α , α -disubstituted amino acids could be easily prepared. The property of Aib is known to be a 3₁₀-helical structure, and that of dialkylglycine such as diethylglycine and dipropylglycine is proved to be a fully planar C₂-conformation. Recent develop-

ment of asymmetric reaction enables the peptide chemists to synthesize several chiral α , α -disubstituted amino acids, and the properties of α -methylated α , α -disubstituted amino acids are known to be 3_{10} -helical structure.

We studied the conformation of peptides prepared from a chiral α -ethylated α , α -disubstituted amino acid; (*S*)-butylethylglycine (=2-amino-2-ethylhexanoic acid: Beg). The homopeptides containing (*S*)-Beg (up to hexapeptide) were prepared by using solution-phase methods employing an ethyl ester as the C-terminal protection and a trifluoroacetyl group as the N-terminal protection. The heteropentapeptides containing (*S*)-Beg as a guest molecule in the Aib sequence were also prepared in the similar manner. The conformations of these peptides in the solid state were studied using X-ray crystallographic analysis, and those in solution were studied using IR, ^1H NMR, and CD spectra. The dominant conformation of homopeptides containing (*S*)-Beg was a fully planar C5-structure, and that of heteropeptides containing (*S*)-Beg and Aib was a 3_{10} -helical structure.

Key words : α , α -disubstituted amino acid, oligopeptide, molecular mechanics calculation

*¹九州大学薬学部

Ohnishi, S.¹, Murata, M.¹, Fukuhara, K., Miyata, M., Kawahishi, K.¹: **Oxidative DNA damage by a metabolite of carcinogenic 1-nitropyrene**

Biochem. Biophys. Res. Comm., **280**, 48-52(2001)

Nitropyrenes are carcinogenic pollutants. Adduct formation following nitro-reduction is considered to be a major cause of nitropyrene-mediated DNA damage. We investigated the role of 1-nitrosopyrene, a metabolite of 1-nitropyrene, in causing oxidative DNA damage, using ^{32}P -5'-end-labeled DNA. 1-Nitrosopyrene was found to facilitate Cu(II)-mediated DNA damage in the presence of NADH. Catalase and a Cu(I)-specific chelator attenuated DNA damage, indicating the involvement of H_2O_2 and Cu(I). Typical H_2O_2 scavenger did not have a significant effect. These results suggest that the main reactive species is probably a DNA-copper-hydroperoxo complex. We also measured 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine formation by 1-nitrosopyrene in the presence of Cu(II) and NADH, using an electrochemical detector coupled to a high-pressure liquid chromatograph. We conclude that oxidative DNA damage, in addition to DNA adduct formation, may play an important role in the carcinogenesis of nitropyrenes.

Keywords : Nitropyrene, Nitrosopyrene, DNA damage, Copper, Hydrogen peroxide

*¹Mie University School of Medicine

Hachisuka, A., Nakajima, O., Yamazaki, T., Sawada, J. : **Developmental expression of opioid-binding cell adhesion molecule (OBCAM) in rat brain**

Dev. Brain Res., **122**, 183-191 (2000)

OBCAM, a neuron-specific protein, has been presumed to play a role as a cell adhesion/recognition molecule, but its function has not been fully elucidated. We investigated the developmental expression of OBCAM in rat brain by using a monoclonal anti-OBCAM peptide antibody (OBC53). OBCAM was clearly de-

tectable on embryonic day 16 (E16) as assessed by immunoblotting. The expression level increased by the second postnatal week and was maintained at a constant level until week 17. During the early developmental period OBCAM was found to be expressed on postmitotic neurons and to be strongly expressed in the fiber tracts containing expanding axons, in contrast to the adult brain, in which OBCAM is principally expressed in the gray matter. These findings suggest that the function of OBCAM involves axonal outgrowth.

Keywords: OBCAM, development, immunohistochemistry

Suzuki R., Furuno T., Teshima R., Nakanishi M.: **Bi-directional relationship of in vitro mast cell-nerve communication observed by confocal laser scanning microscopy.**

Biol. Pharm. Bull., **24**, 291-294 (2001)

Communication between nerves and mast cells is a prototypic demonstration of neuro-immune interaction. Recently, we used an in vitro co-culture approach comprising cultured murine superior cervical ganglia (SCG) and rat basophilic leukemia (RBL) cells to study this interaction. In the present work, we studied the communication from mast cells to neurites. We observed that binding of anti-IgE receptor antibodies to mast cells increases calcium ion concentration $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in SCG neurites. This indicates that mast cell-nerve communication is bi-directional. Confocal fluorescence microscopic images indicated that $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in neurites increased after an increase of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in mast cells. The lag-time of neurite activation was several times longer than that of mast cell activation.

Keywords: nerve-immune interaction, co-culture, rat basophilic leukemia cells

Aketani S.^{*}, Teshima R., Umezawa Y.^{*}, Sawada J.: **Correlation between cytosolic calcium concentration and degranulation in RBL-2H3 cells in the presence of various concentrations of antigen-specific IgEs.**

Immunol. Lett., **75**, 185-189 (2001)

We studied the dependence of β -hexosaminidase release from RBL-2H3 cells on the antigen-specific IgE concentrations. The cells were sensitized with DNP-specific IgE (0.5-5000 ng/ml) or OVA-specific IgE (5-50 ng/ml) and stimulated with DNP₃₅-HSA (10^{-2} -100 ng/ml) or OVA (10^{-1} ng/ml-10 μg /ml). It was found that the β -hexosaminidase release increased in a dose-dependent manner with the concentration of the IgEs added to the mast-cell suspension. The percentage of β -hexosaminidase release from the cells was well correlated with $[\text{Ca}^{2+}]_i$ increase, and the correlation coefficient was 0.88 for DNP-specific IgE and 0.99 for OVA-specific IgE. Therefore, the $[\text{Ca}^{2+}]_i$ monitoring system is a sensitive marker of degranulation from RBL-2H3 cells and can be used to measure even low amounts of antigen-specific IgE.

Keywords: degranulation, calcium signal, IgE

*The University of Tokyo

Okunuki H., Teshima R., Sakushima J., Akiyama H., Goda Y., Toyoda M., Sawada J.: **Induction of active systemic anaphylaxis by oral sensitization with ovalbumin in mast-cell-deficient mice.**

Immunol. Lett., **74**, 233-237 (2000)

Mast-cell-deficient W/W(v) mice were sensitized by oral administration of 0.1 and 1.0 mg ovalbumin (OVA) by gavage every day for 9 weeks, and active systemic anaphylaxis (ASA) was induced by intraperitoneal injection of OVA. The production of OVA-specific IgE and IgG1 by oral immunization of the W/W(v) mice was high, and the production of IL-4 by splenocytes re-stimulated with OVA in vitro was increased. In contrast, production of OVA-specific IgG2a and IgG2b was low, and production of IFN- γ by splenocytes after re-stimulation with OVA in vitro was rather decreased. These findings suggest that Th2-dominant helper T-cell activation had occurred. The plasma platelet-activating factor (PAF) levels of the mice sensitized with 0.1 and 1.0 mg OVA by gavage increased significantly. W/W(v) mice seems to be a good model for studying induction of food allergy.

Keywords : Mast cell-deficient mice, PAF, food allergy

Aketani S.*, Teshima R., Sawada J., Umezawa Y.*: **A screening method for antigen-specific IgE using mast cells based on intracellular calcium signaling.**

Anal. Chem., **72**, 2653-2658 (2000)

A simple screening method is presented for the measurement of antigen-specific IgEs in sera in which mast cells are used. This method is based on the intracellular calcium signal in mast cells induced by cross-linking the surface high-affinity Fc receptors (Fc ϵ R1s) with IgEs and multivalent antigens. Two kinds of rodent mast cells, RBL-2H3 cells and mouse BMMCs, were used. Two antigen-specific IgEs (DNP-specific IgE, OVA-specific IgE) was used. It was found that $[Ca^{2+}]_i$ increased linearly with IgE concentrations ranging from 25 to 5000 ng/mL for DNP-specific IgE and from 5 to 50 ng/mL for OVA-specific IgE. By monitoring the increase of $[Ca^{2+}]_i$ in mast cells, we could determine the antigen-specific IgEs. The present immunological assay based on the Ca^{2+} signal transduction in mast cells offers new possibilities for efficient screening of antigen-specific IgEs.

Keywords : calcium signal, RBL-2H3 cells, BMMC

* The University of Tokyo

Teshima R., Onose J., Okunuki H., Sawada J.: **The effect of Ca^{2+} -ATPase inhibitors on the stimulation of mast cells.**

Recent. Res. Develop. Immunol., **2**, 141-151 (2000)

The effects of two Ca^{2+} -ATPase inhibitors, thapsigargin (TG) and cyclopiazonic acid (CPA), and three hydroquinone-antioxidants, DTBHQ, DTAHQ, MTBHQ on the production of various cytokines and degranulation and LTC₄ release from RBL-2H3 cells and BMMC (bone marrow-derived mast cells) were investigated. TG, CPA, DTBHQ and DTAHQ, all of which induce intracellular free Ca^{2+} concentration ($[Ca^{2+}]_i$) increase, induced degranulation and TNF- α release in the presence of TPA in a dose-dependent manner. In contrast, MTBHQ, which does not induce increase in $[Ca^{2+}]_i$, did not induce the release of histamine and TNF- α . LTC₄ production and IL-4 and MCP-1 release were increased by CPA and DTBHQ in a dose-dependent manner without TPA. There were two types of mediator release process in RBL-2H3 cells; 1. $[Ca^{2+}]_i$ increase itself is sufficient, 2. $[Ca^{2+}]_i$ increase and PKC work synergistically.

Keywords : Ca^{2+} -ATPase inhibitors, TNF- α , mast cells

Teshima R., Akiyama H., Okunuki H., Sakushima J., Goda Y., Onodera H., Sawada J., Toyoda M.: **Effect of GM and non-GM soybeans on the immune system of BN rats and B10A mice.**

J. Food Hyg. Soc. Japan, **41**, 188-193 (2000)

Subchronic animal feeding studies to examine the effect of glyphosate-tolerant soybeans, which contain the bacterial 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. strain CP4, on the immune system were conducted with BN rats and B10A mice. The studies were designed to compare the feeding value of a line of genetically modified glyphosate-tolerant soybeans (GM soybeans) to that of closely-related and one-parent same cultivar (non-GM soybeans). Heat-treated soybean meal was incorporated into the diets of the rats and mice at a concentration of 30%. The study duration was 15 weeks. Growth, food intake and weights of the liver and the spleen were compared between animals fed the non-GM and GM lines. Growth, feeding value, and the histopathology of immune-related organs showed no significant differences between animals fed GM and non-GM lines. No immunotoxic activity was found in GM-soybean-fed rats or mice.

Keywords : GM soybeans; CP4-EPSPS; immune system

Matsui, S.*, Adachi, R., Kusui, K., Yamaguchi, T., Kasahara, T.*, Hayakawa, T. and Suzuki, K.: **U73122 inhibits the dephosphorylation and translocation of cofilin in activated macrophage-like U937 cells**

Cell. Signalling, **13**, 17-22 (2001)

We found that U73122, an inhibitor of phospholipase C (PLC), suppressed both opsonized zymosan (OZ)-induced dephosphorylation and translocation of cofilin in macrophage-like U937 cells. OZ triggered an increase in inositol 1,4,5-trisphosphate (IP₃), and U73122 inhibited it. U73343, which was employed as an inactive analogue, had no such inhibitory activities as did U73122. Furthermore, herbimycin A, an inhibitor of src-type tyrosine kinase, also inhibited OZ-triggered IP₃ formation. These results suggest that the activity and localization of cofilin are regulated by PLC at the downstream of src-family tyrosine kinase.

Keywords: cofilin, U73122, phospholipase C

* 共立薬科大学

Adachi, R., Matsui, S.*, Kinoshita, M.*, Nagaishi, K.*, Sasaki, H., Kasahara, T.*, and Suzuki, K.: **Nitric oxide induces chemotaxis of neutrophil-like HL-60 cells and translocation of cofilin to plasma membranes**

Int. J. Immunopharmacol., **22**, 855-864 (2000)

We investigated chemotaxis of neutrophil-like HL-60 cells induced by NO, as well as the influence of NO on cofilin, an actin-binding phosphoprotein. Two NO donors were shown to cause chemotaxis, and a NO-specific scavenger inhibited the chemotaxis. Inhibitors of soluble guanylate cyclase inhibited this NO action. We also found that NO caused translocation of cofilin to the cell periphery, though dephosphorylation of cofilin was not detected. These results demonstrated that NO has chemotactic activity for neutrophils and caused the translocation of cofilin to

the plasma, membrane regions without its dephosphorylation.

Keywords: nitric oxide, chemotaxis, cofilin

* 共立薬科大学

安達玲子, 楠井 薫, 鈴木和博: 食細胞の機能発現におけるコフィリンの役割

炎症, Vol.20, No.6, 667-674 (2000)

Phagocytes play a central role in the host defense system. We have previously reported that cofilin, an actin- and PIP2-binding phosphoprotein, is dephosphorylated upon activation of phagocytes. We investigated the relationship between cofilin and phagocyte activation. Opsonized zymosan (OZ) induced dephosphorylation and translocation to the plasma membrane regions of cofilin. Both an inhibitor of Src family tyrosine kinase and an inhibitor of phospholipase C (PLC) inhibited OZ-induced superoxide production and phagocytosis as well as dephosphorylation and translocation of cofilin. It was shown that the activation of phagocytes and the change on the condition of cofilin are significantly related. The signaling pathway from OZ stimulation to cell response including Src family tyrosine kinase and PLC is discussed.

Keywords: phagocyte activation, signaling pathway, cofilin

Schmidt, A.G.¹, Kadambi, V.J.¹, Ball, N.¹, Sato, Y., Walsh, R.A.², Kranias, E.G.¹, Hoit, B.D.²

Cardiac-specific overexpression of calsequestrin results in left ventricular hypertrophy, depressed force-frequency relation and pulsus alternans in vivo

J. Mol. Cell. Cardiol., **32**, 1735-1744 (2000)

The purpose of the present study was to determine the effects of calsequestrin (CSQ) overexpression on basal cardiac function and the force-frequency relation in vivo. CSQ overexpressing mice and their isogenic controls were studied with an integrative approach using transthoracic echocardiography, stress-shortening relations, and invasive hemodynamics in intact closed-chest mice. Our findings indicated that: (i) although increased levels of CSQ result in decreased myocardial contractility and a depressed force-frequency relation, LV wall stress is reduced and chamber function is normal, and (ii) an increase in SR Ca²⁺ storage capacity induces pulsus alternans in the intact anesthetized mouse.

Keywords: calsequestrin, hemodynamics, transgenic mice

¹ University of Cincinnati, USA

² Case Western Reserve University, USA

Sato, Y., Kiriazis, H.¹, Yatani, A.¹, Schmidt, A.G.¹, Hahn, H.¹, Ferguson, D.G.², Sako, H.¹, Mitarai, S.¹, Honda, R.¹, Mesnard-Rouiller, L.¹, Frank, K.F.¹, Beyermann, B.¹, Wu, G.¹, Fujimori, K., Dorn, G.W. II¹, Kranias, E.G.¹

Rescue of contractile parameters and myocyte hypertrophy in calsequestrin overexpressing myocardium by phospholamban ablation

J. Biol. Chem., **276**, 9392-9399 (2001)

To test the hypothesis that inhibition of phospholamban activity may rescue myocardial abnormalities due to defects in sarcoplasmic reticulum, calsequestrin overexpressing mice were crossbred with phospholamban-knockout mice. Phospholamban ablation in

calsequestrin overexpressing mice led to reversal of the depressed cardiac contractile parameters, restoration in the ability of ICa to trigger SR Ca²⁺ release, and normalization of ventricular myocyte size. These results indicate that attenuation of phospholamban function may prevent or overcome functional and remodeling defects in hypertrophied hearts.

Keywords: phospholamban, transgenic mice, cardiac hypertrophy

¹ University of Cincinnati, USA

² Case Western Reserve University, USA

Ken-ichi Tanamoto, Hitomi Kato, Yuji Haishima and Satoko Azumi: **Biological property of lipid A isolated from *Flavobacterium meningosepticum*.**

Clin. Diagn. Lab. Immunol., **8**, 522-527 (2001)

The lipid A from *Flavobacterium meningosepticum* exhibited generally moderate activity compared to *Salmonella abortus equi* LPS used as a control in all the assay systems tested. The moderate activity of the lipid A may be explained by the unique fatty acid composition and the lack of a phosphate group in position 4'. Noticeably, the lipid A apparently induced TNF- α release from peritoneal macrophages in LPS-unresponsive C3H/HeJ, and the activation was suppressed by the LPS-specific antagonist. Taken together with the previous results concerning *Porphyromonas gingivalis* lipid A, which has high structural similarities to that of *F. meningosepticum*, and the induction of TNF- α release in macrophages from C3H/HeJ mice, the lipid A having novel fatty acids may possibly play a role for the activation of C3H/HeJ macrophages.

Key words: lipid A, C3H/HeJ mice, Flavobacterium meningosepticum

Ken-ichi Tanamoto, Takatoshi Iida, Yuji Haishima and Satoko Azumi: **Endotoxic property of lipid A from *Comamonas testosteroni*.**

Microbiology, **147**, 1087-1094 (2001)

The lipid A from *Comamonas testosteroni* was characterized by its relatively short-chain length (C10) of the 3-hydroxy fatty acid components directly bound to the glucosamine disaccharide backbone by either amide or ester linkage. The lipid A exhibited endotoxic activity in all of the assay systems tested to the same extent with those of *Salmonella* lipid A or *E. coli* lipopolysaccharide used as a control. The strong endotoxic activity of the lipid A indicates that the composition of 3-hydroxydecanoic acid is not responsible for the low endotoxicity of lipid A. Furthermore both the defect of second acylation of 3-hydroxy fatty acid attached to the position 3', and the substitution of a hydroxyl group to the 3-hydroxy fatty acid attached at position 2 do not affect the manifestation of endotoxic activity or species specificity.

Keywords: LPS, TNF- α , NO

Fujihara, M.¹, Wakamoto, S.¹, Ito, T.¹, Muroi M, Suzuki, T.² Ikeda, H.¹, Ikebuchi, K.¹: **Lipopolysaccharide-triggered desensitization of TNF- α mRNA expression involves lack of phosphorylation of I κ B α in a murine macrophage-like cell line, P388D1.**

J. Leukoc. Biol., **68**, 267-76 (2000)

We investigated the role of NF- κ B in lipopolysaccharide (LPS)-induced desensitization of TNF- α gene expression in P388D1 cells. Gel-shift assays revealed that nuclear localization of p65/p50, c-rel/p50 and p65/c-rel, and p65 homodimers was reduced in LPS-tolerant cells, whereas that of p50 homodimers was only slightly increased. Western analysis showed that the phosphorylation of Ser32 on I κ B α and its degradation did not occur in LPS-tolerant cells. These results suggest that desensitization of TNF- α gene expression in LPS-tolerant cells is closely associated with down-regulation of transactivating NF- κ B and may involve a defect in the LPS-induced I κ B α kinase pathway.

Keywords: NF- κ B, signal transduction, Toll-like receptor 4

*¹ 日本赤十字社北海道支部

*² Department of Microbiology, Molecular Genetics and Immunology, University of Kansas Medical Center

Yukiko Hara-Kudo*¹, Michiko Miyahara, and Susumu Kumagai*¹: **Loss of O157 O Antigenicity of Verotoxin-Producing *Escherichia coli* O157:H7 Surviving under Starving Conditions** *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 5540-5543 (2000)

Verotoxin (VT)-producing *Escherichia coli* O157:H7 was culturable on agar media after being left in water for 21 months. However, there were a number of colonies which had lost O157 O antigenicity. These colonies produced VTs, which are pathogenic to humans. These observations suggest that the immunologic methods based on O157 O antigenicity are unable to detect and isolate VT-producing *E. coli* in foods and other environments if the organism has been under starvation conditions for a long period.

Keywords: *Escherichia coli* O157:H7; O-antigenicity; verotoxin

*¹ 国立感染症研究所

Michiko Miyahara, Makoto Miyahara: **Effects of Gamma and E-beam Irradiation on Survival of Anaerobic and Aerobic Bacteria**

On line; *12th International Meeting on Radiation Processing Extended Synopsis*

http://www.atrplei.com/pdf/IMRP_3-P05_3-231.pdf (2001.3~)

Extended approvals of irradiated foods are requested, due to increase of food poisoning cases in the world. There are some discussions on effects on survival of bacteria by both irradiations (gamma rays and electron beam). Some anaerobic and aerobic bacteria irradiated will be tested on survival effects on agar in packaged atmosphere. We may propose preferable irradiation for reduction of some bacteria population.

Keywords: gamma irradiation; electron beam irradiation; bacteria

Yukiko Hara-Kudo*¹, Susumu Kumagai*², Takashi Masuda*³, Koukichi Goto*⁴, Kayoko Ohtsuka*⁵, Hiroyuki Masaki*⁵, Hiroyuki Tanaka*⁶, Kenji Tanno*⁶, Michiko Miyahara, and Hirotaka Konuma: **Detection of *Salmonella enteritidis* in shell and liquid eggs using enrichment and plating**

Intl. J Food Microbiol., **64**, (2001), 395-399

Detection methods using various enrichment and plating media and immunoconcentration for *Salmonella enteritidis* in shell

and liquid eggs were evaluated. For liquid egg samples naturally contaminated with *S. enteritidis*, pre-enrichment in 225 ml of buffered peptone water with cysteine followed by selective enrichment in 10 ml of tetrathionate broth was the superior, resulting in the detection of *S. enteritidis* in all samples on six of the seven types of selective agar substrate investigated. This enrichment procedure also enabled detection of *S. enteritidis* in most of artificially inoculated shell egg and pasteurized liquid egg samples.

Keywords: *Salmonella enteritidis*; shell Egg; Detection

*¹ 国立感染症研究所

*² 東京大学院農生命

*³ 静岡県環境科学研究所

*⁴ 新潟県食肉衛生検査センター

*⁵ 埼玉県衛生研究所

*⁶ 日本食品分析センター

工藤由起子*¹, 小西良子*¹, 春日文子*¹, 伊藤嘉典*¹, 岩城正昭*¹, 斉藤典子*¹, 小沼博隆, 熊谷進*¹: **腸管出血性大腸菌 O157:7 によって実験的に汚染した野菜種子に関する研究**

日食微誌, **17**, 201-205(2000)

野菜種子が食中毒細菌に汚染され、生育した野菜が食中毒を引き起こすことが知られている。腸管出血性大腸菌 O157:7 (*E. coli* O157:H7) による実験的汚染種子の冷蔵保存中の菌の消長を調べた結果、カイワレ大根種子 10 g 当たり約 10³ cfu の汚染濃度の場合には 36 週間以上生存し、約 10² cfu の場合は 20 週間以上生存した。小松菜種子において本菌はカイワレ大根よりも速く死滅した。また、*E. coli* O157:H7 で実験的に汚染させたカイワレ大根種子を栽培し、得られた可食部における *E. coli* O157:H7 の分布を電子顕微鏡下で観察し、気孔周辺に多くの本菌が存在することが判明した。

Keywords: *Escherichia coli* O157:H7, radish sprout, seed,

*¹ 国立感染症研究所

Nakagawa, H*¹, Hara-Kudo, Y.*², Kojima, T., Ikedo, M*³, Kodaka, H.*⁴, Konuma, and Kumagai, S.*²: **Detection of freeze-injured *Escherichia coli* O157:H7 from foods by resuscitation prior to selective enrichment**

Int. J. Food Microbiol., **60**, 107-110(2000)

We tried to detect *Escherichia coli* O157:H7 in food samples artificially contaminated with freeze-injured *Escherichia coli* O157:H7 using an enrichment method with modified EC broth supplemented with novobiocin. When the samples were cultured for enrichment immediately after inoculation of freeze-injured cells, *E. coli* O157 was not detected in 13 out of 18 samples. Ground beef or radish sprouts inoculated with 6 colony forming units of *E. coli* O26 were homogenized in 225 ml 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財団法人東京顕微鏡院
 *²国立感染症研究所
 *³栄研化学株式会社
 *⁴日水製薬株式会社

後藤公吉*¹, 渡 昭博*², 瀬ノ口芳文*³, 春口真一*⁴, 増田高志*⁵, 塚本定三*⁶, 小沼博隆, 品川邦汎*⁷: 食肉のサルモネラモニタリング

日本獣医師誌, 53, 473-477(2000)

わが国の対米輸出食肉と畜場では米国農務省の改正により, サルモネラのモニタリングを行うことが義務づけられた。このサルモネラの検査法は, 米国農務省の食品安全検査局(FSIS)より検出感度97%以上, 検出特異性96%以上の方法であることが規定されている。今回, サルモネラの検査として, わが国で通常行われている食品衛生検査指針に示されている方法(食衛法と)FSISの方法(FSIS法)について比較検討した。その結果, 硫化水素(H₂S)生産サルモネラの検出では食衛法はFSIS法と同等の成績であったが, H₂S非生産サルモネラでは食衛法はFSIS法に比べ明らかに低い検出率であった。

Keywords: HACCP, H₂S, *Salmonella*

- *¹新潟県食肉衛生検査センター
 *²群馬県中央食肉衛生検査所
 *³宮崎県食肉衛生検査所
 *⁴鹿児島県末吉食肉衛生検査所
 *⁵静岡県環境衛生科学研究所
 *⁶大阪府公衆衛生研究所
 *⁷岩手大学農学部

Sakai, A., Teshima, R.: 2,5-Di-tert-butyl-1,4-hydroquinone enhances cell transformation accompanied by an increase in intracellular free calcium ion concentration
Cancer Lett., 168, 183-190 (2001)

Two hydroquinones with similar structures, 2,5-di-tert-butyl-1,4-hydroquinone (DTBHQ) and 2-tert-butyl-1,4-hydroquinone (MTBHQ), are used as antioxidants in the environment. DTBHQ and MTBHQ were examined for their ability to induce cell transformation using BALB/3T3 cells. DTBHQ at concentrations of 2.5-15 μM enhanced cell transformation initiated by a subthreshold dose of 3-methylcholanthrene (MCA) in a two-stage cell transformation assay. Because DTBHQ is known to act as a calcium ion mobilizing agent in other cells, we examined the effects of DTBHQ on intracellular free calcium ion concentration ([Ca²⁺]_i) in BALB/3T3 cells. DTBHQ elevated [Ca²⁺]_i with a dose dependency similar to that of its enhancing effect on the MCA-initiated cell transformation. MTBHQ neither enhanced cell transformation nor induced increase of [Ca²⁺]_i. Aberrant calcium signaling produced by DTBHQ might contribute to the enhancement of MCA-initiated transformation in BALB/3T3 cells.

Keywords: 2,5-di-tert-butyl-1,4-hydroquinone, cell transformation, calcium ion

Sakai, A.: p-Nonylphenol acts as a promoter in the BALB/3T3 cell transformation
Mutation Res., 493, 161-166 (2001)

p-Nonylphenol (NP) has attracted attention as an estrogenic contaminant, and the environmental pollution by NP has been found to be extensive. NP is classified as a phenolic antioxidant. Some phenolic antioxidants are known to induce and/or enhance carcinogenesis. We examined the effects of NP on the two-stage transformation of BALB/3T3 cells, a model of two-stage carcinogenesis. The treatment by NP in the promotion phase markedly enhanced the transformation of the cells pretreated with a subthreshold dose of a carcinogen, 3-methylcholanthrene (MCA), but not that of non-pretreated cells. The promoting activity of NP was approximately one hundredth of that of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA). The treatment by NP in the initiation phase did not induce cell transformation with and without post-treatment by TPA. These results indicate that NP acts as a pure promoter of cell transformation. The enhancement by NP of MCA-initiated transformation was suggested not to be mediated by estrogen receptors in BALB/3T3 cells because 17 β-estradiol did not promote cell transformation in our experiments, and it has been reported that BALB/3T3 cells do not express estrogen receptors at a detectable level.

Keywords: Nonylphenol; cell transformation; tumor promotion

村松芳多子*¹, 太田利子*², 相原真紀*³, 朴鍾吉吉*⁴, 徐闊*⁴, 鈴木明子, 成田紀子, 高鳥浩介: 真菌定量試験における適培養期間

防菌防黴, 28(4):225-230(2000)

真菌定量試験の基本的条件として, 培養期間の問題がある。国内にある真菌試験の規格をみてもかなり条件が異なる。そこで, 今後の規格設定するための基礎実験として, 多種真菌を用いて, 適培養期間と定量性をあわせて検討した。

Keywords: optimal growth period, quantitative test, CFU

- *¹千葉県立衛生短期大学
 *²相模女子大学
 *³お茶の水女子大学
 *⁴Yonsei University, Korea

相原真紀*, 田中辰明*, 高鳥浩介: 居住環境壁面にみる真菌の垂直分布

防菌防黴, 28(7):421-426(2000)

居住環境にみる真菌の生態を研究しており, 微気象と真菌の関係を検討した。真菌の分布をみると最も影響するであろう湿度の観点から研究する必要がある。そこで, 同一居住環境での壁面にみる真菌垂直分布を検索した。環境条件として, 温湿度を測定したところ, 温度変化は少ないが, 湿度は下方ほど高い傾向にあった。そこで真菌分布をみたところ, 下方ほどCFUが有意に高かった。さらに主要真菌にも特徴がみられた。

Keywords: fungal CFU and distribution, vertical point of dwelling, micro meteorology

*お茶の水女子大学

小菅旬子*¹, 後藤義隆*¹, 新城敏晴*¹, 安斉*², 高鳥浩介: ウマ飼育環境における敷料からの喉嚢炎原因真菌 *Emericella nidulans* の検出とその意義

真菌誌, 41:251-256(2000)

真菌性喉嚢炎の起因真菌である *Emericella nidulans* は

ウマ特有の感染症であり、いままで本菌の起病性、疫学を調査してきた。ここでは、衛生学的観点から*E. nidulans*の環境での生息性を敷料で検討し、さらに分布する因子を研究した。さらに本菌の分布意義について考察を加えた。

Keywords : *Emericella nidulans*, horse bedding, guttural pouch mycosis

*¹ 宮崎大学

*² 日本中央競馬会

高橋淳子¹, 土谷正和², 田中重則³, 中瀬崇⁴, 山口英世⁵, 高鳥浩介 : 環境水と浄水にみる真菌とその化学的背景
 秦野研報, 23 : 18-23(2000)

水環境での真菌は、環境汚染のひとつのパロメーターとなりうる。同時に水質の程度を知るうえでも重要である。ところが、こうした水環境での真菌に関する規格基準は必要であるにもかかわらず成文化されていない。そこで環境水として河川、湖沼、浄水、工業用水にみる真菌と水質の分析をおこない、今後の規格基準の基礎資料とする。

Keywords : water, fungi, chemical analysis

*¹ (財)食品薬品安全センター

*² 和光純薬(株)

*³ 生化学工業(株)

*⁴ 理化学研究所

*⁵ 帝京大学

Toru Anzai¹, K. Takatori, J. Kosuge², M. Akai¹ and T. Higuchi³ : Distribution of *Emericella nidulans* in the environment of Thoroughbred stables

J. Equine Sci., 11:119-21 (2000)

In order to understand the distribution of *Emericella nidulans*, the main causative agent of guttural pouch mycosis, in the environment of stable, fungal isolation was carried out from samples collected from a racehorse training center and breeding farms. *E. nidulans* was mainly isolated from bedding straw at the training center stables and from straw at the breeding farms. The main habitat of *E. nidulans* in the stables included straw and hay for bedding or feeds and that these materials were often contaminated with fungi before use.

Keywords : *Emericella nidulans*, guttural pouch mycosis, horse environment

*¹ Japan Racing Association

*² Miyazaki University

*³ Hidaka Agriculture Mutual Aid Association

Aihara, Maki*, Tanaka T.* and K. Takatori : *Cladosporium*, as the main fungal contaminant of locations in dwelling environments.

Biocontrol Science 6 : 49-52 (2001)

A total of 75 locations in 26 houses were examined for fungal contamination. Sixteen genera from 68 locations were detected. *Cladosporium* was highly isolated from them. A high frequency of contamination was seen to involve *Cladosporium*, of which *C. sphaerospermum* and *C. cladosporioides* were detected frequently at rates of 63.6 and 14.6%, respectively.

Keywords : *Cladosporium*, fungal contamination, dwelling environments

*Ochanomizu University

Jong-Chul Park*, Han D-W*, Park B-J*, Lee D-H*, K. Takatori and Hwal Suh* : Effective screening medium for the biodegradation of oleic acid by *Aspergillus niger*.

Biocontrol Science 6 : 37-41 (2001)

To investigate oleic acid biodegradation, 7 *Aspergillus niger* strains were tested with 3 different types of Czapek broth medium containing oleic acid, and their metabolic abilities to decompose the fatty acid into carbon dioxide and water were compared. When the fungal strains were grown in the Czapek broth with both ¹⁴C-labeled and non-labeled oleic acid, 2 strains of *A. niger* oxidized more than 58% of the supplied substrate within 72 hours. The addition of saccharose as an additional carbon source substantially reduced the biodegradation of oleic acid to the point that all the strains showed less than 4% degradation.

Keywords : Oleic acid, *Aspergillus niger*, biodegradation

* Yonsei University, Korea

Kaminuma, T., Nakata, K., Nakano, T. and Takai-Igarashi, T.: Pharmacoinformatics Infrastructure for Genome-based Personalized Medicine. CBI Journal, 1, 1-17 (2001)

Personalized medicine is an idealized medical practice aiming to give the right drugs to the right patients at the right times. It has been widely admitted that many projects for finding Single nucleotide polymorphisms (SNPs) are the basis for such practice. New informatics is also needed in order to utilize these data and knowledge effectively. Such an informational environment, i.e., data and knowledge bases and computational tools, would be called the infrastructure for personalized medicine. The infrastructure would also be useful in pharmaceutical research for finding leads and analyzing detailed mechanisms of drug actions. As the only national institution for pharmaceutical research in Japan, we have started to implement some components of the infrastructure and put their prototypes on the Web. Further research initiatives are being discussed in the Chem-Bio Informatics Society as of its Grand Challenge Projects.

Keywords : Informatics, Genome, Infrastructure

山本 都 : 化学物質のデータベース構築—地研との交流
 公衆衛生, 64 (6), 405-409 (2000)

1990年代半ばから、サリン事件、重油流出事故、和歌山ヒ素カレー事件など化学物質に係わる重大事故・事件が相次ぎ、「健康危機管理」や「情報ネットワーク」の重要性がクローズアップされてきたことから、化学物質情報部で作成している化学物質情報のデータベース等の紹介と共に、分野・機関横断的な情報ネットワークおよび情報の共同利用を目指したシステムの構築について考察した。

山本 都 : 化学物質情報へのアクセス—その 3 : 化学物質の情報検索—実践編

食品衛生学雑誌, 41 (4), J-259-263 (2000)

化学物質の安全性に係わる情報が記載されている各種データベースや資料等の情報源を調査し、情報収集の際に情報の信頼性、検索の簡便性、コストなどの点から有用と思われる情報源、媒体等を考察した。

中野達也, 高島一^{*1}, 長嶋雲兵^{*2}: タンパク質の第一原理電子状態計算—生体化学反応の理論的解析を目指して—シミュレーション, **19**, 271-281 (2000)

Information of electronic state of biomolecules such as protein is indispensable to understanding of property of biomolecules and mechanism of biochemical reactions. Molecular orbital calculation is applied to simulate its electronic states. However molecular orbital calculation for large scale system as biosystem is very difficult to execute even on supercomputer because the amount of calculation is proportionally increased with the fourth power of system size. In order to realize low cost and personal execution of ab initio MO, we are developing a special purpose computer for molecular orbital calculation: MOEngine to increase calculation power. A novel method: the fragment MO method was also developed to decrease the amount of computation in MO calculation. We report that the calculation of electronic state of biomolecule will be inexpensively and personally executable using MOEngine and the fragment MO method showing some examples.

Keywords: Fragment MO method, MOEngine, biomolecules

^{*1} 大正製薬 (株)

^{*2} 産業技術融合領域研究所

T. Nakano, T. Kaminuma, T. Sato^{*1}, Y. Akiyama^{*2}, M. Uebayasi^{*3}, and K. Kitaura^{*4}: **Fragment Molecular Orbital Method: Application to polypeptides** *Chem. Phys. Letters*, **318**, 614-618. (2000)

Recently we have proposed the fragment molecular orbital method for calculating large molecules such as proteins. The method, with some modifications for a practical convenience, was applied to the model peptides of (Gly)_n and (Ala)_n (n=5~20), [Met⁵]enkephalin (YGGFM), and the synthetic designed peptide ALPHA-1 (Acetyl-ELLKLLLEELKG). The calculated total energies were well compared with those from the conventional ab initio MO method; the errors were within about 2 kcal/mol. It indicates that the fragment MO method is sufficiently accurate and useful to study electronic properties of large molecules.

Keywords: Fragment MO method, ab initio MO method, polypeptides

^{*1} Fuji Research Institute Corporation

^{*2} Electrotechnical Laboratory

^{*3} National Institute of Bioscience and Human-Technology

^{*4} Osaka Prefecture University

T. Nakano, T. Kaminuma, M. Uebayasi^{*1}, Y. Nakata^{*2}: **3D Structure Based Atomic Charge Calculation for Molecular Mechanics and Molecular Dynamics Simulations** *CBI J.*, **1**, 35-40 (2001)

We propose a new charge equilibration approach that depends upon molecular 3D structure. Nishimoto - Mataga equation is used to express the shielding effect. With the present approach, it is not necessary to iterate simultaneous equations for evaluating charge equilibration, although that is required in the QEq method. Atomic charge calculations were carried out for several organic molecules. Calculated charge distributions are in good agreement with experimental values.

Keywords: atomic charge, QEq, Nishimoto - Mataga equation

^{*1} National Institute of Bioscience and Human-Technology

^{*2} Gunma University

Sekizawa J., Suter, G.^{*1}, Vermeire T.^{*2} and Munns W.^{*1}: **An Example of Integrated Approach for Health and Environmental Risk Assessment: Case of Organotin Compounds** *Water Science & Technology*, **41**, 305-313 (2000)

Because environmental decision making based solely on simple compilation of toxicological data on either wild life or humans in isolation can not give effective answers about the nature and levels of risk, an integrated approach for risk assessment of adverse effects of chemicals is required. Integration of available information on health and environmental effects, from in vitro to the level of humans, across various species, across different endpoints, and combination with integrated exposure data, permits enhanced estimation of the potential risks posed by various agents. Mechanistic and quantitative consideration are the keys in this process. The value and utility of the integrated approach is shown using the example of organotin compounds.

Keywords: integration, organotin compounds, risk assessment

^{*1} US Environmental Protection Agency

^{*2} RIVM, the Netherlands

関澤 純: 化学物質のリスクにおける不確実性の評価
日本リスク研究学会誌, **12** (2), 4-9 (2000)

リスクと不確実性とは本来不可分の関係にあるが良く理解されていない。本論文は筆者が日本リスク研究学会の春期シンポジウム (2000年6月) で講演した内容を基に書かれた。リスク評価の枠組みから解きおこし、リスク評価における不確実性の要因としてメカニズムの未解明による「真の不確実性」と、分布や変動のために一定の値をとれない「不確定で幅があることによる不確実性」の区別について解説した。より具体的にリスク評価における不確実性と問題点について、推測の必要性と情報における不確実性の原因、感受性の多様性や環境条件における分布と変動、データ取得の困難による不確実性、パラメータの不確実性とサンプリングや測定法の問題点と誤差、シナリオやモデルにおける不確実性について論じた。さらに「内分泌攪乱化学物質のリスク評価における不確実性分析」についての筆者の研究を踏まえて、健康リスク評価における不確実性の検討の問題を、動物データから人への外挿における不確実性 (データに基づく不確実性係数の選択) と、健康へのリスクと環境へのリスクの統合的な評価の観点から論じた。

Keywords: uncertainty and its components, chemical risk, endocrine disruptor, International Programme on Chemical Safety, uncertainty factor

関澤 純: 環境リスクの評価

環境と測定技術, **27** (5), 61-69 (2000)

「環境と測定技術」誌が環境リスクの評価をシリーズとしてとりあげるといふ企画の導入として、化学物質による人の健康と環境中生物へのリスクの評価において、筆者らが国際協力により積み重ねてきた成果の一部を紹介しつつ、現在発展しつつある環境リスク評価の基礎的な枠組みとその背景、および今後の課題について概説した。IPCSによる評価とその仕組みを基本に、リスク評価の目的とあり方について、

データの組織化と解析手法の体系的な研究, 健康リスク評価の
手順およびリスク管理との関係を論じ, 環境リスク評価につ
いてUS EPAの環境リスク評価のスキームと欧州連合で化学
物質の健康と環境への影響の初期評価に用いられている
EUSESの概念を紹介した. さらに, 情報が不十分な中での評
価と不確実性の解析, CICAD計画の紹介, 今後の課題として
確率論的扱いと不確実性解析, 統合的リスク評価, 透明なプ
ロセスと批判的検討, 枠組みと判定の基準となる手法の確
立, リスクの比較による優先順位付けと社会の判断, その基
礎としてリスク評価とリスク対応のリンクおよび, そのサイ
クリックな関係による両者の改善について提示した.

キーワード: データの組織化と解析手法の体系的な研究, 統合
的リスク評価, 不確実性の解析

関澤 純: 環境管理におけるリスク・コミュニケーション
水環境学会誌, 23 (7), 406-411 (2000)

環境問題におけるリスク・コミュニケーションの国内外
の事例から, 環境ホルモン・ダイオキシン問題, 0157病原菌
健康被害への対応, 消費者団体・行政および業界の代表が同
席したワークショップでの応答, 日本化学会における環境庁
と通産省の委託による3年間にわたる国内の化学物質リス
クコミュニケーションの現状分析と今後のあり方の検討, 米
国における「地域住民の知る権利法」などを分析し, リスク・
コミュニケーションにおけるマスコミ, 専門家, 住民, NGO
の役割について論じた. 今後のあり方については, 独自に
行ったアンケートの結果, I P C SのCICAD (国際簡潔評価
文書) 計画, 有害廃棄物埋立地近傍の住民を対象とした
ATSDRの健康影響評価, 健康影響モニタリング, 地域公衆衛
生の指針の作成と情報の提供, 米国大統領府・議会諮問委員
会の「リスク管理の新たな枠組み」も参考にして, リスク・
コミュニケーションが21世紀社会における共存の必須の基
盤であることを示した.

キーワード: 科学への興味と信頼性, 評価プロセス・判断基
準と決定根拠の明示, リスクの予測と未然防止

関澤 純: 化学物質管理とリスクコミュニケーションの
あり方

高圧ガス, 37 (10), 12-17 (2000)

化学物質は危険なもの, やっかいなものというイメージが
広くある. しかしそのイメージは一面では当てはまり, 正し
くリスクを予測して管理しないと, とんでもないことにな
る. したがってリスクを予測して, よりリスクを少なくする
手段を講じたり, より良い手法を模索するため, 関係者がそ
れぞれの立場から知恵をしぼり, 意見を交換しあって適切に
運営してゆくことが求められている.

すなわち, 考えられるリスクを分析し, リスクの予防と管
理のための方策を検討することが, まずなされなければならない.
この段階でも, できうる限り関係者がいっしょになっ
て可能な問題点を探り, さまざまな方策を検討する必要がある.
それぞれの自主性を尊重し違った考え方や手法を比較し,
その根拠や特質を討論し最善の対策を選び選択がなされ
たら, 実行し, 手順を踏んでみて, 不都合があればさらに改
善を重ねていかなければならない.

キーワード: 科学的推測と価値判断, 化学物質への不安, リ
スクコミュニケーションの発展段階

関澤 純: リスクコミュニケーションと情報公開
環境技術, 29 (10), 52-57 (2000)

情報公開とリスク・コミュニケーションとは違うこと, な
ぜリスク・コミュニケーションについて研究されるように
なってきたか? 「地域住民の知る権利法」制定の背景や, 環
境ホルモン・ダイオキシン問題と市民の不安の分析を進め
ると同時に, リスクと有害性, コミュニケーションと情報開
示・説明責任・情報公開・情報提供・情報交換の違いにつ
いて解説した. さらに科学的なリスク評価, 価値判断とリス
ク対応の意思決定の関係, 公衆のリスク受容性に影響を及ぼす
要因と, 違いの尊重, 違いの理由や原因の相互理解の重要
性, 透明性と批判的検討の関係では仮定の立て方や予測の道
筋の明示と, 批判的検討を許すプロセスについて記し, 危機
管理とリスクコミュニケーションの違いと関係, 日常的な対
応や緊急時の即応, リスクコミュニケーションの枠組みの構
築の必要性, 社会の各グループの役割について論じた.

キーワード: リスク・コミュニケーションの専門能力, 立場
の違いの尊重と自主的な判断, 双方向の意見交換

関田清司, 梅村隆志, 齊藤 実, 小川幸男, 上野克典,
金子豊蔵, 内田雄幸, 松島裕子, 川崎 靖, 黒川雄二,
井上 達: F344ラットによるフクロノリ抽出物90日間反
復混餌投与毒性試験

食品衛生学雑誌, 42, 96-101 (2001)

食品添加物, フクロノリ抽出物 (FE) の0, 0.5, 1.5及び
5.0%添加飼料を雄雌のラットに90日間摂取させる毒性試験
を行った. 結果, 雄雌の1.5%群以上で摂餌量の増加が. ま
た, 雄5.0%群で血清脂質 (総コレステロール, 中性脂肪)
の弱い減少傾向が認められた. しかし, いずれの変化も毒性
変化とは考察されなかった. 以上のことから, FE5.0%添加
飼料摂取, 平均FE摂取量mg/kg/day, 雄で3, 362mg, 雌で
3, 594mgは毒性変化が認められない用量であると結論した.
また, FEの一般毒性は弱いものと考察された.

Keywords: fukuronori (gloiopeltis furcata) extract, 90-day tox
icity study, funoran

Takahashi, Y., Koizumi, K.*, Takagi, A., Kitajima, S., Inoue,
T., Koseki, H.*and Saga, Y.: *Mesp2* initiates somite segmen
tation through the Notch signalling pathway.

Nat Genet., 4, 390-396 (2000)

The Notch signaling pathway plays an important role in estab
lishing metameric pattern during somitogenesis. In mice, the lack
of either of *MesP2* or *Presenilin-1* (PS1) results in contrasting
phenotypes, caudalized vs. rostralized vertebra. We adopted a
genetic approach to analyze the molecular mechanism underlying
the establishment of rostro-caudal polarity in somites. By fo
cusing on the fact that expression of a Notch ligand, *Dll1* is criti
cally important for prefiguring somite identity, we found that
MesP2 plays an important role to initiate establishment of rostro
caudal polarity by controlling two Notch signaling pathways.
MesP2- and *PS1*-dependent activation of Notch signaling path
ways might differentially regulate *Dll1* expression resulting in the
establishment of the rostro-caudal polarity of somites.

Keywords: Somitogenesis, Notch signaling, Molecular genetics
*Chiba University School of Medicine

Kitajima, S., Takagi, A., Inoue, T. and Saga, Y.: **MesP1 and MesP2 are essential for the development of cardiac mesoderm** *Development*, **127**, 3215-3226 (2000)

The transcription factors, MesP1 and MesP2, sharing an almost identical bHLH motif, have an overlapping expression pattern during gastrulation and somitogenesis. To understand the cooperative functions of MesP1 and MesP2, either a deletion or sequential gene targeting strategy was employed to inactivate both genes. The double-knockout (dKO) embryos died around 9.5 days postcoitum (dpc) without developing any posterior structures such as heart, somites or gut. The major defect in this double-knockout embryo was the apparent lack of any mesodermal layer between the endoderm and ectoderm. In the chimeric embryos, dKO cells were scarcely observed in the anterior-cephalic and heart mesoderm, however, they did contribute to the formation of the somites, notochord and gut. These results strongly indicate that the defect in the cranial-cardiac mesoderm is cell-autonomous, whereas the defect in the paraxial mesoderm is a non-cell-autonomous secondary consequence.

Key words : MesP1, MesP2, heart morphogenesis

Sawada, A.¹, Fritz, A.², Jiang, Y-J.³, Yamamoto, Y.⁴, Yamasu, K.⁵, Kuroiwa, A.¹, Saga, Y. and Takeda, H.¹: **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)

We have characterized zebrafish mesp-a and mesp-b genes that are segmentally expressed in the somite primordia. Observation in fused somites (fss) embryos suggests that these genes are downstream targets of fss at the segmentation stage. 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 mesp genes are involved in anteroposterior specification within the presumptive somites.

Key words : Somitogenesis, Notch signalling, Zebrafish

¹ Graduate School of Science, Nagoya University

² Department of Biology, Emory University, USA

³ Imperial Cancer Research Fund, UK

⁴ Department of Biological Chemistry, University of California, USA

⁵ Faculty of Science, Saitama University

Yoon, BI., Hirabayashi, Y., Kawasaki, Y., Kodama, Y., Kaneko, T., Kim, DY.* and Inoue, T.: **Mechanism of action of benzene toxicity: Cell cycle suppression in hemopoietic progenitor cells (CFU-GM)** *Experimental Hematology*, **29**, 278-285(2001)

Objective: The aim of this study was to clarify previously reported controversial data and hypotheses concerning the effect of benzene on the cell cycle of hemopoietic stem cells. Materials & Methods: In this study, the bromodeoxy-uridine UV (BUUV) suicide assay was performed in normal C57BL/6 and p53 knockout (KO) C57BL/6 mice during and after exposure to 300 ppm of benzene for 2 weeks. Conclusions: Our present study revealed the mechanism of action of benzene hematotoxicity. Benzene sup-

presses the cell cycle by p53-mediated over-expression of p21, a cyclin-dependent kinase inhibitor, resulting not simply in suppression of hemopoiesis but rather in a dynamic change of hemopoiesis during and after benzene exposure. Thus, the controversies raised by previously reported data are resolved by our present findings of hemopoietic stem cell kinetics.

Keywords : Cell cycle, CFU-GM, Benzene

*ソウル国立大学獣医学部

Iwama, T.*, Kamikawa, J.*, Higuchi, T.*, Yagi, K.*, Matuzaki, T.*, Kanno, J. and Maekawa, A.*: **Development of invasive adenocarcinoma in a long-standing diverted ileal J-pouch for ulcerative colitis: report of a case** *Dis Colon Rectum*, **43** (1), 101-4 (2000)

We report a case of a 50-year-old male with ulcerative colitis who developed well-differentiated adenocarcinoma in the ileal J-pouch, which had been defunctioning for 18 years. The extension of the carcinoma in the pouch suggested that it had recently appeared in the pouch. Monitoring by endoscopic examination and biopsy or pouch excision seems to be an appropriate action if a pouch is out of the fecal stream.

Keywords : Ulcerative colitis, Ileal J-pouch, Adenocarcinoma

* Kyoundou Hospital and Department of Pathology, Sasaki Institute

Fujiwara M¹, Okayasu I², Oritsu M¹, Komatsu J¹, Yoshitsugu M¹, Katoh Y¹, Bandoh T¹, Toyoshima H¹, Kase Y³, Sugihara K⁴, Kanno J, Hayashi Y⁵: **Significant increase in prostaglandin E-main urinary metabolite by laxative administration: comparison with ulcerative colitis** *Digestion*, **61**, 201-6(2000)

OBJECTIVE: To assess the production of prostaglandin E(2), an important chemical mediator in diarrhea induced by laxative administration, a prostaglandin E-main urinary metabolite (7 α -hydroxy-5,11-diketotetranor-prosta-1,16-dioic acid, PGE-MUM) was measured in healthy volunteers and compared with the values of patients with ulcerative colitis. METHODS: PGE-MUM was determined by a simplified immunoassay of bicyclic PGE-MUM. CONCLUSION: Laxative administration induces production of prostaglandin E(2) as one of the chemical mediators, although its production grade is relatively low as compared with ulcerative colitis in the active phase.

Keywords : Laxatives, ProstaglandinE, Ulcerative colitis

¹ Japanese Red Cross Medical Center

² Kitasato University School of Medicine

³ Central Laboratory, Tsumura & Co

⁴ Kudanzaka Hospital

⁵ Kitasato University School of Pharmacy

根本哲夫*, 森山美樹*, 坂田康子*, 山本嘉子*, 江石義信*, 菅野 純: **家族性大腸腺腫に合併した甲状腺乳頭腺癌の細胞像**

日本臨床細胞学会雑誌, **39**, (5) (2000)

背景: 家族性大腸腺腫 (Familial adenomatous polyposis 以下 FAP) は APC 遺伝子の germline mutation に起因する遺伝性疾患であり, 若年女性の甲状腺に乳頭腺癌をしばし

ば合併することが知られている。近年、甲状腺乳頭癌に細胞の篩状配列や充実性増殖などの組織学的特徴を有するcribriform-morular variant (CMV) が提唱され、FAPに伴う甲状腺乳頭癌は、多くがその範疇に入るものと考えられる。われわれは家族性大腸腺腫症に合併した甲状腺癌の2例を経験し、穿刺吸引細胞像を検討した。症例: 症例はいずれも20歳女性。甲状腺腫瘍に対し吸引細胞診が行われた。通常の乳頭癌にみられるコロイド、核の切れ込みなどの他に、1) 細長い核を有する高円柱状細胞の柵状配列、2) 多角形細胞の充実性胞巣、3) 立方状胞の篩状配列が特徴的な細胞所見であり、穿刺吸引細胞像からCMV甲状腺癌の推定が可能と考えられた。結論: CMVは非FAP患者では比較的まれであることから、甲状腺穿刺吸引細胞診でこれらの特徴的な細胞像を認めた場合には、甲状腺腫瘍が初発症状として気付かれたFAPである可能性を考慮する必要があると考えられると述べた。

Keywords: Thyroid papillary carcinoma, Familial adenomatous polyposis, Aspiration cytology

*東京医科歯科大学

樋口哲郎*, 岩間毅夫*, 家城和夫*, 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ーシスの1例
胃と腸, 35, (3) (2000)

要旨 患者は49歳、女性。長期間に亘って追跡を行っていたJSPの1家系の発端者である。腹痛、嘔吐を主訴し、腸重積の診断で開腹術を施行した。回腸癌(発達度mp)を先進部とする腸重積であった。腫瘍はp53の過剰発現をfocalに認め、JSPに発生する回腸癌に関しても一般の大腸癌と同じくp53遺伝子異常が関係している可能性を示唆していた。JSPの責任遺伝子と言われるSMAD4、更にJSPに関連する可能性のあるSMAD1, SMAD2, SMAD3, SMAD5, PTEN, PTCHを検索したが異常は認めなかった。JSPの原因遺伝子はSMAD4のみではない可能性が高く、更に関東が必要であると述べた。

Keywords: 若年性ポリポーシス, 回腸癌, 遺伝子診断

*佐々木研究所付属杏雲堂病院

Kamikawa, Y.¹, Shibukawa, A.¹, Uchida, K.¹, Kojima, S.¹, Sakuma, A.¹, Kubota, K.¹, Ohno, Y. and Okuda, H.²: Comparison of motor reactivity of the human colon cold-stored in different preservative solutions for carbachol and noradrenaline *in vitro*

Polish J. Pharmacol. 52, 299-305 (2000)

冷蔵保存ヒト結腸輪状標本の収縮性についてカルバコールをもちいて検討したところ、MEM培地及びKrebsリンゲル液で保存した標本の収縮はリン酸緩衝液中で保存した標本より低下が大きかった。同様の結果はノルアドレナリンによる弛緩反応においても認められた。

Keywords: preservation, smooth muscle, contractivity

¹ 獨協医科大学

² 日本製薬工業協会

Sakai, T.¹, Takahashi, M.², Mitsumori, K.³, Yasuhara, K., Kawashima, K.⁴, Mayahara, H.⁵ and Ohno, Y.: Collaborative work to evaluate toxicity on male reproductive organs by 2-week repeated dose toxicity studies in rats

J. Toxicol. Sci. 25, special issue, 1-21 (2000)

薬物等の雄性生殖臓器毒性を検出するために必要なげっ歯類での反復投与毒性試験の期間と観察方法について明らかにするために、28社の協力のもとで、雄性生殖臓器へ影響することの知られている24種の薬物について、その毒性発現をラットを用いた2週間および4週間の反復投与毒性試験と比較した。その結果、適正な用量設定を行い、精子のステージ分析を含む詳細な病理組織学的観察を行うことにより、2週間でも検出できることが明らかになった。

Keywords: validation, male fertility test, repeated dose toxicity study

¹ 山之内製薬

² 昭和大学

³ 東京農工大学

⁴ 化合物安全性研究所

⁵ ラビトン

Takahiko, B.¹, Touchi, A.¹, Yamaguchi, Y.¹, Ito, K.², Yamazoe, Y.³, Sugiyama, Y.⁴ and Ohno, Y.: Can *in vitro* metabolism and enzyme inhibition be explained by unbound drug concentration?

Drug Metabolism Reviews, 32 (suppl.2), p.222 (2000)

薬物速度論的解析においては蛋白等と結合していない、遊離型の薬物が代謝を受けたり、阻害活性を有する事を前提にしている。すなわち、反応系における結合蛋白の有無にかかわらず遊離型の薬物濃度を基準にして求めたKm値やKi値は変わらないはずである。しかし、薬物によってはアルブミンや肝可溶性分画の反応系への添加によりそれらの値が変化することを示した。

Keywords: pharmacokinetics, protein binding, free form

¹ 塩野義製薬

² 北里大学

³ 東北大学

⁴ 東京大学

Hide, I.¹, Tanaka, M.¹, Inoue, A.¹, Inoue, K., Nakajima, K.², Kohsaka, S.² and Nakata, Y.¹: Extracellular ATP triggers TNF- α release from rat microglia

J. Neurochem., 75, 965-972 (2000)

The TNF- α release was maximally elicited by 1 mM ATP and also induced by a P2X₇ selective agonist, 2'- and 3'-O-(4-benzoylbenzoyl)-adenosine 5'-triphosphate (BzATP), suggesting the involvement of P2X₇. ATP-induced TNF- α release was Ca²⁺-dependent and a sustained Ca²⁺ influx in response to ATP was correlated with the extent of TNF- α release. TNF- α release induced by ATP was inhibited by PD98059, an inhibitor for MEK1 which activates extracellular signal-regulated protein kinase (ERK), and SB203580, an inhibitor for p38 MAP kinase. However, both ERK and p38 were rapidly activated by ATP even in the absence of extracellular Ca²⁺. These results indicate that extracellular ATP triggers TNF- α release in rat microglia via P2 receptor, likely P2X₇, by a mechanism, which is dependent on both the sustained Ca²⁺ influx and ERK/p38 cascade regulated independently from Ca²⁺ influx.

Keywords: ATP, microglia, TNF- α

¹ Department of Pharmacology, Institute of Pharmaceutical Sciences, Hiroshima University School of Medicine

² Department of Neurochemistry, National Institute of Neuroscience

Honda, S.*, Imai, Y.*, Ohsawa, K.*, Nakamura, Y.*, Inoue, K., Kohsaka, S.*: **Extracellular ATP or ADP induce chemotaxis of cultured microglia through Gi/o-coupled P2Y receptors.**

J. Neurosci., **21**, 1975-1982 (2001)

Extracellular ATP and ADP induced membrane ruffling and markedly enhanced chemokinesis in Boyden chamber assay. Further analyses using the Dunn chemotaxis chamber assay, which allows direct observation of cell movement, revealed that both ATP and ADP induced chemotaxis of microglia. The elimination of extracellular calcium or treatment with pyridoxal-phosphate-6-azophenyl-2',4'-disulphonic acid, suramin, or adenosine-3'-phosphate-5'-phosphosulfate did not inhibit ATP- or ADP-induced membrane ruffling, whereas AR-C69931MX or pertussis toxin treatments clearly did so. As an intracellular signaling molecule underlying these phenomena, the small G-protein Rac was activated by ATP and ADP stimulation, and its activation was also inhibited by pretreatment with pertussis toxin. These results strongly suggest that membrane ruffling and chemotaxis of microglia induced by ATP or ADP are mediated by G (i/o)-coupled P2Y receptors.

Keywords : ATP, microglia, chemotaxis

* Department of Neurochemistry, National Institute of Neuroscience

Tsuda M, Koizumi S, Kita A, Shigemoto Y, Ueno S, Inoue K.: **Mechanical allodynia caused by intraplantar injection of P2X receptor agonist in rats: involvement of heteromeric P2X_{2/3} receptor signaling in capsaicin-insensitive primary afferent neurons.**

J. Neurosci., **20**, RC90 (2000)

Here, we found a novel nociceptive response induced by ATP, mechanical allodynia. Injection of α , β -methylene ATP (α β meATP), an agonist to P2X receptor, into plantar surface in rats produced the mechanical allodynia along with previously described nocifensive behavior and thermal hyperalgesia. This allodynic response was blocked by pretreatment with the P2 receptor antagonist pyridoxal-phosphate-6-azophenyl-2',4'-disulfonate. Interestingly, only the mechanical allodynia evoked by α β meATP selectively remained in neonatal capsaicin-treated adult rats that had selectively lost the capsaicin-sensitive neurons. Taken together with our previous finding that the α β meATP-activated slow desensitizing current in DRG neurons is mediated by heteromeric P2X_{2/3} (P2X₂ and P2X₃) receptors, it is hypothesized that activation of heteromeric P2X_{2/3} receptors in peripheral terminals of capsaicin-insensitive primary afferent fibers leads to the induction of mechanical allodynia.

Keywords : P2X receptors, Mechanical allodynia, Capsaicin sensitivity

Sato, K., Matsuki, N.*, Ohno, Y., Nakazawa, K.: **Extracellular ATP reduces optically monitored electrical signals in hippocampal slices through metabolism to adenosine**

Eur. J. Pharmacol., **399**, 123-129 (2000)

Electrical signals in rat hippocampal slices were optically monitored using a voltage-sensitive dye to determine whether extracellular ATP exhibits direct effects through its own receptors or indirect effects after its hydrolysis to adenosine. The dentate gyrus was stimulated and electrical signals in the CA1 and the CA3 region were analyzed. ATP, ADP and AMP inhibited the excitation in the CA1 region. The inhibition by ATP was antagonized by adenosine receptor antagonists and α , β -methylene ADP, an inhibitor of 5'-nucleotidases. The results suggest that extracellular ATP inhibits neuronal electrical signals in hippocampal slices after its metabolism to adenosine.

Keywords : ATP, Hippocampus, Optical recording

*東京大学薬学部

Frame, L.T.¹, Ozawa, S., Nowell, S.A.¹, Chou, H.C.², DeLongchamp, R.R.², Doerge, D.R.¹, Lang, N.P.¹, Kadlubar, F.F.²: **A simple colorimetric assay for phenotyping the major human thermostable phenol sulfotransferase (SULT1A1) using platelet cytosols**

Drug Metabolism Disposition, **28**, 1063-1068 (2000)

A thermostable phenol sulfotransferase, SULT1A1, has been implicated in numerous detoxification and bioactivation pathways. A simple endpoint colorimetric assay is described that can be used for rapid phenotyping of SULT1A1 activity in human populations. This reaction concomitantly results in generation of p-nitrophenol that can be quantified colorimetrically at 405 nm ($\epsilon = 18,200$ M⁻¹) to give an indirect measure of sulfotransferase activity.

Keywords : phenol sulfotransferase assay, human, genetic polymorphism

¹ National Center for Toxicological Research, USA

² Arkansas Cancer Research Center, USA

Ozawa, S., Ohta, K.*, Miyajima, A., Kurebayashi, H., Sunouchi, M., Shimizu, M.*, Murayama, N., Matsumoto, Y.*, Fukuoka, M.*, Ohno, Y.: **Metabolic activation of o-phenylphenol to a major cytotoxic metabolite, phenylhydroquinone: role of human CYP1A2 and rat CYP2C11/CYP2E1**

Xenobiotica, **30**, 1005-1017 (2000)

The in vitro metabolic activation of o-phenylphenol has been evaluated as yielding a toxic metabolite, 2,5-dihydroxybiphenyl (phenylhydroquinone), by p-hydroxylation in liver microsomes of rat and human. The involvement of rat CYP2C11, CYP2E1 and human CYP1A2 in the p-hydroxylation of o-phenylphenol is suggested.

Keywords : o-phenylphenol, phenylhydroquinone, cytochrome P450

*昭和薬科大学

Nowell, S.¹, Ambrosone, C. B.², Ozawa, S., MacLeod, S.L.¹, Mrackova, G.², Williams, S.¹, Plaxco, J.¹, Kadlubar, F.F.², Lang, N. P.¹: **Relationship of phenol sulfotransferase activity (SULT1A1) genotype to sulfotransferase phenotype in platelet cytosol**

Pharmacogenetics, **10**, 789-97 (2000)

To date, one genetic polymorphism (Arg213His) has been iden-

tified that is associated with reduced platelet sulfotransferase activity. A simple colorimetric phenotyping assay, in conjunction with genotyping, was employed to demonstrate a significant correlation ($r = 0.23$, $P < 0.01$) of SUL1A1 genotype and platelet sulfotransferase activity towards 2-naphthol.

Keywords : Phenol sulfotransferase, genotype, food-derived carcinogen

¹ Arkansas Cancer Research Center, USA

² National Center for Toxicological Research, USA

Gaubatz, S.², Lindeman, G.J.², Ishida, S., Jakoi, L.¹, Nevins, J.R.¹, Livingston, D.M.², Rempel R.E.¹: **E2F4 and E2F5 play an essential role in pocket protein-mediated G1 control**
Mol. Cell., **6**, 729-35 (2000)

E2F transcription factors are major regulators of cell proliferation. The diversity of the E2F family suggests that individual members perform distinct functions in cell cycle control. E2F4 and E2F5 constitute a defined subset of the family. Until now, there has been little understanding of their individual biochemical and biological functions. Here, we report that simultaneous inactivation of E2F4 and E2F5 in mice results in neonatal lethality, suggesting that they perform overlapping functions during mouse development. Embryonic fibroblasts isolated from these mice proliferated normally and reentered from G0 with normal kinetics compared to wild-type cells. However, they failed to arrest in G1 in response to p16INK4a. Thus, E2F4 and E2F5 are dispensable for cell cycle progression but necessary for pocket protein-mediated G1 arrest of cycling cells.

Keywords : cell cycle, E2F, knock out

¹ Dep. of Genetics, HHMI, Duke University Medical Center, USA.

² The Dana-Farber Cancer Institute and Harvard Medical School, USA

Rempel, R.E.*¹, Saenz-Robles, M.T.*¹, Storms, R.*¹, Morham, S.*¹, Ishida, S., Engel, A.*¹, Jakoi, L.*¹, Melhem, M.F.*¹, Pipa, S.J.M.*¹, Smith, C., Nevins, J.R.*¹: **Loss of E2F4 activity leads to abnormal development of multiple cellular lineages**
Mol. Cell., **6**, 293-306 (2000)

We have generated mice deficient in E2F4 activity, the major form of E2F in many cell types. Analysis of newborn pups deficient in E2F4 revealed abnormalities in hematopoietic lineage development as well as defects in the development of the gut epithelium. Specifically, we observed a deficiency of various mature hematopoietic cell types together with an increased number of immature cells in several lineages. This was associated with an increased frequency of apoptotic cells. We also found a substantial reduction in the thickness of the gut epithelium that normally gives rise to crypts as well as a reduction in the density of villi. These observations suggest a critical role for E2F4 activity in controlling the maturation of cells in a number of tissues.

Keywords : cell cycle, E2F, knock out

* Dep. of Genetics, HHMI, Duke University Medical Center, USA.

Leone, G.*¹, Nuckolls, F.*¹, Ishida, S., Adams, M.*¹, Sears, R.*¹, Jakoi, L.*¹, Miron, A.*¹, Nevins, J.R.*¹: **Identification of a novel**

E2F3 product suggests a mechanism for determining specificity of repression by Rb proteins

Mol. Cell Biol., **20**, 3626-3632 (2000)

The tumor suppressor function of Rb is intimately related to its ability to interact with E2F and repress the transcription of E2F target genes. Here we describe a novel E2F product that specifically interacts with Rb in quiescent cells. This novel E2F, which we term E2F3b, is encoded by a unique mRNA transcribed from an intronic promoter within the E2F3 locus. The E2F3b RNA differs from the previously characterized E2F3 RNA, which we now term E2F3a, by the utilization of a unique coding exon. In contrast to the E2F3a product that is tightly regulated by cell growth, the E2F3b product is expressed equivalently in quiescent and proliferating cells. But, unlike the E2F4 and E2F5 proteins, which are also expressed in quiescent cells and form complexes with the p130 protein, the E2F3b protein associates with Rb and represents the predominant E2F-Rb complex in quiescent cells. Thus, the previously described specificity of Rb function as a transcriptional repressor in quiescent cells coincides with the association of Rb with this novel E2F product.

Keywords: cell cycle, E2F, Rb

*Dep. of Genetics, HHMI, Duke University Medical Center, USA.

Onoda, F.*¹, Seki, M.*¹, Miyajima, A., Enomoto, T.*¹: **Elevation of sister chromatid exchange in *Saccharomyces cerevisiae* *sgs1* disruptants and the relevance of the disruptants as a system to evaluate mutations in Bloom's syndrome gene**

Mutat. Res. **28** ; 459, 203-9 (2000)

The *SGS1* of *Saccharomyces cerevisiae* is a homologue of the Bloom's syndrome and Werner's syndrome genes. The *sgs1* disruptants show hyperrecombination, higher sensitivity to methyl methanesulfonate and hydroxyurea, and poor sporulation. In this study, we found that sister chromatid exchange was increased in *sgs1* disruptants. We made mutated *SGS1* genes coding a protein proved to lack DNA helicase activity (*sgs1-hd*), having equivalent missense mutations found in Bloom's syndrome patients (*sgs1-BS1*, *sgs1-BS2*). None of the mutated genes could suppress the higher sensitivity to methyl methanesulfonate and hydroxyurea and the increased frequency of interchromosomal recombination and sister chromatid exchange of *sgs1* disruptants. On the other hand, all of the mutant genes were able to complement the poor sporulation phenotype of *sgs1* disruptants, although the values were not as high as that of wild-type *SGS1*.

Keywords: *SGS1*, sister chromatid exchange, Bloom's syndrome

* Tohoku University

Miyajima, A., Seki, M.¹, Onoda, F.¹, Shiratori, M.¹, Odagiri, N.¹, Ohta, K.², Kikuchi, Y.³, Ohno, Y., Enomoto, T.¹: **Sgs1 helicase activity is required for mitotic but apparently not for meiotic functions**

Mol. Cell Biol. **20**, 6399-409 (2000)

The *SGS1* gene of *Saccharomyces cerevisiae* is a homologue for the Bloom's syndrome and Werner's syndrome genes. The disruption of the *SGS1* gene resulted in very poor sporulation, and the majority of the cells were arrested at the mononucleated stage. The recombination frequency measured by a return-to-growth

assay was reduced considerably in *sgs1* disruptants. However, double-strand break formation, which is a key event in the initiation of meiotic DNA recombination, occurred. The spores produced by *sgs1* disruptants showed relatively high viability. The *sgs1 spo13* double disruptants sporulated poorly, like the *sgs1* disruptants, but spore viability was reduced much more than with either *sgs1* or *spo13* single disruptants. The poor sporulation of *sgs1* disruptants was complemented with a mutated *SGS1* gene encoding a protein lacking DNA helicase activity; however, the mutated gene could suppress neither the sensitivity of *sgs1* disruptants to methyl methanesulfonate and hydroxyurea nor the mitotic hyperrecombination phenotype of *sgs1* disruptants.

Keywords : *SGS1*, helicase, meiotic function

¹ Tohoku University

² The Institute of Physical and Chemical Research

³ The University of Tokyo

Miyajima, A., Seki, M.*, Onoda, F.*, Ui, A.*, Satoh, Y.*, Ohno, Y., Enomoto, T.*: **Different domains of Sgs1 are required for mitotic and meiotic functions**

Genes Genet. Syst. **75**, 319-26 (2000)

The *SGS1* of *Saccharomyces cerevisiae* is a homologue for human Bloom's syndrome, Werner's syndrome, and Rothmund-Thomson's syndrome causative genes. Disruptants of *SGS1* show high sensitivity to methyl methanesulfonate (MMS) and hydroxyurea, and hyper recombination phenotypes including interchromosomal homologous recombination in mitotic growth. In addition, *sgs1* disruptants show poor sporulation and a reduced level of meiotic recombination as assayed by return-to-growth. We examined domains of Sgs1 required for mitotic and meiotic functions of Sgs1 by transfecting variously mutated *SGS1* into *sgs1* disruptants. The N-terminal 1-401 amino acid region was required for complementation of MMS sensitivity and suppression of hyper heteroallelic recombinations of *sgs1* disruptants in mitotic growth and for complementation of poor sporulation and of reduced meiotic recombination. Although DNA helicase activity of Sgs1 was not required for Sgs1 to complement the meiotic functions, a deletion of helicase motifs III-IV (842-1046 amino acid) abolished the complementing activity of Sgs1, indicating that a structurally intact helicase domain is necessary for Sgs1 to fulfill its meiotic functions.

Keywords : *SGS1*, DNA repair, DNA recombination

* Tohoku University

Onoda, F.*, Seki, M.*, Miyajima, A., Enomoto, T.*: **Involvement of *SGS1* in DNA damage-induced heteroallelic recombination that requires *RAD52* in *Saccharomyces cerevisiae***

Mol. Gen. Genet. **264**, 702-8 (2001)

The *SGS1* gene of *Saccharomyces cerevisiae* is homologous to the genes that are mutated in Bloom's syndrome and Werner's syndrome in humans. Disruption of *SGS1* results in high sensitivity to methyl methanesulfonate (MMS), poor sporulation, and a hyper-recombination phenotype including recombination between heteroalleles. In this study, we found that *SGS1* forms part of the *RAD52* epistasis group when cells are exposed to MMS. Exposure to DNA-damaging agents causes a striking, Rad52-depend-

ent, increase in heteroallelic recombination in wild-type cells, but not in *sgs1* disruptants. However, in the absence of DNA damage, the frequency of heteroallelic recombination in *sgs1* disruptants was several-fold higher than in wild-type cells, as described previously. These results imply a function for Sgs1: it acts to suppress spontaneous heteroallelic recombination, and to promote DNA damage-induced heteroallelic recombination.

Keywords : *SGS1*, *RAD52*, heteroallelic recombination

* Tohoku University

Nakajima, M.*, Takahashi, H.*, Sasaki, M.*, Kobayashi, Y.*, Ohno, Y., Usami, M.: **Comparative developmental toxicity study of indium in rats and mice**

Teratogenesis Carcinog. Mutagen., **20**, 219-227 (2000)

The developmental toxicity of indium was examined in both rats and mice using comparable experimental protocols. In rats, indium caused fetal weight decrease and fetal gross malformations. In mice, however, indium did not cause fetal gross malformations although it caused fetal weight decrease and fetal death. It was concluded from these results that rats and mice were susceptible to the embryotoxicity of indium at similar developmental stages in the early organogenetic period, but mice were less susceptible to the teratogenicity of indium than rats in terms of gross malformation.

Keywords : indium trichloride, malformation, embryotoxicity

* Institute for Life Science Research, Asahi Chemical Industry Co., Ltd., Japan

Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Ikezaki, S., Itoh, T., Suzuki, T., Uchida*, K., Kurihara, M., Hayashi, M., Miyata, N. and Hirose, M.: **Trans-4-hydroxy-2-nonenal, an aldehydic lipid peroxidation product, lacks genotoxicity in *lacI* transgenic mice.**

Cancer Lett., **148**, 81-86 (2000)

In order to cast light on the significance of lipid peroxidation products for carcinogenesis, the *lacI* mutant frequency (MF), micronucleus induction and cell proliferation were analyzed in *lacI* transgenic mice treated with *trans*-4-hydroxy-2-nonenal (HNE), a typical example. Male mice were ip injected with HNE at doses of 0, 5 or 50 mg/kg bw and 48 h thereafter, peripheral blood was collected for analyzing micronucleus induction. After 14 days, the mice were sacrificed to allow tissue sampling for examination of *lacI* MF and cell proliferative activity. Sixty percent of the mice given 50 mg/kg HNE died within 5 days after the treatment, but no other mortalities were observed. Histopathologically, marked pulmonary hemorrhage was found in the 50 mg/kg HNE group mice that survived until day 14. Immunohistochemically, HNE-modified proteins were detected in their alveolar macrophages. The HNE treatment did not increase *lacI* MF in the liver, kidney and lung and no significant increase in micronucleus induction or cell proliferation in major organs was found in either treatment. Moreover, no tumors developed in the 5 mg/kg HNE-treated mice which survived until week 78. Our results thus indicate that HNE lacks in vivo genotoxicity in *lacI* transgenic mice even when lethal doses are applied.

Keywords : *Trans*-4-hydroxy-2-nonenal, *lacI* mutation, Micro-

nucleus

*1 Nagoya University

Furukawa, F., Nishikawa, A., Ishiwata, H., Takahashi, M., Hayashi, Y. and Hirose, M.: **Renal carcinogenicity of concurrently administered fish meal and sodium nitrite in F344 rats** *Jpn. J. Cancer Res.*, **91**, 139-147 (2000)

The effects of long-term concurrent administration of powdered fish meal (FM) and sodium nitrite (SN) were examined in F344 rats. Rats in groups 1-3 and 7-9 were respectively fed diets supplemented with 64%, 32% and 8% (basal diet) FM, and simultaneously given 0.12% SN in their drinking water. Groups 4-6 and 10-12 were respectively given 64%, 32% and 8% FM and tap water. At the 104th week, all surviving animals were killed and examined histopathologically. Treatment with FM dose-dependently increased the incidences and multiplicities of atypical tubules, adenomas and renal cell carcinomas in SN-treated males. Females were less susceptible than males for renal tumor induction. In males given the 64% FM diet alone, the incidence and multiplicity of atypical tubules were also significantly increased as compared with the 8% FM alone case. Nephropathy was apparent in FM-treated groups in a clear dose-dependent manner, irrespective of the SN treatment, and was more prominent in males than in females. Dimethylnitrosamine was found in the stomach contents after 4-week treatment with 64% FM plus 0.12% SN, at a level twice that in the 8% FM plus 0.12% SN group. The results clearly indicate that concurrent administration of FM and SN induces renal epithelial tumors. Further studies are required to elucidate how nephropathy and nitrosamines produced in stomach contents may contribute to the observed renal tumor induction.

Keywords : Powdered fish meal, sodium nitrite, renal cancer

Imazawa, T., Mitsumori, K., Kitajima, S., Onodera, H., Tamura, T., Takahashi, M., Hirose, M.: **Time course of ultrastructural changes and immunoelectron microscopic localization of neurocalcin in motor endplates of the lumbrical muscles of rats given a single administration of 2,5-di(tert-butyl)-1,4-hydroquinone** *Acta Neuropathol.*, **99**, 109-116 (2000)

A time-course study of ultrastructural changes and immunoelectron microscopic localization of neurocalcin was performed on motor endplates of the lumbrical muscles of female rats given a single administration of 2,5-di(tert-butyl)-1,4-hydroquinone (DTBHQ) at a dose of 120 mg/kg. At the ultrastructural level, neurotoxicity characterized by a decrease or loss of synaptic vesicles and mitochondria was observed after 24 h and at the 1 week time point. After 6 weeks, newly formed reinnervated endplates were observed. Immunoelectron microscopically, the synaptic vesicle membranes were heavily labeled for neurocalcin in the control rats, but not at 24 h after DTBHQ treatment. The results strongly suggest that DTBHQ targets the motor endplates in the rat lumbrical muscles, causing depletion of neurocalcin in the synaptic vesicles followed by their loss.

Keywords : DTBHQ, rat, motor endplate

Shibutani, M., Uneyama, C., Miyazaki, K., Toyoda, K., Hirose, M.: **Methacarn fixation, a novel tool for analysis of gene ex-**

pressions in paraffin-embedded tissue specimens

Lab. Invest., **80**, 199-208 (2000)

In order to establish a quantitative method for analysis of gene expressions in small areas of tissue after paraffin-embedding, preliminary experiments with RT-PCR were performed using methacarn-fixed rat tissues. A sufficient amount of total RNA for quantitative RT-PCR of many genes could be extracted from a deparaffinized liver section by a simple, single step extraction method. Low concentration of contaminating genomic DNA and resolution of ribosomal RNAs proved the purity and integrity of extracted RNA samples, allowing PCR-amplification of long mRNA sequence and mRNA species expressing low-copy numbers. Thus, methacarn-fixed paraffin-embedded tissue has benefits for analysis of RNAs in the cells of histologically defined areas.

Keywords : Methacarn, Paraffin-embedded tissue, Gene expression analysis

Toyoda, K., Shibutani, M., Sato, H., Uneyama, C., Takahashi, M., Hayashi, Y., Hirose, M.: **Lack of carcinogenicity and increased survival in F344 rats treated with 5-fluorouracil for 2-years**

Food Chem. Toxicol., **38**, 187-193 (2000)

The carcinogenicity of 5-fluorouracil (5-FU) was investigated in F344 rats of both sexes. 5-FU was administered to groups of 50 male and 50 female rats ad lib. for 104 weeks, added to drinking water at concentrations of 0, 62, 125 ppm. Body weight gains were slightly depressed in the 125 ppm group of both sexes. While not statistically significant in females, final survival rates at week 111 in the 125 ppm group of both sexes were higher than those in the control group, suggesting an ability of 5-FU to prolong the life span. Histopathologically, there was no significant induction of any neoplastic or non-neoplastic lesions, indicating a lack of carcinogenicity of 5-FU under the present experimental conditions using rats.

Keywords : 5-Fluorouracil, Carcinogenicity, Rat

Mitsumori, K., Onodera, H., Shimo, T., Yasuhara, K., Takagi, H., Koujitan, T., Hirose, M., Maruyama, C. and Wakana, S. : **Rapid induction of uterine tumors with p53 point mutations in heterozygous p53-deficient CBA mice given a single intraperitoneal administration of N-ethyl-N-nitrosourea**

Carcinogenesis, **21**, 1039-1042, (2000)

The sensitivity of heterozygous p53-deficient CBA mice [p53 (+/-)] to N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) was investigated. p53 (+/-) and wild-type littermates [p53(+/+)] were given an i.p. injection of ENU and were maintained for 26 weeks. The incidence of uterine tumors and lung adenomas in p53 (+/-) mice was significantly greater than that in p53 (+/+) mice. Malignant lymphomas were only induced in p53 (+/-) mice. Gene analysis revealed GCG → GTG point mutations in codon 135 of exon 5 of the p53 allele in the uterine endometrial stromal sarcomas. Our results suggest that female p53(+/-) CBA mice are very susceptible to uterine carcinogenesis, providing a useful model for ENU-induced uterine tumors.

Keywords : p53-deficient mouse, MNU, uterine tumor

Son, H.-Y., Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Miyauchi, M., Nakamura, H., Ikeda, T. and Hirose, M.: **Organ-dependent modifying effects of oltipraz on N-nitrosobis (2-oxopropyl)amine (BOP)-initiation of tumorigenesis in hamsters**

Cancer Lett., **153**, 211-218 (2000)

Oltipraz is known to inhibit tumorigenesis induced by variety of carcinogens in several animal model systems. In the present experiment, the modifying effects of dietary oltipraz, given during BOP initiation of carcinogenesis, were investigated in Syrian hamsters. Groups 1-3 were thrice given subcutaneous injections of BOP at 1 week intervals and fed diets supplemented with 400 or 200 ppm of oltipraz or basal diet alone, starting 1 week prior and finishing 1 week after the carcinogen exposure. The incidences and multiplicity of adenocarcinomas of the pancreas were higher in groups 1 and 2 than in group 3 although without statistical significance. The incidence of pancreatic duct dysplasias was significantly increased in group 2 but not in group 1 as compared with group 3. While the incidences of alveolar adenomas and carcinomas were significantly decreased by the high dose, the multiplicities of hepatocellular adenomas, cholangiocellular carcinomas and gall bladder adenomas were elevated in the BOP/oltipraz groups. The results of the present study suggest that oltipraz exerts organ-dependent modifying effects on BOP-induced carcinogenesis in hamsters when given in the initiation stage.

Keywords : oltipraz on N-nitrosobis (2-oxopropyl)amine, hamster

Imazawa, T., Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Ikeda, T.*, Takahashi, M., Hirose, M.: **Lack of carcinogenicity of gardenia blue colour given chronically in the diet to F344 rats**

Food Chem. Toxicol., **38**, 313-318 (2000)

The carcinogenicity of gardenia blue colour was examined in Fischer 344 (F344) rats.

Groups of 50 males and 50 females were given the material at dietary doses of 0 (control), 2.5 or 5% for 104 weeks and then sacrificed. The doses were selected on the basis of results from a 13-week subchronic toxicity study. A slight increase in relative organ weights of the left lung was observed in male rats of the 5% group. However, no significant differences between the control and treated groups were noted with regard to clinical signs, mortality and haematological findings. A variety of tumours developed in all groups, including the controls, but all were histologically similar to those known to occur spontaneously in F344 rats, and no statistically significant increase in the incidence of any type of neoplastic lesion was found for either sex in the treated groups. Thus, it was concluded that, under the present experimental conditions, gardenia blue colour is not carcinogenic in F344 rats.

Keywords : Carcinogenicity, gardenia blue colour, F344 rat

* Showa Women's University

Chung, F.-L.*, Nath, R.G.*, Ocampo, J.*, Nishikawa, A. and Zhang, L*.: **Deoxyguanosine adducts of t-4-hydroxy-2-nonenal are endogenous DNA lesions in rodents and humans: detection and potential sources**

Cancer Res., **60**, 1507-1511 (2000)

t-4-Hydroxy-2-nonenal (HNE) is a free radical-mediated oxidation product of polyunsaturated fatty acids. As an electrophile, HNE readily binds to proteins and yields diastereomeric cyclic 1,^{N2}-propano adducts with deoxyguanosine (dG). Here, we report the detection and identification of the HNE-derived cyclic 1,^{N2}-propano-dG adducts as endogenous DNA lesions in tissues of untreated rats and humans using a highly sensitive ³²P-postlabeling method in conjunction with high-performance liquid chromatography. These adducts were first verified by their comigration with the synthetic UV standards of HNE-dG adducts. Subsequently, their identities were unequivocally established by two independent reactions. An approximately 37-fold increase in the levels of HNE-dG adducts was observed in the liver DNA of F344 rats after treatment with CCl₄, suggesting that tissue lipid peroxidation is a likely source of their formation. Our studies in vitro further indicate that ω⁶ polyunsaturated fatty acids are likely a unique class of fatty acids involved in HNE-dG adduct formation.

Keywords : t-4-Hydroxy-2-nonenal, adduct, endogenous DNA lesion

* American Health Foundation

Shoda, T., Mitsumori, K., Takahashi, T., Horiuchi, K., Yamazaki, Y., Suzuki, Y., Katsuda, Y., Yokomoto, Y. and Kurumi, M.: **Liver tumor promotion by β-naphthoflavone, a strong CYP1A1/2 inducer, in a 28 week two-stage rat hepatocarcinogenesis model using diethylnitrosamine as an initiator**

J. Toxicol. Pathol., **13**, 37-43 (2000)

β-naphthoflavone (BNF) is a strong inducer of cytochrome P450 (CYP) 1A but not CYP 2B. To determine its liver tumor promotion potential, a F344 rat model initiated with diethylnitrosamine (DEN) and subjected to two-thirds partial hepatectomy was used. The incidence of hepatocellular adenomas and glutathione S-transferase placental form (GST-P)-positive altered hepatocellular foci were elevated in the DEN+BNF group as compared to the DEN alone group at week 28. In conclusion, BNF promoted hepatocarcinogenesis initiated by DEN. The data of proliferating cell nuclear antigen labeling indices supported this conclusion.

Keywords : β-naphthoflavone, hepatocarcinogenesis, rat

Shinoda, K., Mitsumori, K., Uneyama, C. and Uehara, M.: **Induction and inhibition of testicular germ cell apoptosis by fluoroacetate in rats**

Arch. Toxicol., **74**, 33-39 (2000)

Fluoroacetate (FA), an inhibitor of aconitase, has been suggested to be a possible determinant of the form of cell death, apoptosis or necrosis. To investigate FA-induced testicular toxicity, adult SD rats were given a single dose of FA and sequentially analyzed. Germ cell degeneration was first found in round spermatids and in spermatogonia. Degenerating spermatogonia exhibited characteristic features of apoptosis by both electron microscopy and in situ terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL), whereas spermatids did not. After that, the degenerating/TUNEL-labeled spermatogonia were drastically decreased compared to those from the control. It was concluded

that FA induces either apoptosis or necrosis of male germ cells in the early stage after dosing and subsequently inhibits spontaneous apoptosis.

Keywords : fluoroacetate, testicular toxicity, apoptosis

Yasuhara, K., Kobayashi, H., Shimamura, Y., Koujitani, K., Onodera, H., Takagi, H., Hirose, M. and Mitsumori, K.: **Toxicity and blood concentrations of xylazine and its metabolite, 2,6-dimethylaniline, in rats after single or continuous oral administrations**

J. Toxicol. Sci., **25**, 105-113 (2000)

To investigate risk of 2,6-dimethylaniline (DMA), a metabolite of xylazine, which intake may increase by ingestion of edible tissues from its treated domestic animals, the following studies were performed. Male F344 rats fed a diet containing 3000 or 300 ppm of DMA for 4 weeks. Bowman's gland atrophy and irregular arrangement of olfactory epithelial cells were observed at 3000 ppm. The plasma concentration of DMA was 0.20 to 0.36 ug/ml at the 3000 ppm, but under the detection limit at 300 ppm. So, it was suggested that the probability of nasal carcinogenic effects of DNA on consumers via ingestion of edible tissues from food-producing animals treated with xylazine is extremely low.

Keywords : 2,6-dimethylaniline, rat, plasma concentration

Ikeda, T.*, Nishikawa, A., Imazawa, T., Kimura, S.*, Hirose, M.: **Dramatic synergism between excess soybean intake and iodine deficiency on the development of rat thyroid hyperplasia**

Carcinogenesis., **21**, 707-713 (2000)

The effects of soybean and/or iodine-deficient diet feeding were investigated in female F344 rats. Rats were fed basal gluten (Group 1), iodine-deficient gluten (Group 2), 20% defatted soybean (Group 3) or iodine-deficient defatted soybean (Group 4) diets. At week 10, relative thyroid weights were significantly higher in Groups 2 and 4 than in Group 1 and pituitary weights were significantly higher in Groups 3 and 4 than in Group 1. T4 was significantly lower in Groups 2 and 4 than in Group 1. Serum TSH was significantly higher in Groups 3 and 4 than in Group 1. Histologically, marked diffuse follicular hyperplasia of the thyroid was evident in Group 4 rats. Ultrastructurally, severe disorganization and disarrangement of mitochondria were apparent in thyroid follicular cells of Group 4. In the anterior pituitary, dilated rSER and increased secretory granules were remarkable in this group. Our results thus strongly suggest that dietary defatted soybean synergistically stimulates the growth of rat thyroid with iodine deficiency.

Keywords : soybean, iodine deficiency, thyroid

*Showa Women's University

Miyauchi, M., Nishikawa, A., Furukawa, F., Nakamura, H., Son, H.-Y., Murakami, A.^{*1}, Koshimizu, K.^{*1}, Ohigashi, H.^{*2} and Hirose, M.: **Inhibitory effects of 1'-acetoxychavicol acetate on N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine-induced initiation of cholangiocarcinogenesis in Syrian hamsters**

Jpn. J. Cancer Res., **91**, 477-481 (2000)

The influence of 1'-acetoxychavicol acetate (ACA) during the

initiation stage was investigated in the N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine (BOP)-initiated hamster tumorigenesis model. Ninety male 5-week-old hamsters were divided into three groups, each consisting of 30 animals, and s.c. injected with 20 mg / kg of BOP twice with a one-week interval. Groups 1 through 3 were fed diet supplemented with ACA at concentrations of 500, 100 and 0 ppm, respectively, for 3 weeks starting one week before the first carcinogen application. At the termination of experimental week 54, the total incidence and multiplicity of cholangiocellular adenomas and carcinomas in group 1 were significantly decreased as compared to the group 3 values. Our results thus indicate that ACA exerts an inhibitory effect on BOP-induced cholangiocarcinogenesis in hamsters. Taken together with previous findings of inhibited colon, oral and skin carcinogenesis in rats and mice, they suggest that ACA is a candidate chemopreventive agent with a wide spectrum of activity.

Keywords : 1'-acetoxychavicol acetate, N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine, cholangiocarcinogenesis

^{*1} Kinki University

^{*2} Kyoto University

Furukawa, F., Nishikawa, A., Miyauchi, M., Nakamura, H., Son, H.-Y., Yamagishi, M. and Hirose, M.: **Concurrent administration of fish meal and sodium nitrite does not promote renal carcinogenesis in rats after initiation with N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine**

Cancer Lett., **154**, 45-51 (2000)

The modifying effects of concurrent administration of fish meal (FM) and sodium nitrite (SN) on the development of renal tumors after initiation with N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine (EHEN) were investigated. A total of 120 male 6-week-old Wistar rats were divided into six groups. Groups 1-3 were given 1000 ppm EHEN in their drinking water for 3 weeks as an initiation treatment for renal cancer induction and thereafter fed respective diets containing 64, 32, and 8% FM, and simultaneously given 0.12% SN in the drinking water for 33 weeks. Groups 4-6 were similarly treated without the prior application of EHEN. At the end of the 37th experimental week, all surviving animals were autopsied and examined histopathologically for the existence of renal proliferative lesions. The incidences of dysplastic lesions, adenomas or adenocarcinomas of the kidney were not significantly different among groups 1-3. No renal proliferative lesions were found in groups 4-6. Chronic nephropathy was slightly but significantly enhanced in the 64 and 32% FM-treated groups as compared with group 3. Our results suggest that concurrent administration of FM and SN does not affect the post-initiation phase of EHEN-induced renal carcinogenesis in the rat.

Keywords : Fish meal, sodium nitrite, renal carcinogenesis

Mori, I., Yasuhara, K., Hayashi, S., Nonoyama, T., Nomura, T. and Mitsumori, K.: **Carcinogen dose-dependent variation in the transgene mutation spectrum in urethane-induced lung tumors in transgenic mice carrying the human prototype c-Ha-ras gene**

Cancer Lett., **153**, 199-209 (2000)

Genetic changes in urethane-induced lung tumors induced in

transgenic mice carrying a human prototype c-Ha-ras gene (rasH2 mice) were investigated. rasH2 mice and non-transgenic littermates (non-Tg) were i.p. injected urethane once or three times at 2-day intervals. The multiplicities of lung proliferative lesions including hyperplasias, adenomas and carcinomas in treated rasH2 mice were significantly higher than those in treated non-Tg mice. The variation of the lesions induced by different doses of urethane was not the cause of the variation of the mutation spectrum, and mutations of both transgene and mouse c-K-ras genes were not principal genetic events in urethane-induced lung proliferative lesions in rasH2 mice.

Keywords : urethane, lung tumor, rasH2 mouse

Koujitani, K., Yasuhara, K., Usui, T., Nomura, T., Onodera, H., Takagi, H., Hirose, M. and Mitsumori, K.: **Lack of susceptibility of transgenic mice carrying the human c-Ha-ras proto-oncogene (rasH2 mice) to phenolphthalein in a 6-month carcinogenicity study**

Cancer Lett., **152**, 211-216 (2000)

Phenolphthalein has carcinogenic activity, causing malignant lymphomas in B6C3F1 mice at a dietary dose of 3000 ppm in a 2-year carcinogenicity study and in heterozygous p53-deficient female mice at the same dose in a 6-month study. To examine whether phenolphthalein carcinogenic potential can be detected in male and female transgenic (Tg) mice carrying the human c-Ha-ras gene (rasH2) and their wild-type littermates (non-Tg), a diet containing 3000, 6000 or 12000 ppm was given for 6 months. Unequivocal induction of neoplastic lesions was not apparent, suggesting that rasH2 mice are resistant to the induction of malignant lymphomas by the treatment of phenolphthalein.

Keywords : phenolphthalein, carcinogenicity, rasH2 mouse

Furukawa, F., Nishikawa, A., Lee, I-S. *, Son, H-Y., Nakamura, H., Miyauchi, M., Takahashi, M. and Hirose, M.: **Inhibition by methionine of pancreatic carcinogenesis in hamsters after initiation with N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine**

Cancer Lett., **152**, 163-167 (2000)

The modifying effects of dietary L-methionine in the post-initiation phase of pancreatic carcinogenesis were investigated in hamsters treated with N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP). Groups consisting of 20 and 30 animals, respectively, were given BOP subcutaneously, once a week five times at a dose of 10 mg/kg body wt. and then continuously fed diet supplemented with 2% (group 1) or 0% (group 2) methionine (weeks 5-32). The incidence of pancreatic ductal adenocarcinomas was significantly lower in group 1 than in group 2. Multiplicity of adenocarcinomas was also significantly lowered. Similarly, total numbers of combined adenocarcinomas and dysplastic lesions were significantly decreased in group 1 as compared with group 2. Methionine enhanced atrophic change of pancreatic acinar cells in hamsters given BOP, indicating that the inhibitory effects on the post-initiation stage of BOP-induced pancreatic carcinogenesis in hamsters could be generally linked to suppression of growth.

Keywords : methionine, pancreatic carcinogenesis, hamster

*Keimyung University

Takegawa, K., Sakamori, M., Koremoto, M., Yamada, T., Takagi, S., Takeuchi, M., Yanai, T., Masegi, T. and Mitsumori, K.: **Large amount of vitamin A has no major effects on thyroidal hormone synthesis in two-stage rat thyroid carcinogenesis model using N-bis(2-hydroxypropyl) nitrosamine and thiourea**

J. Toxicol. Sci., **25**, 67-75 (2000)

Proliferative lesions in rat thyroids were induced by N-bis(2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN) initiation followed by thiourea (TU) treatment. Simultaneous administration with a high level of vitamin A (VA) enhanced their induction. Iodine uptake and iodination of tyrosine residue in thyroglobulin, of the thyroid, were decreased by DHPN/TU treatment compared to the DHPN alone. Data from the DHPN/TU+VA and DHPN/TU animals were comparable. Therefore, the possibility that modification of hormone synthesis contributes to the enhancing effect of simultaneous treatment with VA on thyroidal tumor induction by TU is considered to be very minimal.

Keywords : thyroid tumor, rat, vitamin A

Hirose, M., Yamaguchi, T.¹, Lin, C.¹, Kimoto, N.¹, Futakuchi, M.¹, Kono, T.², Nishibe, S.³ and Shirai, T.¹: **Effects of arctiin on PhIP-induced mammary, colon and pancreatic carcinogenesis in female Sprague-Dawley rats and MeIQx-induced hepatocarcinogenesis in male F344 rats**

Cancer Lett., **155**, 79-88 (2000)

Chemopreventive effects of arctiin, a lignan isolated from *Arctium lappa* (burdock) seeds, on the initiation or post initiation period of PhIP induced mammary carcinogenesis in female rats and on MeIQx-associated hepatocarcinogenesis in male rats were examined. In experiment 1, female SD rats were given intragastric doses of 100 mg/kg body wt of PhIP once a week for 8 weeks as initiation. Groups of 20 rats each were treated with 0.2 or 0.02% arctiin during or after PhIP initiation. Control rats were fed 0.2 or 0.02% arctiin, or basal diet alone during the experimental period. Animals were killed at the end of week 48. Although the incidence of mammary carcinomas did not significantly differ among the PhIP-treated groups, multiplicity was significantly decreased in rats given 0.2 or 0.02% arctiin after PhIP initiation as compared with the PhIP alone controls. The average number of colon aberrant crypt foci was also significantly decreased in these two groups. Pancreas acidophilic foci were induced in PhIP treated animals with slight decrease in the multiplicity with arctiin during the initiation phase. For liver carcinogenesis, groups of 15 male F344 rats were given a single intraperitoneal injection of DEN and starting 2 weeks later, they were administered 0.03% MeIQx in the diet, MeIQx together with 0.5% arctiin, 0.1% arctiin or basal diet for 6 weeks. They were subjected to two-third partial hepatectomy 3 weeks after DEN initiation and killed at the end of week 8 for glutathione GST-P immunohistochemistry. The numbers and areas of preneoplastic GST-P positive foci were elevated by the treatment with MeIQx, and further increased by the simultaneous treatment with arctiin. These results indicate that arctiin has a protective effect on PhIP-induced carcinogenesis particularly in the mammary gland in the promotion period. On the other hand, it may have a weak co-carcinogenic influence on MeIQx-induced hepatocarcinogenesis. In addition, the results suggested

that PhIP is a weak pancreatic carcinogen in female SD rats, targeting acinar cells.

Keywords : Chemoprevention, arctiin, PhIP

¹ Nagoya City University

² Meiji Institute

³ Hokkaido University

Maronpot, R.R., Mitsumori, K., Mann, P., Takaoka, M., Yamamoto, S., Usui, T., Okamiya, H., Nishikawa, S., Nomura, T.: **Interlaboratory comparison of the CB6F1-Tg rasH2 rapid carcinogenicity testing model**

Toxicology, **146**, 149-159 (2000)

We have undertaken an interlaboratory comparison of the performance of the CB6F1-Tg rasH2 transgenic mouse in cancer bioassays concurrently conducted in the United States and Japan. Chemicals selected for study included known human carcinogens (cyclosporin A) and known rodent carcinogens (p-cresidine and vinyl carbamate) tested at carcinogenic doses, and non-carcinogens (p-anisidine and resorcinol) tested at appropriate high doses. All studies showed similar results between the two laboratories conducting each study. Although only five chemicals were successfully tested in this interlaboratory comparison, there was good concordance in outcome for the strong carcinogens and for the non-carcinogens.

Keywords : rasH2 mouse, carcinogenicity test, validation

Iwata, H., Hosoi, M., Miyajima, R., Mikami, S., Yamakawa, S., Enomoto, M., Imazawa, T. and Mitsumori, K.: **Morphogenesis of craniopharyngeal derivatives in the neurohypophysis of Fisher 344 rats: abnormally developed epithelial tissues including parotid glands derived from the stomatodeum**

Toxicol. Pathol., **28**, 568-574 (2000)

Morphogenesis of craniopharyngeal derivatives of the neurohypophysis found in 14 Fischer 344 rats was studied. They were composed of aberrant epithelial structures consisting of serous acinar and tubular and fusiform cell structures. Cells forming these structures were positive for cytokeratin, and basal cells of the acinar or tubular structures and some of the fusiform cells were positive for alpha-smooth muscle actin, and they were regarded to be myoepithelial cells. These findings indicate that the craniopharyngeal derivatives are a developmental aberration derived from the stomatodeum, which is known to be the origin of both nasal and oral epithelial tissues, including the parotid glands.

Keywords : craniopharyngeal derivatives, rat, diagnosis

Koujitani, T., Yasuhara, K., Ikeda, T., Imazawa, T., Tamura, T., Toyosawa, K., Shimada, A., Hirose, M. and Mitsumori, K.: **Sequential observation of 2,6-dimethylaniline-induced nasal lesions in a rat two-stage nasal carcinogenesis model after initiation with N-bis (2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN)**

J. Vet. Med. Sci., **62**, 751-756 (2000)

Nasal lesions in male F344 rats administered 2,6-dimethylaniline (DMA) after initiation with N-bis (2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN) were examined. Severe atrophy of Bowman's glands and epithelial disarrangement were apparent from week 4, followed by dilatation/proliferation of Bowman's glands, degeneration of

epithelial cells, and undifferentiated epithelial cell proliferation. Focal glandular hyperplasias, dysplastic foci, and adenomas were observed from week 26, and carcinomas at 52 week. Carcinoma cells had ultrastructural characteristics identical to those in normal Bowman's glands. It was concluded that Bowman's glands are the target of DMA, giving rise to nasal carcinomas after DHPN-initiation.

Keywords : nasal carcinogenesis, rat, DHPN

Liu, X.W., Katagiri, Y., Jiang, H., Gong, L.J., Guo, L.Y., Shibutani, M., Johnson, A.C., Guroff, G.: **Cloning and characterization of the promoter region of the rat epidermal growth factor receptor gene and its transcriptional regulation by nerve growth factor in PC12 cells**

J Biol Chem., **275**, 7280-7288 (2000)

To elucidate the molecular mechanism of NGF-induced down-regulation of the EGFR, we have clone a 2.7-kilobase promoter sequence of the rat EGFR from a rat P1 library. Six transcriptional start sites were identified by 5'-rapid amplification of cDNA ends and primer extension. Reporter gene assay was performed with 1.1 kilobases of the 5'-flanking sequence, and this sequence exhibited functional promoter activity in transient transfection experiments with PC12, C6, and CV-1 cells. Treatment of PC12 cells with NGF inhibited promoter activity, and TCC repeat sequence appeared to be at least partially responsible for the down-regulation. Supportive evidence for the relevance of this sequence was obtained from EMSA and by transfection of TCC mutation constructs.

Keywords : NGF, PC12, Transcriptional down-regulation of EGFR

Shoda, T., Mitsumori, K., Onodera, H., Toyoda, K., Uneyama, C., Takada, K. and Hirose, M.: **Liver tumor-promoting effect of β -naphthoflavone, a strong CYP 1A1/2 inducer, and the relationship between CYP 1A1/2 induction and Cx32 decrease in its hepatocarcinogenesis in the rat**

Toxicol. Pathol., **28**, 540-547 (2000)

Interrelationships among induction of cytochrome P-450 (CYP) 1A1/2, decrease in connexin 32 (Cx32), and liver tumor-promoting activity by beta-naphthoflavone (BNF) in the promotion stage were examined in a 2-stage liver carcinogenesis model. Male Fischer 344 rats initiated with diethyl-nitrosamine (DEN) were fed a diet containing 2%, 1%, or 0% BNF for 6 weeks and subjected to a two-thirds partial hepatectomy at week 3. At week 8, all rats were sacrificed and examined. BNF induced adenoma-like hepatic foci and glutathione S-transferase-P foci, unlike phenobarbital, does not induce CYP 2B1/2 isozymes, and there seems to be no direct relationship between CYP 1A1/2 induction and Cx32 reduction in BNF hepatocarcinogenesis.

Keywords : beta-naphthoflavone, rat, hepatocarcinogenesis

Takegawa, K., Mitsumori, K., Onodera, H., Shimo, T., Kitaura, K., Yasuhara, K., Hirose, M. and Takahashi, M.: **Studies on the carcinogenicity of potassium iodide in F344 rats**

Food Chem. Toxicol., **38**, 773-781 (2000)

A carcinogenicity study, in which F344 rats were given potassium iodide (KI) in the drinking water at 10, 100 or 1000 ppm for

104 weeks, and a two-stage carcinogenicity study of application at 1000 ppm for 83 weeks following an injection of *N*-bis (2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN), were conducted. In the former, squamous cell carcinoma was induced in the salivary glands at 1000 ppm, but no tumors in the thyroid. In the two-stage carcinogenicity study, the incidence of thyroid tumors derived from the follicular epithelium was increased in the DHPN+KI as compared with the DHPN alone group. The results suggest that excess KI has a thyroid tumor-promoting effect, but KI per se does not induce thyroid tumors in rats. In salivary gland, KI was suggested to have carcinogenic potential via an epigenetic mechanism, only active at a high dose.

Keywords : potassium iodide, salivary gland, thyroid tumor

Mori, I., Hayashi, S., Nonoyama, T., Yasuhara, K., Mitsumori, K. and Masegi, T.: **Point mutations of the c-H-ras gene in spontaneous pulmonary tumors of transgenic mice carrying the human c-H-ras gene**

J. Toxicol. Pathol., **13**, 165-172 (2000)

Spontaneous proliferative pulmonary lesions were found in 10 (6 males and 4 females) of 244 (122 of each sex) transgenic (Tg) mice carrying the human prototype c-H-ras gene (rasH2). The mutation patterns of the human c-H-ras codon 61 and endogenous mouse c-K-ras codons 12, 13, and 61 in these lesions were analyzed. Immunohisto-chemical detection for p53 protein, hsp70 or mdm2 gene protein was also performed. Obtained findings suggested that, at least, a point mutation of the human c-H-ras transgene may be an important step in progression of spontaneous lung tumors, whereas p53 abnormality may not play an important role of the pulmonary carcinogenesis in rasH2 Tg mice.

Keywords : rasH2 mouse, lung tumor, ras mutation

Toyoda, K., Shibutani, M., Tamura, T., Koujitani, T., Uneyama, C., Hirose, M.: **Repeated dose (28 days) oral toxicity study of flutamide in rats, based on the draft protocol for the 'Enhanced OECD Test Guideline 407' for screening for endocrine-disrupting chemicals**

Arch. Toxicol., **74**, 127-132 (2000)

To establish a test protocol for the 'Enhanced OECD Test Guideline 407', we performed a preliminary 28-day, repeated-dose toxicity study of flutamide at doses of 0 (control), 0.25, 1 and 4 mg/kg b.w./day in rats of both sexes. Male rats receiving 1 and 4 mg/kg showed lobular atrophy of the mammary gland and a decrease in epididymal weight. At 4 mg/kg, increased levels of serum testosterone and estradiol and decrease of the weight of the accessory sex glands. In females, a slight prolongation of the estrous cycle was also observed at 4 mg/kg. Thus, among the parameters tested in the present experimental system, the weight of endocrine-linked organs and their histopathological assessment, serum hormone levels, and estrous cycle stage allowed the detection of endocrine-related effects of flutamide

Keywords : Enhanced OECD Test Guideline 407, Flutamide, Endocrine disrupters

Takegawa, K., Mitsumori, K., Yasuhara, K., Moriyasu, M., Sakamori, M., Onodera, H., Hirose, M. and Nomura, T.: **A**

mechanistic study of ovarian carcinogenesis induced by nitrofurazone using rasH2 mice

Toxicol. Pathol., **28**, 649-655 (2000)

Tumorigenic mechanisms of nitrofurazone (NF) in mouse ovaries were evaluated in a short-term model using transgenic mice carrying the human c-Ha-ras gene (rasH2). Both rasH2 mice and their wild littermates (non-Tg) fed a diet containing 500 to 1,000 ppm NF for 7 weeks demonstrated ovarian atrophy with decreased labeling indices (LIs) for PCNA in granulosa cells. Increased atretic follicles and decreased LIs in granulosa cells were recognized in rasH2 mice at 250 or 500 ppm for 26 weeks, but no tumors. Ovarian atrophy was observed with increased serum luteinizing hormone levels at 1,000 ppm for 11 days. In conclusion, ovarian tumor induction by NF was associated with continuous stimulation of gonadotropins via a negative-feedback phenomenon secondary to ovarian atrophy.

Keywords : nitrofurazone, rasH2 mouse, ovarian tumor

Furukawa, F., Nishikawa, A., Nakamura, H., Miyauchi, M., Son, H-Y. and Hirose, M.: **Effects of octreotide, a somatostatin analogue, on initiation of pancreatic carcinogenesis in hamsters with N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine**

Cancer Lett., **159**, 43-48 (2000)

The modifying effects of octreotide acetate, a somatostatin (SMS) analogue shown to inhibit secretion of digestive enzymes, bicarbonate and pancreatic juice, on the initiation phase of pancreatic carcinogenesis were investigated in hamsters simultaneously treated with BOP. Groups 1-3, each consisting of 20 animals, were given BOP subcutaneously once a week three times at a dose of 10 mg/kg body weight during administration of octreotide acetate for 28 days via osmotic pumps implanted subcutaneously at doses of 6 μ /day (group 1), 3 μ /day (group 2) or 0 μ /day (saline) (group 3). At the termination of experimental week 40, the incidences and multiplicities of pancreatic ductal adenocarcinomas and dysplastic lesions did not significantly differ among groups 1-3. Subcutaneous administration of octreotide acetate resulted in obviously increased plasma octreotide levels. Our results thus suggest that this SMS analogue may not modulate the initiation of BOP-induced pancreatic carcinogenesis, regardless of its pharmacological action.

Keywords : Octreotide acetate, pancreatic carcinogenesis, hamster

Son, H-Y., Nishikawa, A., Ikeda, T., Nakamura, H., Miyauchi, M., Imazawa, T., Furukawa, F. and Hirose, M.: **Lack of modifying effects of environmental estrogenic compounds on the development of thyroid proliferative lesions in male rats pretreated with N-bis (2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN)**

Jpn. J. Cancer Res., **91**, 899-905 (2000)

The modifying effects of various environmental estrogenic compounds on thyroid carcinogenesis were investigated in a rodent two-stage carcinogenesis model. The compounds examined were a soy isoflavone mixture (SI) and genistein (GEN) as phytoestrogens, nonylphenol (NP) as a xenoestrogen, 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) as a thyroid carcinogen and sulfadimethoxine (SDM) as a known thyroid tu-

mor promoter. Five-week-old male F344 rats were given a single subcutaneous injection of DHPN or the vehicle alone. Starting one week thereafter, GEN, SI, NP, MX or SDM was administered for 12 weeks. Thyroid weights were significantly increased only in the SDM treatment groups, especially with DHPN pretreatment. Kidney weights were slightly increased in the NP or MX treatment groups, albeit without statistical significance. There were no organ weight changes or histopathological lesions in the major organs including the thyroid in the GEN, SI, NP, and MX treatment groups regardless of DHPN pretreatment. Our results thus indicate that the weakly estrogenic compounds GEN, SI and NP and the environmental rat thyroid carcinogen MX do not exert any modifying effects on thyroid carcinogenesis in rats under the present experimental conditions.

Keywords : Estrogenic compounds, thyroid carcinogenesis, genistein

Son, H-Y., Nishikawa, A., Ikeda, T., Furukawa, F. and Hirose, M.: **Lack of modification by environmental estrogenic compounds of thyroid carcinogenesis in ovariectomized rats pretreated with N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN)**

Jpn. J. Cancer Res., **91**, 966-972 (2000)

The effects of environmental estrogenic compounds, soy isoflavone mixture (SI), genistein (GEN), and nonylphenol (NP), and the possible goitrogen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX), on thyroid carcinogenesis were investigated in ovariectomized (OVX) female rats. Five-week-old OVX F344 rats were given a single subcutaneous injection of DHPN. Starting 1 week later, GEN, SI, NP, MX, sulfadimethoxine (SDM), a known thyroid tumor-promoter, or beta-estradiol 3-benzoate (EB), a synthetic estrogen were administered for 12 weeks. SDM and EB were included as positive controls. Renal tubule lesions, uterine squamous metaplasia, vaginal keratinization and telangiectasia of pancreatic islets were also observed with EB. There were no organ weight changes or histopathological lesions in the major organs, including the thyroid, in the GEN, SI, MX or NP treatment groups. Our results thus indicated a lack of modifying effects on thyroid carcinogenesis in female OVX rats, in agreement with our previous finding in males.

Keywords : Thyroid carcinogenesis, ovariectomy, genistein

Nakamura, H., Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Miyauchi, M., Son, H-Y. and Hirose, M.: **Inhibitory effects of protocatechuic acid on the post-initiation phase of hamster pancreatic carcinogenesis induced by N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine**

Anticancer Res., **20**, 3423-3428 (2000)

The chemopreventive effects of protocatechuic acid (PCA) were investigated during the post-initiation stage of the BOP-initiated hamster pancreatic tumorigenesis model. Animals in groups 1-3 were given two s.c. injections of 20 mg/kg body weight of BOP with a one week interval as an initiation treatment. After the BOP injection, hamsters in groups 1 and 2 were respectively fed diet supplemented with 1000 or 500 ppm of PCA for 49 weeks. The animals in group 3 were treated with BOP alone. The animals in groups 4-6, each consisting of 10 hamsters, were given 1000 or

500 ppm PCA, or basal diet alone without prior BOP injection. At the termination of experimental week 52, the incidences and multiplicities of neoplastic lesions in the pancreas were comparable among the BOP-treated groups. However, the incidence of pancreatic tumors larger than 3 cm was significantly lower in the PCA-treated high dose groups than in the control group. Moreover the incidence of advanced pancreatic cancers which had directly invaded adjacent tissues such as the diaphragm, spleen and stomach was reduced by the PCA treatments, being significantly lower in group 2 than in group 3. Our results thus indicated that PCA can inhibit the late post-initiation or progression phase of BOP-induced pancreatic carcinogenesis in hamsters.

Keywords : protocatechuic acid, pancreatic carcinogenesis, BOP

Tamura, K., Yasuhara, K., Koujitani, T., Onodera, H., Takagi, H., Takizawa, T., Hirose, M., Hayashi, Y. and Mitsumori, K.: **Lack of modifying effects of cinnamaldehyde on development of lung proliferative lesions induced by urethane in transgenic mice carrying the human prototype c-Ha-ras gene**

J. Toxicol. Pathol., **13**, 249-255 (2000)

To investigate the modifying effects of cinnamaldehyde (CNMA) on the development of lung proliferative lesions, male transgenic mice carrying the human prototype c-Ha-ras gene (rasH2) were given a single injection of urethane (UR) or saline, followed by a diet containing 0.5% CNMA or basal diet for 26 weeks. Lung tumors were induced in the treated groups except for CNMA-alone group without significant intergroup differences in their incidences and multiplicities. There were no intergroup differences between UR-alone and UR+CNMA groups in the PCNA labeling indices and the areas of lung tumors. It was concluded that the CNMA treatment does not influence on the development of lung proliferative lesions induced by urethane in rasH2 mice.

Keywords : cinnamaldehyde, rasH2 mouse, lung tumor

Lee, I-S.¹, Yang, E-J.¹, Kim, H-S.¹, Chung, S-K.², Furukawa, F. and Nishikawa, A.: **Suppressive effects of *Adenophora triphylla* extracts on *in vitro* tumor cell growth and *in vivo* gastric epithelial proliferation**

Anticancer Res., **20**, 3227-3232 (2000)

Adenophora triphylla (AT), an oriental medicinal plant, was extracted using water and several organic solvents and each fraction was assayed for its tumoricidal effects on human Jurkat T cells with 3-(4,5-dimethylthiazolyl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT). The influence on induction of apoptosis and G1 arrest was also examined. The ethyl acetate fraction showed the most pronounced inhibitory effects on proliferation of Jurkat T cells. Apoptosis was induced in line with up-regulation of FasL, tyrosine phosphorylation and c-fos mRNA levels. Arrest in G1 of the cell cycle was observed in A2780 cells with a wild type p53 gene but not HT-29 cells with a mutant p53 gene. Modifying effects of AT on cell turnover and glutathione(GSH) levels *in vivo* were also investigated in the stomach of rats given 150 mg/kg of MNNG by gavage and then fed a diet supplemented with 5% or 1% pulverized AT and 0.5% or 0.2% ethylacetate-extracted AT for 42 hours. The 5% AT and both of the ethylacetate fractions caused significant reduction in PCNA-labeling in the glandular

stomach epithelium as compared with the value for the MNNG alone group. In addition, the treatments significantly increased the gastric GSH levels. These results suggest that AT could be a chemopreventive agent against gastric cancer.

Keywords : *Adenophora triphylla*, apoptosis, FasL

^{*1} Keimyung University

^{*2} Kyungpook University

Son, H.-Y., Nishikawa, A., Furukawa, F., Lee, I.-S.^{*1}, Ikeda, T., Miyauchi, M., Nakamura, H. and Hirose, M.: **Modifying effects of 4-phenylbutyl isothiocyanate on N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine-induced tumorigenesis in hamsters**
Cancer Lett., **160**, 141-147 (2000)

The modifying effects of dietary 4-phenylbutyl isothiocyanate (PBITC), given during the initiation stage of carcinogenesis, were investigated in hamsters treated with BOP. Animals in groups 1-3, each consisting of 30 hamsters, were given BOP by two s.c. injections, 1 week apart, at a dose of 20 mg/kg body weight, plus 0, 10 or 100 micromol/animal of PBITC in corn oil by gavage 2 h prior to each carcinogen treatment. Ten animals in group 4 served as a vehicle control, and animals in groups 5 and 6, each consisting of ten hamsters, were given 10 and 100 μ of PBITC alone in corn oil. Sacrifice was 52 weeks after the first BOP injection. The PBITC treatments significantly inhibited the development of pancreatic ductal dysplasias and adenocarcinomas. Also, lung tumors (adenomas and adenocarcinomas) were significantly reduced in a dose-dependent manner. In contrast, both hepatocellular and cholangiocellular tumors tended to be or were significantly increased by PBITC. These results, taken together with our previous findings, indicate that the natural isothiocyanate, phenethyl isothiocyanate (PEITC), has a more potent chemopreventive action against BOP-induced tumorigenesis than synthetic isothiocyanates with longer alkyl chains, such as 3-phenylpropyl isothiocyanate (PPITC) and PBITC. Thus, their lipophilicity does not necessarily reflect the chemopreventive potential because the strength of lipophilicity is PEITC < PPITC < PBITC.

Keywords : 4-phenylbutyl isothiocyanate, BOP, hamster

^{*1} Keimyung University

Imazawa, T., Nishikawa, A., Todate, A., Furukawa, F., Onodera, H., Mitsumori, K., Hirose, M., Hayashi, Y.*: **Dual effects of prolonged ACTH stimulation on 4-hydroxy-aminoquinoline 1-oxide-induced adrenocortical lesions in rats**
Toxicol. Pathol., **28**, 535-539 (2000)

The effects of a long-acting synthetic ACTH on 4-hydroxy-aminoquinoline 1-oxide (4HAQO)-induced adrenocortical lesions were investigated in female rats. A total of 140 rats were divided into 4 equal groups, given a single s.c. injection of 7 mg/kg 4HAQO or vehicle, followed by repeated sc administration of the synthetic ACTH or no further treatment. Subgroups of 10 rats in each group were sequentially sacrificed at weeks 20, 30, and 40. Adenomas and adenomatous nodules developed in the adrenal cortex of animals receiving 4HAQO and the chronic ACTH stimulation. From week 20, middle zone, cortical cystic degeneration, which mimics the age-associated degenerative change named adrenal peliosis, was frequently observed in the adrenal

glands of animals treated with 4HAQO alone. Its development was inhibited by ACTH. These results indicate that long-term stimulation of ACTH promotes the development of adrenocortical tumors but suppresses the occurrence of adrenal peliosis in rats treated with 4HAQO.

Keywords : Synthetic ACTH, 4HAQO, adrenal cortex, peliosis

*Kitasato University

Takagi, H., Mitsumori, K., Nishikawa, A., Onodera, H., Furukawa, F., Kasahara, K. and Hirose, M.: **Lack of carcinogenic sensitivity of the glandular stomach in heterozygous p53 knockout mice given N-methyl-N-nitrosourea in their drinking water for 26 weeks**

Asian Pacific J. Cancer Prev., **1**, 299-303 (2000)

Gastric tumorigenic sensitivity to N-methyl-N-nitrosourea (MNU) was examined in heterozygous p53 knockout (p53(+/-)) CBA mice and their wild-type littermates (p53(+/+)). p53(+/-) or p53(+/+) CBA mice were given MNU in their drinking water at concentration of 50, 10, 5 or 0 ppm for 26 weeks. The incidences of hyperplasias in the glandular stomach observed in p53(+/-) CBA mice treated with 50 ppm and 10 ppm MNU were significantly increased, as compared with the control group. No tumors were induced in the stomach of any treated groups. The present study suggests that p53(+/-) CBA mice have low susceptibility to MNU-induced gastric carcinogenesis.

Keywords : p53 knockout CBA mouse, MNU, gastric tumor

Mitsumori, K., Shimo, T., Onodera, H., Takagi, H., Yasuhara, K., Tamura, T., Aoki, Y., Nagata, O. and Hirose M.: **Modifying effects of ethinylestradiol but not methoxychlor on N-ethyl-N-nitrosourea-induced uterine carcinogenesis in heterozygous p53 deficient CBA mice**

Toxicol. Sci., **58**, 43-49 (2000)

It is unknown whether endocrine-disrupting chemicals (EDCs) with estrogenic activities have any modifying effects on uterine carcinogenesis. To investigate the effects of ethinylestradiol (EE) and methoxychlor (MXC) on development of N-ethyl-N-nitrosourea (ENU)-induced uterine tumors, female p53-deficient CBA mice [p53 (+/-) mice] and their wild-type littermates [p53 (+/+) mice] received an injection of ENU, followed by a diet containing EE or MXC for 26 weeks. The present study suggests that 2.5 ppm EE, but not MXC, exerts tumor-promoting effects on stromal and epithelial proliferative lesions of the uteri in p53 (+/-) mice initiated with ENU.

Keywords : p53-deficient mouse, uterine tumor, ethinylestradiol

Shibutani, M., Mitsumori, K., Niho, N., Satoh, S.^{*1}, Hiratsuka, H.^{*2}, Satoh, M.^{*3}, Sumiyoshi, M.^{*4}, Nishijima, M.^{*5}, Katsuki, Y.^{*5}, Suzuki, J.^{*5}, Nakagawa, J.^{*5}, Ando, M.: **Assessment of Renal Toxicity by Analysis of Regeneration of Tubular Epithelium in Rats Given Low Dose Cadmium Chloride or Cadmium-polluted Rice for 22-months**

Arch. Toxicol., **74**, 571-577 (2000)

Six groups of female SD rats were fed a diet containing low amounts of CdCl₂ or Cd-polluted rice at concentrations up to 40 ppm, and were killed after 12, 18, and 22 months. Animals dem-

onstrated spontaneous chronic nephropathy and fluctuation in the tubular PCNA LI, but these findings were not correlated with renal Cd levels at 22 months. PCNA LI on the other hand, appeared to be linked to the severity of chronic nephropathy. The results demonstrated that treatment with 40 ppm or less for 22 months did not influence tubular regeneration as a component of nonspecific chronic nephropathy, suggesting that long-term oral administration of low levels of Cd does not injure renal tubules in female rats.

Keywords : Cd-induced nephrotoxicity, PCNA-LI, chronic nephropathy

^{*1} Ina Research Inc.

^{*2} Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd.,

^{*3} National Institute for Environmental Studies

^{*4} Japan Food Research Laboratories

^{*5} The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

Hirose, M., Yamaguchi, T.^{*1}, Lin, C.^{*1}, Kimoto, N.^{*1}, Futakuchi, M.^{*1}, Kono, T.^{*2}, Nishibe, S.^{*3} and Shirai, T.^{*1}: **Effects of arctiin on PhIP-induced mammary, colon and pancreatic carcinogenesis in female Sprague-Dawley rats and MeIQx-induced hepatocarcinogenesis in male F344 rats**

Cancer Lett., **155**, 79-88 (2000)

Chemopreventive effects of arctiin, a lignan isolated from *Arctium lappa* (burdock) seeds, on the initiation or post initiation period of PhIP induced mammary carcinogenesis in female rats and on MeIQx-associated hepatocarcinogenesis in male rats were examined. In experiment 1, female SD rats were given intragastric doses of 100 mg/kg body wt of PhIP once a week for 8 weeks as initiation. Groups of 20 rats each were treated with 0.2 or 0.02% arctiin during or after PhIP initiation. Animals were killed at the end of week 48. Although the incidence of mammary carcinomas did not significantly differ among the PhIP-treated groups, multiplicity was significantly decreased in rats given 0.2 or 0.02% arctiin after PhIP initiation as compared with the PhIP alone control. The average number of colon aberrant crypt foci was also significantly decreased in these two groups. Pancreas acidophilic foci were induced in PhIP treated animals with slight decrease in the multiplicity with arctiin during the initiation phase. For liver carcinogenesis, groups of 15 male F344 rats were given a single intraperitoneal injection of DEN and starting 2 weeks later, they were administered 0.03% MeIQx in the diet, MeIQx together with 0.5% arctiin, 0.1% arctiin or basal diet for 6 weeks. They were subjected to two-third partial hepatectomy 3 weeks after DEN initiation and killed at the end of week 8 for GST-P immunohistochemistry. The numbers and areas of preneoplastic GST-P positive foci were elevated by the treatment with MeIQx, and further increased by the simultaneous treatment with arctiin. These results indicate that arctiin has a protective effect on PhIP-induced carcinogenesis particularly in the mammary gland in the promotion period. On the other hand, it may have a weak co-carcinogenic influence on MeIQx-induced hepatocarcinogenesis. In addition, the results suggested that PhIP is a weak pancreatic carcinogen in female SD rats, targeting acinar cells.

Keywords : Actiin, PhIP, MeIQx,

^{*1} Nagoya City University

^{*2} Meiji Institute of Health Science

^{*3} Health Sciences University of Hokkaido

Danai, T.^{*1}, Hirose, M., Futakuchi, M.^{*2}, Lin, C.^{*2}, Thamavit, W.^{*3}, Ito, N.^{*2}, and Shirai T.^{*2}: **Enhancing effects of Thai edible plants on 2-amino-3,8-dimethylimidazo [4,5-f] quinoxaline-hepatocarcinogenesis in a rat medium-term bioassay**

Cancer Lett., **158**, 195-201 (2000)

Boesenbergia pandurata (Zingiberaceae), *Languas galanga* (Zingiberaceae) and *Citrus hystrix* (Rutaceae) are edible plants that are commonly used as flavors or condiments in various Thai food dishes. They are known to exert strong anti-promoting activity in a test of tumor promoter-induced Epstein-Barr virus (EBV) activation. In the present study their effects on hepatocarcinogenesis were investigated in a medium-term bioassay using F344 male rats. *C. hystrix* significantly enhanced 2-amino-3,8-dimethylimidazo (4, 5-f) quinoxaline-associated preneoplastic liver cell focus development while *B. pandurata* and *L. galanga* had borderline effects. The results suggest that *C. hystrix* as well as *B. pandurata* and *L. galanga* may contain agents augmenting the hepatocarcinogenicity of 2-amino-3,8-dimethylimidazo(4,5-f) quinoxaline.

Keywords : Thai edible plants, 2-amino-3,8-dimethylimidazo [4,5-f] quinoxaline, medium-term bioassay

^{*1} National Cancer Institute, Thailand

^{*2} Nagoya City University

^{*3} Mahidol University

Kawabe, M.^{*1}, Lin, C.^{*1}, Kimoto, N.^{*1}, Sano, M.^{*1}, Hirose, M., and Shirai, T.^{*1}: **Modifying effects of propolis on MeIQx promotion of rat hepatocarcinogenesis and in a female rat two-stage carcinogenesis model after multiple carcinogen initiation**

Nutr. Cancer., **37**, 179-186 (2000)

The modifying effects of the dietary administration of water- and ethanol-extracted propolis produced in Brazil (WB and EB, respectively) on MeIQx promotion of rat hepatocarcinogenesis were investigated in a medium-term liver bioassay system with use of male Fischer 344 rats. The number and area of GST-P-positive foci in rats given 0.5% WB were significantly increased compared with the group given MeIQx alone. Furthermore, the numbers of GST-P-positive foci were higher in rats given 0.1% WB or EB than in those given the basal diet alone. The modifying effects of propolis on other organs were also examined in female Fischer 344 rats given multiple carcinogens for initiation. Rats received water- and ethanol-extracted propolis produced in Brazil and Uruguay (WB, EB, WU, and EU, respectively) in the diet after exposure to three different carcinogens. The incidence of total mammary tumors was significantly lower in rats given EU than in the control group. These results indicate that a water extract of propolis exerts a cocarcinogenic effect on MeIQx hepatocarcinogenesis while promoting the effect at low dose in a two-stage hepatocarcinogenesis model. Moreover, they suggest that ethanol-extracted propolis may be an inhibitor of mammary gland carcinogenesis.

Keywords : Propolis, rat hepatocarcinogenesis, two-stage carcinogenesis

¹ Nagoya City University

Hamada, S.^{*1}, Sutou, S.^{*2}, Morita, T.^{*3}, Wakata, A.^{*4}, Asanami, S.^{*5}, Hosoya, S.^{*6}, Ozawa, S.^{*7}, Kondo, K.^{*8}, Nakajima, M.^{*9}, Shimada, H.^{*10}, Osawa, K.^{*11}, Kondo, Y.^{*12}, Asano, N.^{*13}, Sato, S.^{*14}, Tamura, H.^{*15}, Yajima, N.^{*16}, Marshall, R.^{*17}, Moore, C.^{*18}, Blakey, D.H.^{*19}, Schechtman, L.M.^{*20}, Weaver, J.L.^{*20}, Torous, D.K.^{*21}, Proudlock, R.^{*22}, Ito, S.^{*23}, Namiki, C.^{*24}, and Hayashi, M.: **Evaluation of the rodent micronucleus assay by a 28-day-treatment protocol: Summary of the 13th collaborative study by CSGMT/JEMS · MMS**

Environ. Mol. Mutagen., **37**, 93-110 (2001)

To examine whether micronucleus tests (MNT) can be incorporated into general toxicology assays, we performed MNT applying the treatment protocols typically used in such assays. Our results indicate that the integration of the MNT into a 28-day toxicological assay is feasible. To serve this purpose, blood samples collected 4 days after the beginning of treatment and blood and bone marrow samples collected at autopsy should be examined. We propose that rats can provide biologically important and relevant information regarding potential chemical mutagens.

Keywords : UVB, epidermis, deletion

^{*1} SSP Company, Ltd, Japan

^{*2-24} See article.

Kusunoki, Y.*¹, Kyoizumi, S.*², Honma, M., Kubo, Y.*³, Dhnishi, H.*⁴, Hayashi, T.*⁵ and Seyama T.*⁶: **NK-mediated elimination of mutant lymphocytes that have lost expression of MHC class I molecules.**

J. Immunol., **165**, 3555-3563 (2000)

Mutant cells generated in vivo can be eliminated when mutated gene products are presented as altered MHC/peptide complexes and recognized by T cells. Diminished expression of MHC/peptide complexes enables mutant cells to escape recognition by T-cells. In the present study, we tested the hypothesis that mutant lymphocytes lacking expression of MHC class I molecules are eliminated by autologous NK cells.

Keywords : MHC, mutation, NK cells

*¹放射線影響研究所

Honma, M., Momose, M., Tanabe, H., Sakamoto, H., Yu, Y.*¹, Little, J.B.*², Sofuni, T. and Hayashi, M.: **Requirement of wild type p53 protein for maintenance of chromosomal integrity.**

Mol. Carcinog., **28**, 1-12 (2000)

Chromosomal double strand breaks (DSBs) occurring in mammalian cells, which are responsible for initiating genomic instability, are usually repaired by end-rejoining or homologous recombination. We demonstrated here that wild-type p53 protein contributes to the maintenance of genomic integrity through recombinational DNA repair. Human lymphoblastoid cells deficient in p53 were defective in the ability to carry out recombinational DNA repair of spontaneously arising DSBs. Broken chromosomes by DSBs in p53-deficient cells triggered the breakage-fusion-bridge cycle, and were occasionally stabilized by end-rejoining or nonhomologous recombination to other chromosomes. Our results support a model in which p53 protein regulates recombina-

tional DNA repair, providing a mechanism for the maintenance of genomic integrity in mammalian cells.

Key words : p53, DNA double strand break (DSB), recombination repair

*¹ Harvard School of Public Health

Kohara, A., Suzuki, T., Honma, M., Hirano, N.^{*1}, Ohsawa, K.^{*1}, Ohwada, T.^{*2}, Hayashi, M.: **Mutation spectrum of *o*-aminoazotoluene in the *cII* gene of *lambda/lacZ* transgenic mice (MutaTMMouse)**

Mutation Res., **491**, 211-220 (2001)

The *o*-aminoazotoluene (AAT) is carcinogenic mainly in the liver, and also in lung following long term administration. In the present report, we reveal the molecular nature of mutations induced by AAT in the *lambda cII* gene (the *cII* gene, a phenotypically selectable marker in the *lambda* transgene, has 294 bp, which makes it easier to sequence than the original target, the 3kb *lacZ* gene). The *cII* mutant frequency in liver and colon was five and nine times higher, respectively, in AAT-treated mice than in control mice. Sequence analysis revealed that AAT induced G:C to T:A transversions, whereas spontaneous mutations consisted primarily of G:C to A:T transitions at CpG sites.

Keywords: mutation spectra, MutaTMMouse, *o*-aminoazotoluene

*¹ 大正製薬(株)

*² 名古屋市立大学薬学部

Suzuki, T., Wang, X., Miyata, Y.*¹, Saeki, K.*², Kohara, A.*³, Kawazoe, Y.*⁴, Hayashi, M., Sofuni, T.: **Hepatocarcinogen quinoline induces G:C to C:G transversions in the *cII* gene in the liver of *lambda/lacZ* transgenic mice (MutaTMMouse)**

Mutation Res. **456**, 73-81 (2000)

Quinoline is carcinogenic to the liver in rodents, but it is not clear whether it acts by a genotoxic mechanism. In the present report, we reveal the molecular nature of the mutations induced by quinoline in the *lambda cII* gene, which is also a phenotypically selectable marker in the *lambda* transgene. The liver *cII* mutant frequency was nine times higher in quinoline-treated mice than in control mice. Sequence analysis revealed that quinoline induced primarily G:C to C:G transversions (25 of 34). Thus, we have confirmed that quinoline is genotoxic in its target organ, and the G:C to C:G transversion is the molecular signature of quinoline-induced mutations

Keywords : mutation spectra, MutaTMMouse, quinoline

*¹ 名古屋市立大学薬学部

Itoh, T., Suzuki, T., Nishikawa, A., Frukawa, F., Takahashi, M., Wang, X., Sofuni, T., Hayashi, M.: **In vivo genotoxicity of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline in *lacI* transgenic (Big Blue^R) mice**

Mutation Res. **468**, 19-25 (2000)

2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline (MeIQx), a heterocyclic amine found in cooked meat, is a strong mutagen and was proven to be a hepatocarcinogen in rodents. We used the *lacI* transgenic (Big Blue^R) mouse to investigate MeIQx genotoxicity in vivo. Intragastric treatment with MeIQx (100 mg/kg) did not increase mutant frequency (MF) in liver or colon. No

apparent increase in PCNA-positive foci was observed in any of tissues analyzed 14 days after the treatment. Administration of MeIQx (300 ppm) in diet for 12 weeks, however, caused MF increases in liver and colon in male and female mice, with greater increases in the females. An increase was also obvious after 4 weeks, but only in females. These results demonstrated that in the transgenic mouse mutation assay, long-term feeding of MeIQx was more effective than single gastric exposures and that sex differences in susceptibility can also be observed.

Keywords : organ specificity, Big Blue[®], *lacI*

Kawasaki, K.^{1,2}, Suzuki, T., Ueda, M.², Ichihashi, G.², Reguer, G., Yamasaki, H.¹: **CC to TT mutation in the mitochondrial DNA of normal skin: relationship to ultraviolet light exposure** *Mutation Res.* **468**, 35-43 (2000)

In order to get a cumulative marker of UV exposure, we have established a sensitive allele-specific polymerase chain reaction (AS-PCR) assay capable of detecting one CC to TT mutation in Mt DNA among 10⁷ wild-type genes using a mismatch allele-specific primer. With this assay, we found no mutation-positive samples from internal non-exposed tissue (stomach, colon, and blood) (0/50). In contrast, 17 out of 111 skin samples were positive. In normal skin tissue, the prevalence of positive samples was higher in those from exposed sites (13/51) than in those from less-exposed sites (1/26) ($p < 0.05$), however, a quantitative correlation was not found. We conclude that the UV-associated CC to TT mutation in Mt DNA can be detected in normal skin, but further studies are required to develop this as a quantitative marker for UV exposure.

Keyword : allele-specific PCR, UV, mitochondria

¹ International Agency for Research on Cancer (France)

² 神戸大学医学部

Horiguchi, M.¹, Masumura, K., Ikehata, H.², Ono, T.², Kanke, Y.¹ and Nohmi, T.: **Molecular nature of UVB-induced deletions in the murine epidermis** *Cancer Res.*, **61**, 3913-3918 (2001)

Tumor development in the skin could be a multi-step process where various genetic alterations. We demonstrate that UVB irradiation efficiently induces deletions in the epidermis using a novel transgenic mouse *gpt* delta. In this mouse model, deletions in lambda DNA integrated in the chromosome are preferentially selected as Spi^r (sensitive to P2 interference) phages, which can then be subjected to molecular analysis. The mice were exposed to UVB at single doses. Four weeks later, lambda phage was rescued from the genomic DNA of the epidermis. The mutant frequencies of Spi^r having large deletions in the epidermis increased more than 15-fold at a UVB dose of 0.5 kJ/m² over the control. Molecular sizes of most of the large deletions were greater than 1,000 base pairs. These results suggest that UVB irradiation induces deletions in the murine epidermis, and most of the deletions are generated through end-joining of DNA double strand breaks.

Keywords : UVB, epidermis, deletion

¹ 東京農業大学

² 東北大学薬学研究科

Masumura, K., Matsui, K., Yamada, M., Horiguchi, M., Ishida, K.*, Watanabe, M.*, Wakabayashi, K.* and Nohmi, T.: **Characterization of mutations induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine in the colon of *gpt* delta transgenic mouse: novel G:C deletions beside runs of identical bases**

Carcinogenesis, **21** (11), 2049-2056 (2000)

Mutations induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP), were characterized using *gpt* delta transgenic mice. This system has two selection methods to efficiently detect the point mutations or deletions. The mice were fed with a diet containing 400 ppm PhIP for 13 weeks and *gpt* and Spi^r mutations were analyzed from the colon. Concerning the types of *gpt* mutations from PhIP-treated mice, G:C to T:A transversions and single base pair deletions at G:C base pairs predominated. Concerning Spi^r mutants from PhIP-treated mice, G:C base pair deletions in monotonic G or C run sequences and beside run sequences predominated. These results suggest that PhIP induces point mutations, rather than larger deletions *in vivo* and that run sequences may play an important role in PhIP-induced G:C base pair deletions.

Keywords: PhIP, *gpt* delta, mutation spectrum

*国立がんセンター研究所

Kushida, H.*, Fujita, K.*, Suzuki, A.*, Yamada, M., Nohmi, T. and Kamataki, T.*: **Metabolic activation of N-alkylnitrosamines in genetically engineered *Salmonella typhimurium* expressing CYP2E1 or CYP2A6 together with human NADPH-cytochrome P450 reductase**

Carcinogenesis, **21** (11), 1227-1232 (2000)

The mutagen-activating capacity of human CYP2E1 for N-alkylnitrosamines was compared with that of CYP2A6 using *Salmonella typhimurium* YG7108 2E1/OR and YG7108 2A6/OR strains. Eight N-alkylnitrosamines, including N-nitrosodimethylamine, N-nitrosodiethylamine, N-nitrosodipropylamine, N-nitrosodibutylamine, N-nitrosomethylphenylamine, N-nitrosopyrrolidine, N-nitrosornicotine and 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone were examined. We conclude that human CYP2E1 is mainly responsible for the metabolic activation of N-nitrosamines with a relatively short alkylchain(s), whereas CYP2A6 was predominantly responsible for the metabolic activation of N-alkylnitrosamines possessing a relatively bulky alkyl chain(s).

Keywords : N-alkylnitrosamines, human CYP2E1, human CYP2A6

*北海道大学薬学研究科

Kushida, H.*, Fujita, K.*, Suzuki, A.*, Yamada, M., Nohmi, T. and Kamataki, T.*: **Development of a *Salmonella* tester strain sensitive to promutagenic N-nitrosamines: expression of recombinant CYP2A6 and human NADPH-cytochrome P450 reductase in *S. typhimurium* YG7108**

Mutat. Res., **471**, 135-143 (2000)

We developed a new *Salmonella* tester strain highly sensitive to promutagenic N-nitrosamines by introducing a plasmid carrying human cytochrome P450 2A6(CYP2A6) and NADPH-cytochrome

P450 reductase (OR) cDNA into the *ada*- and *ogt*-deficient strain YG7108. The expressed CYP2A6 efficiently catalyzed coumarin 7-hydroxylation. *N*-nitrosomethylphenylamine (NMPA) and some other chemicals were mutagenic in the new strain into the absence of any exogenous activation system. We believe that this is the first demonstration that CYP2A6 is responsible for the metabolic activation of NMPA. The established tester strain may be useful to predict human activation of *N*-nitrosamine promutagens.

Keywords : YG7108, mutation assay, heterologous expression
*北海道大学薬学研究科

Wagner, J.*, Nohmi, T.: ***Escherichia coli* DNA Polymerase IV Mutator Activity: Genetic Requirements and Mutational Specificity**

J. Bacteriol., **182**, 4587-4595 (2000)

The *dinB* gene of *Escherichia coli* encodes a novel DNA polymerase, DNA Pol IV, which is able to dramatically increase the untargeted mutagenesis. At the amino acid level, DNA Pol IV shares sequence homologies with *E. coli* UmuC (DNA Pol V), Rev1p and Rad30p (DNA polymerase η) of *Saccharomyces cerevisiae* and human Rad30A (XPV) proteins, all of which are involved in translesion DNA synthesis. Here, we report that the DNA pol IV mutator activity clearly promotes single nucleotide substitutions as well as one base deletions in the ratio of about 1:2. The base changes were strikingly biased for substitutions toward G:C base pairs and about 70 % of them occurred in 5'-GX-3' sequences where X represents the base (T, A or C) that is mutated to G. These results are discussed in the view of the recently described biochemical characteristics of DNA Pol IV.

Keywords : *dinB*, DNA polymerase IV, untargeted mutagenesis
* IRCAD, CNRS, France

Wagner, J.*, Fujii, S.*, Gruz, P., Nohmi, T., Fuchs, R.P.P.*: **The s clamp targets DNA polymerase IV to DNA and strongly increases its processivity.**

EMBO Report, **1**, 484-488 (2000)

The recent discovery of a new family of ubiquitous DNA polymerases involved in translesion synthesis has shed new light onto the biochemical basis of mutagenesis. Among these polymerases, the *dinB* gene product (Pol IV) is involved in mutagenesis in *Escherichia coli*. We show here that the activity of native Pol IV is drastically modified upon interaction with the s subunit, the processivity factor of DNA Pol III. In the absence of the s subunit, Pol IV is strictly distributive and no stable complex between Pol IV and DNA could be detected. In contrast, the s clamp allows Pol IV to form a stable initiation complex ($t_{1/2}$ approximately 2.3 min), which leads to a dramatic increase in the processivity of Pol IV reaching an average of 300-400 nucleotides. *In vivo*, the s processivity subunit may target DNA Pol IV to its substrate, generating synthesis tracks much longer than previously thought.

Keywords : *dinB*, DNA polymerase IV, processivity
* IRCAD, CNRS, France

Shimura, K.*, Yamaguchi, S.*, Saitoh, T.*, Takeuchi-Sasaki, M.*, Kim, S.-R., Nohmi, T. and Yokota, J.*: **Adenine excisional repair function of MYH protein on the adenine:8-hydro-**

xyguanine base pair in double-stranded DNA

Nucleic Acids Res., **28**, 4912-4918 (2000)

Adenine paired with 8-hydroxyguanine (oh⁸G), a major component of oxidative DNA damage, is excised by MYH base excision repair protein in human cells. We compared the repair activity of type 1 mitochondrial and type 2 nuclear MYH proteins on A:oh⁸G and A:G mismatches. In a reaction buffer with a low salt (0-50 mM) concentration, adenine DNA glycosylase activity of type 2 protein was detected on both A:oh⁸G and A:G substrates. However, in a reaction buffer with a 150 mM salt concentration, similar to physiological conditions, the glycosylase activity on A:G, but not on A:oh⁸G, was extremely reduced and the binding activity of type 2 protein for A:G, but not for A:oh⁸G, was proportionally reduced. The glycosylase activity on A:oh⁸G and the ability to suppress spontaneous mutagenesis were greater for type 2 than type 1 enzyme. These results indicate that human MYH protein specifically catalyzes the glycosylase reaction on A:oh⁸G under physiological salt concentrations.

Keywords : oxidative DNA damage, 8-hydroxyguanine, base excision repair

*国立がんセンター研究所

Tanabe, H., Nakagawa, Y.¹, Minegishi, D., Hashimoto, K.², Tanaka, N.¹, Oshimura, M.³, Sofuni, T., and Mizusawa, H. **Human Monochromosome Hybrid Cell Panel Characterized by FISH in the JCRB/HSRRB**

Chromosome Res. **8**, 319-334 (2000)

The human monochromosome hybrid cell panel in the Japanese Collection of Research Bioresources (JCRB) consists of 23 mouse cell clones, each containing a different human chromosome. In order to determine the state of the human chromosomes and to supply the information to investigators, we characterized the cells by fluorescence *in situ* hybridization (FISH) with corresponding human chromosome-specific painting probes. Here we report the frequency of intact human chromosomes maintained in each hybrid and the retained subregions of corresponding human chromosomes with relative frequencies estimated by fluorescent intensity. This characterization will provide valuable information to investigators using the panel.

Keywords: FISH (fluorescence *in situ* hybridization), human monochromosome hybrid cell panel, JCRB (Japanese Collection of Research Bioresources)

¹食品薬品安全性研究センター 秦野研究所

²国立感染症研究所

³鳥取大学医学部

高田容子, 増井 徹, 田辺秀之, 原沢 亮*, 水沢 博: **培養細胞系でのマイコプラズマのPCR検出法**

Tiss. Cult. Res. Commun. **19**, 131-138 (2000)

マイコプラズマの汚染を迅速・正確に検出することを目的に, ネステッドプライマーを用いた 2 段階の PCR 法 (ネステッドPCR法) を利用した検出系を開発した。2 段階の PCR は検出感度を高めると同時に, 1 段階目の PCR の特異性を確認できる利点がある。陽性コントロールとして *Mycoplasma orale* DNA を用い, テンプレート DNA 濃度 3~10fg/ μ l (1 反応あたり 2-6 コピー) が検出限界であることが明らかに

なった。更に、PCR法で増幅されたDNAを回収し、塩基配列を決定した結果、細胞に感染しているマイコプラズマ菌種を確実に同定することができた。この一連の方法の開発により、培養細胞に汚染しているマイコプラズマの検出感度、迅速性、また、信頼性を高め、細胞バンクの品質管理を向上させることが可能となった。

Keywords : Mycoplasma, nested PCR, DNA sequencing

* 東京大学医学部附属動物実験施設

Imamura, O.¹, Fujita, K.¹, Shimamoto, A.¹, Tanabe, H., Takeda, S.², Furuichi, Y.¹, and Matsumoto, T.¹: **Bloom helicase is involved in DNA surveillance in early S phase in vertebrate cells** *Oncogene* 20, 1143-1151 (2001)

Bloom syndrome (BS) is a recessive human genetic disorder characterized by short stature, immunodeficiency and an elevated risk of malignancy. BS cells have mutator phenotypes such as hyper-recombination, chromosome instability and an increased frequency of sister chromatid exchange (SCE). We generated *BLM*^{-/-} mutants of the chicken B-cell line DT40. They are hypersensitive to genotoxic agents such as etoposide, bleomycin and 4-nitroquinoline-1-oxide and irradiation with the short wave length of UV (UVC) light. UVC irradiation to *BLM*^{-/-} cells during G1 to early S phase caused chromosomal instability, leading to eventual cell death. These results suggest that BLM is involved in surveillance of base abnormalities in genomic DNA that may be encountered by replication forks in early S phase. Such surveillance would maintain genomic stability in vertebrate cells, resulting in the prevention of cellular tumorigenesis.

Keywords : RecQ-type DNA helicase, Bloom syndrome, DT40

*¹エイジーン研究所

*²京都大学医学部

増井 徹, 祖父尼俊雄, 石井美智子^{*1}, 今西由紀夫^{*2}, 安井英明^{*2}, 高田容子, 林 真, 水沢 博: **厚生省細胞バンクにおけるヒト組織・細胞取り扱い倫理問題への取り組み** *Tiss. Cult. Res. Commun.* 19, 1-15 (2000)

医学・生物学研究の中でヒトの組織・細胞を利用した研究が重要な位置をしめるようになってきた。そして、社会意識の変化に対応するために、ここに至ってヒト試料を利用する際の倫理問題に関する複数ガイドラインが並列に存在する状況となる。研究現場では、いくつかのガイドラインに跨る形で研究を行わなければならないことになり、倫理審査が困難な状況となることも予想されている。そこで、この分野の社会認知の得るためにも、研究体制が整えられようとしている今こそ、基本的事柄に立ち還ることが重要であると考えている。我々は、厚生科学審議会先端医療技術評価部会の1998年12月の答申と日本組織培養学会の倫理問題検討委員会報告を踏まえて、ヒト試料の公的研究資源化のプロセスについて検討を試みてきた。本稿では厚生省細胞バンク(JCRB細胞バンク)の取り組みをケーススタディーとして報告する。

Keywords : human material, guideline, public research resource bank

*¹ 東京都立大学法学部

*² 関東中央病院

長谷川隆一, 小泉睦子, 広瀬明彦, 前川昭彦*: **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** *日本食品化学学会誌*, 7, 1-9 (2000)

内分泌かく乱化学物質の一つとして注目されているアルキルフェノール類として, nonylphenol および tert-octylphenol について, 文献情報を収集・整理するとともに, 評価を行った。両物質ともに, in vitro および in vivo でエストロゲン受容体を介したエストロゲン様作用が認められる。経口投与によっては雌の生殖器官, 乳腺, 雄の生殖器官への強い影響は認められていないが, nonylphenol を出生直後の雄に腹腔内投与することにより, 顕著な精巣及び副生殖器官重量の低下, 停留率及び受胎率の低下が引き起こされている。生体内動態は迅速で, 半減期は数時間以内と短い。ラットの多世代混餌投与試験で, nonylphenol の生殖毒性に関する無毒性量は15mg/kg/dayである。この値を人の最大推定1日摂取量と比較したところ, 安全域は3,000倍以上と推定され, 人への危険性は現在のところ低いと考えられた。

Keywords : nonylphenol, octylphenol, estrogenic activity

* 佐々木研究所

小泉睦子, 江馬 真, 広瀬明彦, 長谷川隆一: **フタル酸エステルの生殖および発生に対する毒性影響についての最近の研究: 主としてDi(2-ethylhexyl) phthalate および Di-n-butyl phthalate について**

日本食品化学学会誌, 7, 65-73 (2000)

フタル酸エステルのうち, 主にdi(2-ethylhexyl) phthalate および di-n-butyl phthalate について, げっ歯類の生殖および発生に対する毒性影響およびその推測されるメカニズムについて, 最近の文献を中心に整理した。雄に対しては精巣萎縮や精子形成阻害を, 雌に対しては性周期の延長や排卵阻害を引き起こす。生殖毒性としては, 雌雄どちらに対しても不妊を, 器官形成期の投与で口蓋裂, 頸椎, 胸椎, 肋骨の奇形および腎盂拡張等の催奇形作用を, 妊娠後期および哺乳期の母動物への投与では, 次世代雄で肛門生殖突起間距離の短縮, 尿道下裂, 停留率, 精巣および副生殖器官の萎縮を引き起こす。毒性発現の殆どはモノエステル体によるものと考えられ, 雄の精巣毒性はセルトリ細胞に対する影響を介して, また次世代雄への影響はアンドロゲン受容体を介さない抗アンドロゲン作用と考えられている。

Keywords : di(2-ethylhexyl) phthalate, di-n-butyl phthalate, reproductive/developmental toxicity

小泉睦子, 江馬 真, 広瀬明彦, 黒川雄二, 長谷川隆一: **フタル酸エステルの生殖・発生無毒性量, 精巣毒性の週齢差, 種差およびDEHPの1日耐容摂取量**

日本食品化学学会誌, 8, 1-10 (2001)

フタル酸エステルの雄生殖器に対する影響, 雌生殖器に対する影響, 生殖毒性および発生毒性について, 構造活性相関に注目して, 毒性発現の種類と程度(無毒性発現投与量)を比較, 整理した。また, フタル酸エステルの精巣毒性に関する週齢差および種差の発現機構に関する情報を解析し, 考察した。最後に, 平成12年に設定されたDEHPのTDI誘導の根拠となつて情報を整理, 解説するとともに, その適正, 情報の欠落等について考察した。

Keywords : NOAELs of phthalate esters, Species and age differ-

ences of testicular toxicity, TDI of DEHP

広瀬明彦, 鎌田栄一, 西川秋佳, 紅林秀雄, 江馬 眞, 安藤正典, 黒川雄二, 長谷川隆一: ホルムアルデヒドの経口および吸入暴露による毒性と水道水における安全性の評価

水環境学会誌, **24**, 308-316 (2001)

飲料水の消毒副生成物の 1 つであるホルムアルデヒドは, 経口摂取されるのみならず, 水道水の様々な使用形態により気化することにより, 吸入暴露を受けることが想定される。しかし, WHO や日本における水質基準の設定には, 吸入による暴露評価がほとんど考慮されていない。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, ホルムアルデヒドの毒性評価と水道水における安全性評価を, 経口摂取と吸入暴露に分けて行った。

Keywords : formaldehyde, disinfectant by-product, risk assessment

奥田秀毅^{*1}, 吉川一正^{*1}, 中西昭雄^{*2}, 松原俊彦^{*2}, 岡田敏史: 容量分析用標準液標定への電気滴定法の適用
医薬品研究, **32**, 140-144 (2001)

日局 1 3 一般試験法の容量分析用標準液の標定は, 「0.1mol/L 亜硝酸ナトリウム液」を除けば, すべて指示薬法により行われているが, 医薬品各条の定量法における滴定法では電気滴定法, 主として電位差滴定法の採用が増加してきている。各条で電気滴定法が採用されている標準液の標定法として, 指示薬法だけでなく電位差滴定法を適用するために, 15種類の標準液(濃度違いを含めて)の標定結果が, 両法により一致するか否かについての共同実験の結果をまとめたものである。この共同実験結果に基づいて, 日局容量分析用標準液に対する改正提案が行われた。

Keywords : volumetric analysis, potentiometric titration method, indicator method

^{*1}大阪医薬品協会技術研究委員会

^{*2}東京医薬品工業協会技術委員会

Inukai, M.,* Jin, Y.,* Yomota, C. and Yonese, M*: Preparation and characterization of hyaluronate-hydroxy acrylate blend hydrogel for controlled release device

Chem. Pharm. Bull., **48**, 850-854 (2001)

Hyaluronate-hydroxyethyl acrylate blend hydrogels were investigated as materials for controlled release devices. Glycidyl methacrylate(GMA) derivatized HA(GMS-HA) was synthesized by coupling of GMA to HA in the presence of a suitable catalyst. These hydrogels were prepared by a free radical copolymerization of GMA-HA and hydroxyethyl acrylate. The water content of these hydrogels was 0.978; however, these hydrogels were mechanically tough and could be used as disk shape. The hydrogels swelling were found to depend on ionic strength and pH. The dried hydrogel quickly regained their original condition in water, and they swelled to more than 90% of its initial water contents after 30 min. This swelling-deswelling behavior was reproducible. The release of chlorpromazine HCl as a model cationic drug from the gels was suppressed significantly in water. The release increased with increasing the ionic strength and decreasing pH of bulk solutions.

Keywords : hyaluronic acid, hydroxyethyl acrylate, gel

*名古屋市立大学薬学部

Miyazaki, T., Yomota, C. and Okada, S.: Hyaluronate depolymerization following thermal decomposition of oxytetracycline
Chem. Pharm. Bull., **49**, 118-122 (2001)

Depolymerization of hyaluronate (HA) by oxytetracycline (OTC) was investigated. On mixing with OTC and incubating at 37°C, HA was gradually depolymerized. OTC is known as a photosensitizer, however, HA depolymerization required no irradiation. As time passed, OTC solution incubated at 37°C got colored reddish brown, even in the dark. With reversed-phase HPLC separation, several peaks derived from decomposed OTC appeared. One of the peaks had an absorbance in the visible range. A quantitative correlation between the discoloration and the HA depolymerization rate was obtained. On the other hand, when samples were incubated below 25°C change of color was slight, and practically no HA depolymerization was observed after up to 4 hours. Oxygen depletion by nitrogen saturation or addition of mannitol also prevented the depolymerization. Under anaerobic conditions, the color of the solution did not change, whereas it turned red under aerobic conditions in the presence of mannitol. The mannitol did not inhibit the OTC decomposition, but it preserved HA from damage. On the basis of the known decomposition of OTC and the results of HPLC separation, anhydroxytetracycline can be proposed as the derivative causing HA depolymerization.

Keywords : hyaluronate, oxytetracycline, molecular weight

Kudo, K.,* Iwaya, K.,* Yomota, C., Morris, S.* and Saito, M.*: Determination of Enantiomeric Purity of Hyoscyamine from Scopolia Extract using HPLC-CD system without chiral separation

Enantiomer, **5**, 369-375(2000)

Enantiomer ratio of hyoscyamine from Scopolia extract was determined by chiral HPLC-CD analysis. It was found that circular dichroism(CD) detection allowed the analysis of the sample without any special pretreatment whereas UV detection required ammonia-ether extraction. To obtain a shorter analysis time for the determination, reversed-phase HPLC-CD analysis was applied by using a g-factor calibration curve (EE% vs. CD/UV). The analysis time was shortened from 35 to 18 min. EE% values obtained were consistent with those by chiral HPLC analysis.

Keyword: Hyoscyamine, CD detector, Chiral

*日本分光株式会社

Saito, H., Arimoto I,*, Tanaka, M.*, Sasaki T.*, Tanimoto, T., Okada, S. and Handa, T.*: Inhibition of lipoprotein lipase activity by sphingomyelin: role of membrane surface structure
Biochim. Biophys. Acta., **1486**, 312-320(2000)

We have recently shown that sphingomyelin (SM) strongly inhibits lipoprotein lipase (LPL)-mediated lipolysis in monolayers and emulsion particles. To further evaluate how SM modulates LPL activity on the emulsion surface, the relationship between membrane surface structure and LPL activity was investigated. We measured fluorescence anisotropy of 1-palmitoyl-2-[3-(diphenylhexatrienyl)-propionyl]-sn-3-phosphatidylcholine, prob-

ing surface acyl chain fluidity, and fluorescence lifetime of N-(5-dimethyl-aminonaphthalene-1-sulfonyl)dipalmitoyl-phosphatidylethanolamine in H₂O and D₂O buffer, assessing the degree of hydration in the head group region. The results revealed that incorporation of egg SM into triolein-egg phosphatidylcholine emulsions markedly increased acyl chain order and decreased head group hydration of the surface monolayers. In contrast, cholesterol was shown to increase head group hydration despite a strong increase in acyl chain order. The close correlation between the apparent *K_m* values of LPL and the degree of head group hydration indicated that LPL interacts with the head group region rather than with the hydrophobic interior of the surface monolayers. However, apparent *V_{max}* did not show a simple correlation with any surface structure, and the finding in which SM had no effect on apparent *V_{max}* of medium-chain triglyceride emulsions suggested that the hydrophobic interaction between acyl chains of SM and triglyceride at the emulsion surface is important for determining the apparent *V_{max}*. These results showed conclusively that SM inhibits LPL activity mainly by changing the emulsion surface structure and not by a specific interaction between SM and LPL.

Keywords : sphingomyelin, lipoprotein lipase, cholesterol

*京都大学大学院薬学研究科

Saito, H., Okuhira, K.*, Tsuchimoto, N.*, Vertut-Doi, A.*, Matsumoto, C.*, Tanimoto, T., Okada, S. and Handa, T.* : **Modulation of Apolipoprotein E-Mediated Plasma Clearance and Cell Uptake of Emulsion Particles by Cholesteryl Ester** *Lipids*, **36**, 27-33 (2001)

Cholesteryl ester, along with triglyceride (TG), is the major core component of plasma lipoproteins. We investigated the effect of core composition on the physical state and metabolic behavior of lipid emulsions, as model particles of lipoproteins. Fluorescence studies using 1,6-diphenylhexatriene analogs showed that although cholesteryl oleate (CO) significantly decreased core mobility, the surface rigidity of phosphatidylcholine (PC) monolayers was independent of core composition. When intravenously injected into rats, the increased amount of core CO tended to retard TG emulsion removal from plasma, and the initial clearance rate was correlated with the amount of apolipoprotein E (apoE) bound from plasma. In addition, PC liposomes with a similar emulsion particle size showed negligible binding of apoE and were cleared at a slower rate compared to all emulsions. Furthermore, the effect of CO on the binding behavior of apoE to the emulsion surface and the emulsion uptake by hepatocytes was assessed in vitro. Replacing core TG with CO was found to decrease the apoE binding capacity to emulsions markedly without changing the binding affinity and thereby to reduce the cell uptake of emulsion particles by HepG2 cells. These results indicate that the physical state of core lipids, which can be modulated by CO content, plays a role in emulsion metabolism through the alteration in apoE binding.

Keywords : apolipoprotein E, cell uptake, cholesteryl ester

*京都大学大学院薬学研究科

Saito, H., Tanaka, M.¹, Okamura, E.², Kimura, T.², Nakahara,

M.² and Handa, T.¹ : **Interaction of Phosphatidylcholine Surface Monolayers with Triglyceride Cores and Enhanced ApoA-I Binding in Lipid Emulsions**

Langmuir, **17**, 2528-2532 (2001)

The binding maximum of apoA-I (N) in triolein (TO)-egg yolk phosphatidylcholine (PC) emulsions was 10-fold larger than that in PC large unilamellar vesicles (LUV) of similar size (100 nm) with no significant difference in the affinity. Replacement of the long-chain triglyceride, TO, by medium-chain triglycerides or cholesteryl oleate in emulsion cores significantly decreased the N value. The ¹³C NMR chemical shifts of the PC carbonyl carbon at the surface layers indicated that PC polar headgroups are more separated and exposed to water molecules in emulsions than in vesicles. The N values were satisfactorily correlated with the chemical shift, that is, the degree of separation between the carbonyl groups at the surface. Although apoA-I binding to the PC monolayers of emulsions brings about bending of the surface layers and creates local defects in the hydrocarbon regions in a similar manner as PC LUV, the surface-core interaction seems to fill the defects with the core neutral lipids, compensates for the bending stress, and eventually increases the N value. Dependence of the core effect upon the acyl chain length of triglycerides implied important roles of the acyl chains in the surface-core interaction between PC and triglycerides.

Keywords : apolipoprotein A-I, NMR, emulsions

*1 京都大学大学院薬学研究科

*2 京都大学化学研究所

Maekawa, K., Tanimoto, T., Okada, S., Suzuki, T.¹, Suzuki, T.¹, Yabe-Nishimura, C.², : **Expression of Aldose Reductase and Sorbitol Dehydrogenase Genes in Schwann Cells Isolated from Rat: Effects of High Glucose and Osmotic Stress**

Mol. Brain Res., **87**, 251-256 (2001)

To investigate the polyol pathway activity in Schwann cells, we determined the mRNA levels of Aldose reductase (AR) and sorbitol dehydrogenase (SDH) in cultured cells under hyperglycemic or hyperosmotic conditions using competitive RT-PCR technique. The expressions of AR and SDH mRNAs in Schwann cells were unaltered by high (30 mM) glucose content in the medium. On the other hand, osmotic stress elicited significant increases in AR mRNA without any effect on SDH mRNA expression. These findings suggest that in contrast to the induction of AR expression by osmotic stress, high glucose per se does not up-regulate expression of the enzymes constituting the polyol pathway in Schwann cells. The RT-PCR system developed in this study may be a useful tool in ascertaining the relative contributions of AR and SDH to the metabolic derangements leading to diabetic complications.

Keywords : polyol pathway, diabetic neuropathy; competitive RT-PCR

*1 三和化学研究所

*2 京都府立医科大学

小出達夫, 岩田美保, 前川京子, 斎藤博幸, 谷本 剛, 岡田敏史 : **国立医薬品食品衛生研究所スウェルチアマリン標準品の新規設定のための品質評価** *医薬品研究*, **32 (3)**, 118-123 (2001)

スウェルチアマリン標準品の新規設定のための品質評価試験を行った。試験成績は以下のとおりである。1) 元素分析: 理論値と一致した。2) NMR: 構造を支持した。3) 紫外吸収スペクトル: 236.2nmに極大吸収が認められ, 比吸光度はそれぞれ257.2(236nm)。4) 赤外吸収スペクトル: 3346, 1697, 1619, 1282, 1068, 1013cm⁻¹に特性吸収がみられた。5) 水分含量: 3.42%。6) 液体クロマトグラフ法による純度試験: 複数個の不純物が検出され, 不純物総量は約0.3%であった。7) ガスクロマトグラフ法による残留溶媒試験: ブタノールが約3.96%検出された。以上の試験成績から, 本標準品原料は, 国立医薬品食品衛生研究所スウェルチアマリン標準品に適した品質を有することを認めた。

Keywords: Swertiamarin, NIHS Reference Standard, Quality evaluation

斎藤博幸, 岩田美保, 小出達夫, 前川京子, 谷本 剛, 岡田敏史: 国立医薬品食品衛生研究所ニコチン酸トコフェロール標準品の新規設定のための品質評価
医薬品研究, 31 (11), 818-823 (2000)

ニコチン酸トコフェロール標準品の新規設定のための品質評価試験を行った。試験成績は以下のとおりである。1) 元素分析: 理論値と一致した。2) NMR: 構造を支持した。3) 紫外吸収スペクトル: 264nmに極大吸収が認められ, 比吸光度は83.5であった。4) 赤外吸収スペクトル: 1742, 1590, 1462, 1241, 1099cm⁻¹に特性吸収がみられた。5) 水分含量: 0.03%。6) 融点: 43.9°C。7) 液体クロマトグラフ法による純度試験: 4個の不純物が検出され, 不純物総量は約0.91%であった。以上の試験成績から, 本標準品原料は, 国立医薬品食品衛生研究所ニコチン酸トコフェロール標準品に適した品質を有することを認めた。

Keywords: Tocopherol nicotinate, NIHS Reference Standard, Quality evaluation

斎藤博幸, 岩田美保, 前川京子, 谷本 剛, 岡田敏史, 鎌倉浩之, 川原信夫, 中根孝久, 関田節子, 佐竹元吉, 横田洋一^{*1}, 津野敏紀^{*1}, 鈴木英世^{*1}, 岩嶋 淨^{*2}, 松浦敬一^{*2}: 国立医薬品食品衛生研究所バイカリン標準品の新規設定のための品質評価

医薬品研究, 31 (7), 465-470 (2000)

バイカリン標準品の新規設定のための品質評価試験を行った。試験成績は以下のとおりである。1) 元素分析: 理論値と一致した。2) 紫外吸収スペクトル: 277.2nmと317.0nmに極大吸収が認められ, 比吸光度はそれぞれ609(277nm)と384(317nm)。3) 赤外吸収スペクトル: 3385, 1728, 1662, 1611, 1575cm⁻¹に特性吸収がみられた。4) 水分含量: 3.07%。5) 融点: 210.4°C。6) 液体クロマトグラフ法による純度試験: 1個の不純物が検出され, 不純物総量は約0.5%であった。以上の試験成績から, 本標準品原料は, 国立医薬品食品衛生研究所バイカリン標準品に適した品質を有することを認めた。

Keywords: Baicalin, NIHS Reference Standard, Quality evaluation

^{*1} 富山県薬事研究所

^{*2} 松浦薬業株式会社

谷本 剛, 八木澤守正^{*1}, 藤原 博^{*2}: 日本抗生物質医薬品

基準の日本薬局方への移行における問題点とその対応 (その1) —医薬品各条—

医薬品研究, 31 (9), 674-680 (2000)

日局13(第二追補を含む)に記載されている抗生物質医薬品108品目についての日抗基規格の構成内容を調査し, その他の日局医薬品各条での規格内容との差異を比較検討するとともに, 適否の判定基準等に対する日局と日抗基間での考え方の相違点について検討した。更に, これらの検討結果に基づいて, 原薬たる抗生物質医薬品を日局に規定する際に日局医薬品各条との整合を図るために必要な措置や留意点などについて考察した。

^{*1} 日本抗生物質学術協議会

^{*2} 国立感染症研究所

Tsumura, Y., Ishimitsu, S., Saito, I^{*1}, Sakai, H.^{*2}, Kobayashi, Y.^{*2}, Tonogai, Y.: Eleven phthalate esters and di(2-ethylhexyl) adipate in one-week duplicate diet samples obtained from hospitals and their estimated daily intake
Food Add. Contam., 18, 449 - 460 (2001)

Plasticizers in one-week total diet samples were determined for the purpose to estimate daily intake. The phthalate esters were as follows: diethyl, dipropyl, dibutyl, dipentyl, dihexyl, butylbenzyl, dicyclohexyl, di(2-ethylhexyl), dioctyl, diisooctyl (mixture of isomers) and diisononyl (mixture). Di(2-ethylhexyl) adipate was also determined. For analysis, homogenized meal sample was extracted with acetonitrile, lipids were removed by extraction into n-hexane and the acetonitrile layer was cleaned using Florisil^R and Bondesil PSA^R dual layer column. Phthalates were determined by GC/MS (SIM). Phthalate recovery from fortified meal mixture by this methods was 62.5 to 140.8%. Quality assurance as assessed by three laboratories indicated coefficient of variance in the levels of detected phthalates in same lot samples as below 10%. Detection limits were 0.1 to 23 ng/g for each phthalate. One-week diet samples provided at three hospitals in three remote prefectures of Japan were analyzed for individual meal. In all 63 samples, DEHP was the highest among all phthalates, 10 to 4400 ng/g. Daily intake of phthalates estimated from all samples was 519 µg DEHP / day, 86 µg DEHA / day, 65 µg DINP / day, and 4.7 µg BBP / day. Calculated DEHP in two-day samples out of 21 days exceeded EU TDI for a person of 50 kg body weight (1850 µg per day). Disposable PVC gloves used during preparation of meals were suspected as the source of high DEHP content. One-day intake of the other phthalates and DEHA was below 7% of TDI in all cases. High concentration of DEHP (5990 ng/g) was found in baby food used in quality assurance. The source of contamination was PVC-tube in production and effectively reduced by replacing the tube to stainless steel one.

Keywords: phthalate, DEHP, DEHA, total diet sample, hospital food, GC/MS.

^{*1} 愛知県衛生研究所

^{*2} 新潟県保健環境科学研究所

津村ゆかり, 石光進, 中村優美子, 吉井公彦, 開原亜樹子, 外海泰秀: 調理用PVC製手袋使用規制後における市販弁当中のフタル酸エステル類及びアジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)濃度

食品衛生学雑誌, 42, 128-132 (2001)

調理用PVC製手袋の使用が規制されて2か月経過した2000年8月に,市販弁当(いわゆるコンビニ弁当)10検体中のフタル酸エステル類(PhE)11種及びアジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)(DEHA)を測定し,規制前と比較した.試験期間中の検出下限値は,フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)(DEHP)が14.9ng/g,フタル酸ジ-n-ブチル(DBP)が18.6ng/gであった.市販弁当中の各PhEの濃度は,DEHPが45~517ng/g(平均198ng/g),DEHAが不検出~90ng/g,BBPが不検出~10.0ng/g,フタル酸ジイソノニル(DINP)は1検体のみで検出され,その濃度は76ng/gであった.DEHP濃度は平均で前年調査時の22分の1に減少し,その他の化合物も減少した.DBPは全ての試料で不検出であった.

Yoshii, K, Kaihara, A, Tsumura, Y, Ishimitsu, S, Tonogai, Y., **Liquid chromatographic determination of emamectin, milbemectin, ivermectin and abamectin in crops and confirmation by liquid chromatography-mass spectrometry.** *J Chromatogr A*, 896, 75-85 (2000)

Emamectin, milbemectin, ivermectin and abamectin are similar macrocyclic lactone chemicals used as acaricides or parasiticides. We developed a simultaneous analytical method for determining the residual amounts of these compounds and emamectin metabolites in crops. A sample extracted with acetone was cleaned up with Bond Elut C₁₈ and NH₂. The sample was then fluorescence-derivatized with trifluoroacetic anhydride and 1-methylimidazole in acetonitrile. The analyte was measured by HPLC with fluorescence detection using an octadecylsilyl column with 3 microm particle size and gradient elution. In most crops, their recoveries by the developed method were ca. 80-110%. The detection limits of the analytes in vegetables were 0.1-0.3 ppt. Using the developed method, we surveyed the residues of these compounds in 20 commercial crops in Osaka, Japan. The result of the surveillance was that emamectin benzoate of 0.2-6.7 ppb was detected in nine cases and milbemectin of 16.7-279.3 ppb was detected in four cases. The detected samples were confirmed by LC-electrospray ionization (ESI) MS. The limit of detection by LC-ESI-MS was similar to the fluorescence detection level of 0.1-0.3 ppt in vegetables except for milbemectin.

Keywords : emamectin, LC/MS, determination, derivatization

Yoshii K, Tsumura Y, Ishimitsu S, Tonogai Y, Nakamuro K., **Degradation of malathion and phenthoate by glutathione reductase in wheat germ.** *J. Agric Food Chem*, 48, 2502-5 (2000)

Residual malathion in wheat was estimated at a lower value when analysis was performed by extraction with acetone after addition of water to swell the wheat, according to the Japanese Bulletin Method. The supernatant of the wheat homogenate showed degradation not only of malathion but also of phenthoate. Malathion and phenthoate were not degraded by the boiled supernatant of the wheat homogenate. It was presumed for this reason that glutathione reductase (GR; EC 1.6. 4.2) in the wheat degraded malathion. The following results were obtained: (1) GR originating in wheat could degrade malathion and phenthoate. (2) The degradation of malathion by the GR was inhibited by excessive

GSSG. (3) There was a high correlation between GR activity and malathion degradation activity of the supernatant of wheat homogenates. It is likely that GR acted on the specific structure of malathion and phenthoate, the S=P-S bond, and the blanch structure bonding with the sulfur atom. Following the above, extraction with acetone after addition of water (the Japanese Bulletin Method) should be replaced by extraction with pure organic solvent and without addition of water for swelling.

Keywords : wheat, malathion, degradation, phenthoate, enzyme, glutathione reductase

吉井公彦, 津村ゆかり, 中村優美子, 石光進, 外海泰秀: **HPLCによる農作物中ベンタゾン, イナベンフィド, フルスルファミドの定量及びLC/MSによる確認試験**

食衛誌, 41, 268-273 (2000)

農作物中ベンタゾン, イナベンフィド及びフルスルファミドのHPLCによる分析法を作成した.上記3種農薬を試料からメタノール抽出し,酢酸エチルで再抽出,シリカゲルカラムでクリーンアップした後,HPLCで同時に定性・定量した.また,試料からの検出ピークをLC/MSで確認する方法を確立した.3種農薬を各種農作物に0.1µg/g添加したときの回収率は75%以上であり,HPLCによる検出限界は試料中いずれも0.001µg/gであった.

Keywords : crops, pesticide, determination, HPLC, LC/MS

Kaihara A, Yoshii K, Tsumura Y, Nakamura Y, Ishimitsu S, Tonogai Y: **Multiresidue Analysis of Pesticides in Fresh Fruits and Vegetables by Supercritical Fluid Extraction and HPLC** *J. Health Sci.*, 46 (5), 336-342 (2000)

A screening method was established for the determination of 27 pesticides in fresh fruits and vegetables by a super critical fluid extraction (SFE), cleaned up with cartridge columns and HPLC. The multiresidue and semiautomatic analysis was useful for a screening examination, because the determination methods for pesticides under the Japanese Food Sanitation Law are mostly individual determinations. Reported methodologies for multiresidue analysis by HPLC were not adequate to regulated pesticides in Japan. In this report, multiresidue determination of pesticides and their metabolites are discussed using SFE and HPLC. Details of the proposed method are as follows: Wet samples such as fruits and vegetables were not suitable for the SFE instrument, so the water in the samples was removed with an absorptive polymer (Arasorb[®] S-310) prior to SFE. The pesticides were extracted by SFE, the extracts trapped with Extrelut[®] NT+ Bond Elut[®] C₁₈ and then eluted with acetonitrile. The eluate was cleaned up with Sep-Pak[®] Florisil+Bond Elut[®] PSA cartridges. After washing with n-hexane, the pesticides were eluted from the cartridges with 15% ether/n-hexane, 15 and 50% acetone/n-hexane. These three fractions were individually determined by HPLC with a photodiode-array detector. The pesticides spiked in samples at 0.5 ppm showed satisfactory recoveries except for thiabendazole, imazalil and clofentezine. Detection limits were 0.005~0.01 ppm for the 27 pesticides.

Key words : pesticide, super critical fluid extraction (SFE), HPLC

辻 澄子, 松村 郁子, 中村優美子, 外海 泰秀: HPLCによる食用黄色5号(サンセットイエローFCF)中の副成色素, 未反応原料及び反応中間体の分離・定量の検討
食衛誌, 41, 367-363 (2000)

食用黄色5号(Y-5)中の副成色素, 未反応原料及び反応中間体などの有機性不純物の分離・定量にあたりHPLC条件を検討した。その結果, 0.02mol/l酢酸アンモニウム溶液とアセトニトリル-水混液(7:3)との濃度勾配系を用いるHPLC条件を変化させることにより, 4,4'-(ジアゾアミノ)ジベンゼンスルホン酸=二ナトリウム塩とスルファニル酸アゾG塩色素との分離定量を確立した。本HPLC条件を用いて平成10年度Y-5製品検査合格品39検体中の有機性不純物の実態調査を行った。その結果, 検体中の副成色素の総量は規制値の五分の一未満であり, 未反応原料及び反応中間体の総量は規制値の半分以下であった。

Keywords: Food Yellow No. 5, subsidiary color, HPLC

辻 澄子, 天倉 吉章, 岡田 舞, 外海 泰秀: 5種の食用アゾ色素中の未反応原料, 反応中間体及び副成色素の定量用HPLC条件の改良

食衛誌, 42, 114-121 (2001)

第7版食品添加物公定書に定められた5種の食用アゾ色素中の未反応原料, 反応中間体及び副成色素などの有機性不純物の分析法は, 個々の色素毎に異なったHPLC条件が採用されている。そこで, 多数の検体を迅速かつ簡便に測定するために, HPLC条件を検討した。その結果, 0.02mol/l酢酸アンモニウム溶液を10分間保持した後, アセトニトリル-水混液(7:3)との直線濃度勾配系を利用したHPLC条件により, 5種すべてのアゾ色素中の有機性不純物を定量できることが明らかになった。本法により, 平成11年度の製品検査試料のうちアゾ色素163検体中の有機性不純物の含有量を測定した結果, すべて規格限度内であった。

Keywords: azo color, subsidiary color, HPLC

Nakamura, Y., Tsuji, S., Tonogai, Y.: Determination of the levels of isoflavonoids in soybeans and soy-derived foods and estimation of isoflavonoids in the Japanese daily intake

J. AOAC Int., 83, 635-650 (2000)

The levels of 6 kinds of isoflavonoids found in 11 domestic and imported soybeans, and 12 kinds of soybean-based processed foods in Japan were systematically analyzed, and the Japanese daily intake of isoflavonoids from those foods was estimated. The total isoflavonoids (daidzein, glycitein and genistein) were analyzed with acid hydrolysis and the intact isoflavonoids (daidzein, glycitein, genistein, daidzin, glycitin and genistin) were analyzed without hydrolysis. This was followed by clean up with ODS cartridge column and determined by LC with a diode array detector (DAD). The highest content of isoflavonoids was found in kinako (a roasted soybean powder) and the lowest was found in soy sauce. The contents and composition of the isoflavonoids in the 11 soybeans varied by species and country of origin. The level of isoflavonoids found in the processed foods varied by manufacturing method or ingredients. The percentage of aglycon tended to be higher in miso (fermented soybean paste) and soy sauce, which are heated and fermented during the manufacturing process. Japanese daily intake of isoflavonoids from soybeans

and soybean-based processed foods was estimated as 27.80 mg per day (daidzein 12.02 mg, glycitein 2.30 mg and genistein 13.48 mg).

keywords: Isoflavonoids, Soybeans

Nakamura, Y., Ishimitsu, S., Tonogai, Y.: Effects of quercetin and rutin on serum and hepatic lipid concentrations, fecal steroid excretion and serum antioxidant properties

J. Health Sci., 46, 229-240 (2000)

Effects of quercetin and rutin on serum and hepatic lipid concentrations, fecal steroid excretion and their antioxidant properties were investigated in rats by oral administration. No toxic symptom was observed even at the dose of 1.0 g/kg of quercetin or rutin. Serum and hepatic lipid concentrations and fecal steroid excretion was not influenced remarkably, but serum thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) decreased dose-dependently with the administration of quercetin or rutin. The decrease of serum TBARS was significantly correlated with the increase of serum free flavonoids ($p < 0.05-0.001$). Serum flavonoid concentrations, especially free quercetin, were higher in rutin-administered rats than in quercetin-administered rats at doses of 1.0 g/kg for 10 days ($p < 0.05-0.001$). When 1.0 g/kg of quercetin or rutin was administered in a single dose, they remained in the blood as aglycone or their conjugates of quercetin and isorhamnetin, even three days after administration. Recovered flavonoids were only 0.13% and 0.89% in urine for 3 days and 0.03% and 0.13% in serum on day 3 by administration of quercetin and rutin, respectively. Thus, some part of the administered quercetin or rutin was metabolized and showed antioxidant property, but had no remarkable influence on serum or hepatic lipid concentrations or fecal steroid excretion in rats.

keywords: Quercetin, Rutin

Nakamura, Y., Kaihara, A., Yoshii, K., Tsumura, Y., Ishimitsu, S., Tonogai, Y.: Effects of the oral administration of green tea polyphenol and tannic acid on serum and hepatic lipid contents and fecal steroid excretion in rats

J. Health Sci., 47, 107-117 (2001)

Green tea polyphenol (Polyphenon) or tannic acid was administered orally to rats at a dose of 0.01-1.0 or 0.1-1.0 g/kg for 23 days, and changes both in serum and hepatic lipid concentrations and in fecal steroid excretion were examined. The administration of 0.2-1.0 g/kg of Polyphenon caused a significant decrease in levels of serum HDL-cholesterol, whereas tannic acid had no significant effect on serum lipid concentrations. The hepatic triglyceride concentration was significantly higher than controls in rats given more than 0.5 g/kg of Polyphenon, whereas both hepatic triglyceride and phospholipid concentrations were significantly higher after tannic acid administration. Serum thiobarbituric acid reactive substances were significantly low in rats given either 1.0 g/kg of Polyphenon or more than 0.1 g/kg of tannic acid. Fecal neutral steroid excretion increased significantly in rats given a dose of 1.0 g/kg of either Polyphenon or tannic acid. The excretion of fecal bile acids increased significantly in rats given 0.2 g/kg of tannic acid, but then tended to decrease at higher doses; however, excretion of fecal bile acids did not change after

Polyphenon administration. We found that alterations in the compositions of fecal neutral steroids and bile acids were independent of the tannic acid or Polyphenon dose: the ratio of coprostanol to cholesterol decreased significantly in rats given 0.05-0.2 g/kg of Polyphenon or 0.5 g/kg of tannic acid; and the ratio of cholic-acid-derived bile acids to chenodeoxycholic-acid-derived bile acids decreased significantly after administration of 0.05, 0.2 and 0.5 g/kg of Polyphenon or 0.1 and 0.5 g/kg of tannic acid. Primary bile acid excretion increased significantly only in rats given a dose of 0.1 g/kg of Polyphenon. This is the first report that documents the changes occurring in fecal steroid excretion induced by oral administration of green tea polyphenol or tannic acid.

Keywords : Green tea polyphenol ; Tannic acid, Fecal steroid excretion

天倉吉章, 岡田 舞, 辻 澄子, 外海泰秀: HPLCによる生鮮並びに果実加工品に含まれるエラグ酸の定量
食衛誌, 41, 206-211 (2000)

各種果実中のエラグ酸について, メタノール還流抽出, Sep-Pak® tC18カートリッジにより精製後, フォトダイオードアレイ検出器を用いたHPLCによる簡便かつ迅速な分析法を検討した. イチゴ, パイナップル, ラズベリーについて, それぞれエラグ酸各 25, 50 $\mu\text{g/g}$ ずつ添加した時の回収率は 90.1 ~ 98.3% で, 定量限界は 0.05 $\mu\text{g/g}$ であった. エラグ酸の同定には, フォトダイオードアレイ検出器によるUV吸収スペクトルを用いた. また本法を用いて, 市販生鮮果実及び果実加工品中におけるエラグ酸含有量について調査した結果, 同化合物はイチゴ, ラズベリーなどのベリー類に含まれ, 中でもブラックベリーが最も高い含有量 (87.66mg/g) を示した. また, パイナップル, フェイジョア, ヤマモモについても今回新たにエラグ酸の含有を認めた.

Keywords : HPLC, fruits, ellagic acid

Amakura, Y., Okada, M., Tsuji, S., Tonogai, Y.: **Determination of phenolic acids in fruit juices by isocratic column liquid chromatography**

J. Chromatogr. A, 891, 183-188 (2000)

A simple and rapid analytical method of five phenolic acids, gallic, chlorogenic, caffeic, ellagic and ferulic acid, which are naturally occurring bioactives, were determined in fruit juices by isocratic LC using photodiode array UV detection. The sample was pretreated by solid-phase extraction (a combination of Sep-Pak Plus tC₁₈ and Bond Elut PSA).

Keywords : phenolic acids, fruit juices, solid-phase extraction

Amakura, Y., Okada, M., Tsuji, S., Tonogai, Y.: **High-performance liquid chromatographic determination with photodiode array detection of ellagic acid in fresh and processed fruits**

J. Chromatogr. A, 896, 87-93 (2000)

A high-performance liquid chromatographic (HPLC) procedure based on an isocratic elution with photodiode array detection has been developed for a simple and rapid determination of ellagic acid (EA) in fresh and processed fruits. The homogenized sample was refluxed with methanol, and the extract was refined using a solid phase cartridge before HPLC. We analyzed EA in 40 kinds

of fresh fruits and 11 kinds of processed fruits by the developed method. EA was found in several berries, fueijoa, pineapple and pomegranate. This is the first occurrence of the detection of EA in bayberry, fueijoa and pineapple.

Keywords : HPLC, food, ellagic acid

Amakura, Y., Okada, M., Tsuji, S., Tonogai, Y.: **Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic contents in berries**

J. Agric. Food Chem., 48, 6292-6297 (2000)

Selected six phenolic (aglycons; caffeic and ellagic acids, kaempferol, quercetin, myricetin and morin) contents and their changes in nine berries influenced by jam processing have been evaluated using optimized HPLC with diode array detection. The samples, fresh and after jam processing from the berries, were analyzed, and the total amounts of selected phenolics as aglycons were identified and determined by acid hydrolysis of them. Their contents in fresh and jam samples did not indicate appreciable changes; therefore the influence of jam processing on selected phenolics in berries was suggested to be small and mostly present in berries as several conjugated forms glycosylated, esterified, etc., in the samples. The total phenolic contents of each sample also were determined by the Folin-Ciocalteu method. Three samples, namely fresh, jam and acid hydrolysate of the berry, had similar contents. On the other hand, the scavenging effect on the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical was measured, and acid hydrolysates produced many aglycons showed stronger activity than that of the fresh and jam processed samples as a whole.

Keywords : berry, phenolics, jam.

Murai, T., Nakagawa, Y., Maeda, H., Terada, K.: **Altered regulation of cell cycle machinery involved in interleukin-1-induced G1 and G2 phase growth arrest of A375S2 human melanoma cells**

J. Biol. Chem., 276, 6797-6806 (2001)

Interleukin-1 (IL-1) inhibits the growth of A375S2 human melanoma cells by arresting them at G1 and G2 phases of the cell cycle. The arrests are preceded by a rapid decrease in kinase activities of cyclin E-Cdk2 and cyclin B1-Cdc2, which are critical for G1-S and G2-M progression, respectively. IL-1 quickly enhances the protein expression of the CDK inhibitor p21Cip1. The induced p21 binds preferentially to cyclin E-Cdk2, and the increase in p21 binding parallels the decrease in cyclin E-Cdk2 activity. Thus, p21 is likely to be responsible for the inhibition of cyclin E-Cdk2 activity and G1 arrest. Coinciding with the decrease in cyclin B1-Cdc2 activity, there is an increase in tyrosine phosphorylation of Cdc2, suggesting that an increase in the inactive Tyr-15-phosphorylated form of Cdc2 is involved in the decrease in cyclin B1-Cdc2 activity and G2 arrest. Furthermore, we found that IL-1 causes rapid dephosphorylation of p107, but not of pRb or p130, while the total protein levels of p130 are increased. Thus, IL-1 may exert its growth-arresting effects via p107 and p130 pathways rather than through pRb.

Keywords : IL-1, cell growth arrest, cell cycle machinery

Ema, M., Harazono, A.: **Adverse effects of dibutyltin dichlo-**

ride on initiation and maintenance of rat pregnancy

Reprod. Toxicol., **14**, 451-456 (2000)

The present study was conducted to evaluate the adverse effects of dibutyltin dichloride (DBTCl) on initiation and maintenance of pregnancy after maternal exposure during early pregnancy in rats. Following successful mating, female rats were given DBTCl by gastric intubation on days 0 to 3 or on days 4 to 7 of pregnancy at 0, 3.8, 7.6, or 15.2 mg/kg. Food-restricted pregnant rats were given an amount of feed equal to the feed intake of female rats treated with DBTCl at 15.2 mg/kg on days 0 to 3 or on days 4 to 7 of pregnancy. Female rats were sacrificed on day 20 of pregnancy and pregnancy outcome was determined. After administration of DBTCl on days 0 to 3, the rate of nonpregnant females and the incidence of preimplantation embryonic loss in the 7.6 mg/kg group were significantly higher than those in the control group, and those in the 15.2 mg/kg group were significantly higher than those in the control and pair-fed groups. In females with implantations, the numbers of implantations and live fetuses and the incidence of postimplantation embryonic loss in the groups given DBTCl on days 0 to 3 were not significantly different from those in the control group. The incidence of postimplantation embryonic loss in the groups given DBTCl on days 4 to 7 at 7.6 and 15.2 mg/kg was significantly higher than that in the control and pair-fed groups. It can be concluded that DBTCl adversely affects initiation and maintenance of pregnancy when administered during early pregnancy and that the manifestations of the adverse effects of DBTCl vary with the gestational stage at the time of maternal exposure.

Keywords : Dibutyltin dichloride, pregnancy failure, early embryonic loss

Ema, M., Miyawaki, E.: **Adverse effects on development of reproductive system in male offspring of rats given monobutyl phthalate, a metabolite of dibutyl phthalate, during late pregnancy**

Reprod. Toxicol., **15**, 189-194 (2001)

The objective of this study was to determine the adverse effects of monobutyl phthalate (MBuP), a major metabolite of dibutyl phthalate (DBP), on development of reproductive system in offspring following maternal administration during late pregnancy, and to assess the role of MBuP in the antiandrogenic effects of DBP. Pregnant rats were given MBuP by gastric intubation at 250, 500, or 750 mg/kg on days 15 to 17 of pregnancy. Maternal body weight gain and food consumption during the administration period were significantly decreased at 500 mg/kg and higher and at 750 mg/kg, respectively. A significant increase in the incidence of postimplantation embryonic loss was found at 500 mg/kg and higher. The body weights of male and female fetuses were significantly lower at 750 mg/kg. A significant increase in the incidence of fetuses with undescended testes was found at 250 mg/kg and higher. A significant decrease in the anogenital distance (AGD) of male fetuses was observed at 250 mg/kg and higher. The AGD/body weight ratio and AGD/cube root of body weight ratio in male fetuses was also significantly reduced at 250 mg/kg and higher. The AGD, AGD/body weight ratio and AGD/cube root of body weight ratio in female fetuses in the MBuP-

treated groups were comparable to those in the control group. The data of the present study indicate that MBuP on days 15 to 17 of pregnancy produced adverse effects on the development of reproductive system in male offspring and suggest that MBuP may be responsible for the induction of the antiandrogenic effects of DBP. Keywords : Monobutyl phthalate, anogenital distance, undescended testes

Ema, M.: **Reproductive and developmental toxicity of triphenyltin chloride in rats**

Cong. Anom., **40**, 8-13 (2000)

Reproductive and developmental toxicity of triphenyltin chloride (TPTCl) was evaluated in rats. Although no significant increase in the incidence of fetuses with malformations was observed following administration of TPTCl during organogenesis, a significant increase in the incidence of postimplantation embryonic loss was found. TPTCl during early pregnancy, especially on days 0-3 of pregnancy, caused implantation failure, i. e., preimplantation embryonic loss. The effects of TPTCl on the uterine function, as a cause of implantation failure, were determined using pseudopregnant rats. TPTCl was given on days 0-3 of pseudopregnancy and the decidual cell response was induced on day 4 of pseudopregnancy. Rats were sacrificed on day 9 of pseudopregnancy and the uterine weight served as an index of the uterine decidualization. A significantly lower weight of the uterus, which indicates the suppression of uterine decidualization, was found at the doses which induced implantation failure. These doses of TPTCl also caused a significant decrease in the progesterone levels, which indicates reduced ovarian function. These findings suggest that TPTCl exerts adverse effects on uterine decidualization correlated with the reduction in serum progesterone levels and these effects are responsible, at least in part, for the implantation failure induced by TPTCl.

Keywords : Triphenyltin, diphenyltin, Embryonic loss, decidualization

Ema, M., Harazono, A.: **Developmental and reproductive toxicity of tributyltin and its metabolite, dibutyltin, in rats**

Cong. Anom., **40**, S108-S120 (2000)

Developmental and reproductive toxicity of tributyltin chloride (TBtCl) and dibutyltin dichloride (DBTCl) was evaluated in rats. Tributyltin chloride (TBtCl) was teratogenic when administered on day 8 and days 11-14 of pregnancy, and the most pronounced effect was seen after administration on day 13 of pregnancy. Cleft palate was predominantly observed. DBTCl was teratogenic when administered on days 7-8 of pregnancy, and day 8 of pregnancy was the most susceptible to the teratogenicity of DBTCl. Cleft jaw, ankyloglossia, omphalocele, anomaly of the tail, and deformity of the vertebral column and ribs were frequently observed. TBtCl and DBTCl on days 0-3 of pregnancy caused implantation failure, preimplantation embryonic loss. TBtCl and DBTCl on days 4-7 of pregnancy affected the viability of the implanted embryos. The effects of TBtCl on uterine function, as a cause of early embryonic loss, were determined using pseudopregnant rats. TBtCl was given on days 0-3 or days 4-7 of pseudopregnancy and the decidual cell response was induced on day 4. The uterine

weight on day 9 served an index of the uterine decidualization. A significantly lower weight of the uterus, which indicates suppression of uterine decidualization, was found at the doses that induced early embryonic loss. These doses of TBTCI also caused a significant decrease in the serum progesterone levels. The findings suggest that TBTCI exerts adverse effects on uterine decidualization correlated with a reduction in serum progesterone levels, and that these effects are responsible, at least in part, for the early embryonic loss induced by TBTCI.

Keywords: Tributyltin, dibutyltin, reproductive and developmental toxicity

Harazono, A., Ema, M.: **Effects of 4-tert-octylphenol on initiation and maintenance of pregnancy following oral administration during early pregnancy in rats**

Toxicol. Lett., **119**, 79-84 (2001)

4-tert-Octylphenol (OP) is an alkylphenol that is an intermediate in the production of alkylphenol ethoxylates. OP has been reported to be the most potent estrogenic alkylphenol in vitro. In the present study, the effects of OP on initiation and maintenance of pregnancy were investigated in rats. Inseminated female rats were orally given OP at 0, 15.6, 31.3, 62.5 and 125 mg/kg on day 0 through day 8 of pregnancy. Female rats were sacrificed on day 20 of pregnancy, and pregnancy outcome was determined. Decreases in body weight gain and food consumption on days 0-9 were found at 31.3 mg/kg and above, and at 15.6 mg/kg and above, respectively. The pregnancy rate was not adversely affected by OP administration during early pregnancy even at 125 mg/kg. The incidence of post-implantation loss per litter at 31.3 mg/kg and above was significantly higher than that in the control group. The body weights of live fetuses in the OP-treated groups were not significantly different from those in the control group. No increase in the incidence of fetuses with external malformations was found in any OP-treated group. We concluded that OP during early pregnancy caused post-implantation embryonic loss at doses that showed maternal toxicity.

Keywords: 4-tert-octylphenol, early pregnancy, rat

Harazono, A., Ema, M.: **Suppression of decidual cell response induced by tributyltin chloride in pseudopregnant rats: a cause of early embryonic loss**

Arch. Toxicol., **74**, 632-637 (2000)

In our previous studies, tributyltin chloride (TBTCI) at doses of 16.3 mg/kg and above caused implantation failure (preimplantation embryonic loss) and postimplantation embryonic loss in rats following administration on gestational day (GD) 0 through GD 3 and GD 4 through GD 7, respectively. This study was designed to assess the effects of TBTCI on uterine function, as a cause of early embryonic loss in pseudopregnant rats. TBTCI was given orally to pseudopregnant rats at doses of 4.1, 8.1, 16.3 and 32.5 mg/kg on pseudopregnant day (PPD) 0 to PPD 3 or 8.1, 16.3, 32.5 and 65.1 mg/kg on PPD 4 to PPD 7. The decidual cell response was induced by bilateral scratch trauma on PPD 4. The uterine weight on PPD 9 served as an index of uterine decidualization. Uterine weight and serum progesterone levels on PPD 9 were significantly decreased after administration of

TBTCI at doses of 16.3 mg/kg and above on PPD 0 to PPD 3 or PPD 4 to PPD 7. Administration of TBTCI at doses of 8.1 mg/kg and above on PPD 0 to 3 also significantly decreased serum progesterone levels on PPD 4. TBTCI had no effect on ovarian weight and number of corpora lutea. It can be concluded that TBTCI suppresses the uterine decidual cell response and decreases progesterone levels, and these effects are responsible for early embryonic loss due to TBTCI exposure.

Keywords: tributyltin chloride, decidual cell response, pseudopregnancy

草野源次郎*¹, 芝野真喜雄*¹, 鈴木直樹*¹, 渡辺 斉*², 尾崎和男*², 柴田敏郎, 畠山好雄, 飯島 泉*³: **甘草屋敷のウラルカンゾウ復活**

Natural Medicines, **54** (4), 199-203 (2000)

山梨県塩山市にある高野家(別称, 甘草屋敷)では, 江戸幕府の命により1720年頃からカンゾウの栽培が行われてきたが, 近年管理がゆきとどかず絶滅寸前であった。今回, 現地で株を回復させると同時に筑波試験場の圃場に株を移植して増殖させ, また, 茎頂栽培により増殖も進み, 完全復活に成功した。この株は, 形態や成分の比較によりウラルカンゾウであることを確認した。

Keywords: *Glycyrrhiza uralensis*, Kanzo Yashiki

*¹ 大阪薬科大学

*² 武田薬品工業

*³ 塩山市教育委員会

Touno, K., Harada, K.*¹, Yoshimatsu, K., Yazaki, K.*² and Shimomura, K.: **Histological observation of red pigment formed on shoot stem of *Lithospermum erythrorhizon***

Plant Biotechnology, **17** (2), 127-130 (2000)

Shikonin production on the stem of shoot cultures of *Lithospermum erythrorhizon* was controlled by use of various culture media and light irradiation. Microscopic analysis of the shoot cultures revealed that the red pigment formation was only observed on the stem surface and the stem hairs of shoots cultured in the dark. Cross section of the shoot stem which formed red pigment in the dark was morphologically similar to that of shoots cultured under illumination. Red pigment accumulation was strictly localized in the outer surface of epidermal cells. The localization of these pigments was similarly observed in root tissues generated from the cultured shoots as well as field-grown roots. Northern blot analysis indicated that LEDI-2 gene, which is one of the candidates for the regulatory element of shikonin biosynthesis and specifically expressed in the root system of the intact plants, was also expressed in the stem of shoot cultures when producing shikonin.

Keywords: *Lithospermum erythrorhizon*, shoot cultures, pigment localization

*¹ 千葉大学園芸学部

*² 京都大学大学院生命科学研究所

Nakanishi, F.*¹, Sasaki, K.*² and Shimomura, K.: **Kinetics of littorine content in various developing stages of regenerates of *Atropa belladonna***

Plant Cell Reports, **19** (10), 1021-1026 (2000)

Aseptically propagated regenerates were cultivated in hydroponic apparatus, phytotron or field, and their growth and littorine contents were investigated. No littorine was detected in aseptic regenerates cultured on solidified MS medium, nor in leaves through any condition tested. In roots, it was common features to all conditions used here that littorine increased dramatically after transplantation from culture tubes, and was a major alkaloid up to week 4. After then, the littorine contents varied in different cultivation conditions. The roots cultivated in the field showed marked thickening and rapid disappearance of littorine: those cultivated in hydroponic apparatus were fine and maintained littorine at high level for long. In a plant cultivated for 16 weeks in a pot, the littorine content in roots decreased with increasing their diameter.

Keywords : *Atropa belladonna*, regenerates, littorine

*¹ 東京学芸大学生物

*² 青森大学工学部

Touno, K., Harada, K.¹, Yoshimatsu, K., Yazaki, K.² and Shimomura, K. : **Shikonin derivative formation on the stem of cultured shoots in *Lithospermum erythrorhizon***
Plant Cell Reports, **19** (11), 1121-1126 (2000)

Shoot cultures of *Lithospermum erythrorhizon*, which are capable of producing red pigments, have been established. The red pigments were formed on the stem of *L. erythrorhizon* shoots cultured both on solid and in liquid media without phytohormone at 25°C in the dark. TLC and HPLC analyses revealed that the red pigments observed on the shoot cultured on those media were shikonin derivatives. The effects of various basal media and phytohormones (IAA, IBA and kinetin) on the growth and the formation of shikonin derivatives were investigated. When the shoots were cultured on Murashige and Skoog solid medium, the addition of kinetin remarkably enhanced shikonin derivative accumulation in the shoots. However, these effects of kinetin were not observed in the liquid culture when cultured in Gamborg B5 medium. The maximum content of shikonin derivatives (2.3 % as dry weight, ca. 1.5 mg / flask) was observed in the shoots cultured in phytohormone-free B5 liquid medium for 5 weeks.

Keywords : *Lithospermum erythrorhizon*, shikonin derivatives, shoot culture

*¹ 千葉大学園芸学部

*² 京都大学大学院生命科学研究科

Yazaki, K.¹, Matsumoto, H.¹, Shimomura, K., Bechthold, A.² and Sato, F.¹ : **A novel dark-inducible protein, LeDI-2, and its involvement in root-specific secondary metabolism in *Lithospermum erythrorhizon***
Plant Physiology, **125**, 1831-1841 (2001)

Lithospermum erythrorhizon produces red naphthoquinone pigments that are shikonin derivatives. They are accumulated exclusively in the roots of this plant. The biosynthesis of shikonin is strongly inhibited by light, even though other environmental conditions are optimized. Thus, *L. erythrorhizon* dark-inducible genes (LeDIs) were isolated to investigate the regulatory mechanism of shikonin biosynthesis. LeDI-2, showing the strict dark-specific expression, was further characterized by use of cell suspension cultures and hairy root cultures as model systems. Its mRNA

accumulation showed a similar pattern with that of shikonin. In the intact plants LeDI-2 expression was observed solely in the root, and the longitudinal distribution of its mRNA was also in accordance to that of shikonin. LeDI-2 encoded a very hydrophobic polypeptide of 114 amino acids that shared significant similarities with some root-specific polypeptides such as ZRP3 (maize) and RcC3 (rice). Reduction of LeDI-2 expression by its antisense DNA in hairy roots of *L. erythrorhizon* decreased the shikonin accumulation, whereas other biosynthetic enzymes, e.g. p-hydroxybenzoic acid:geranyltransferase, which catalyzed a critical biosynthetic step, showed similar activity as the wild-type clone. This is the first report of the gene that is involved in production of secondary metabolites without affecting biosynthetic enzyme activities.

Keywords : *Lithospermum erythrorhizon*, shikonin derivatives, LeDI-2

*¹ 京都大学大学院生命科学研究科

*² Pharmazeutisches Institut, Universitat Tubingen

高上馬希重, 李 宜融, 飯田 修, 関田節子, 佐竹元吉, 牧野由紀子* : **大麻 *Cannabis sativa* L. の DNA 解析**
DNA 多型, **8**, 87-90 (2000)

大麻 *Cannabis sativa* L. の DNA 解析を行い, 葉緑体 DNA 上の tRNA 遺伝子をコードする *trnL*(UAA) と *trnF*(GAA) 間の intergenic spacer 領域に *C. sativa* の種内変異が存在することを明らかにし, さらに SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) 分析により, 塩基配列の解読を行わなくても, 簡便に大麻とホップを識別できることを明らかにした.

Keywords : *Cannabis sativa* L., chloroplast DNA, PCR-SSCP

* 関東信越地区麻薬取締官事務所

Kohjyouma, M., Lee, I., Iida, O., Kurihara, K., Yamada, K., Makino, Y.*, Sekita, S., and Satake, M. : **Intraspecific variation in *Cannabis sativa* L. Based on Intergenic Spacer Region of Chloroplast DNA**
Biol. Pharm. Bull., **23**, 727-730 (2000)

We analyzed the nucleotide sequences of the non-coding region of chloroplast DNA: the intergenic spacer between *trnL* (UAA) 3'exon and *trnF* (GAA). Two kinds of sequence, "type-1" and "type-2", were detected in 33 populations of *Cannabis sativa*. The length of the "type-1" fragment was 354bp. In contrast, the "type-2" fragment from 3 population was 353 bp long, with only one base deletion compared to "type-1". The fragment length from *Humulus lupulus* was 353bp with a 1-bp deletion, and ten 1-bp substitutions compared to the sequences from *C. sativa* "type-1". Furthermore, we could clearly identify differences between *C. sativa* and *H. lupulus* using single-strand conformation polymorphism of PCR products (PCR-SSCP) analysis.

Keywords : *Cannabis sativa* L., chloroplast DNA; intergenic spacer; intraspecific variation; PCR-SSCP

* Kanto-Shin'etsu Regional Narcotic Control Office

Aoyagi, N: Japanese guidance on bioavailability and bioequivalence

Eur J. Drug Metab. Pharmacokinet., **25**, 28-31 (2000).

Bioequivalence tests differ between USA, EU and Japan. This article describes bioequivalence tests in Japan, especially specific tests and requirements; namely, in vitro dissolution tests are employed for selecting appropriate subjects for human studies such as achlorhydric ones or subjects from the target population to whom the drug is applied. Dissolution tests are also used to support in vivo equivalence for highly variable drugs. These requirements are determined based on the consideration that in vitro dissolution tests are very susceptible for differences in formulation characteristics between test and reference products providing bioequivalence. Such dissolution tests should effectively be used for rational assessment of bioequivalence.

Keywords: bioavailability, bioequivalence, dissolution

吉岡澄江, 麻生伸一郎*¹: 品質に関わるトピックの動向-Q1A (R) を中心に -

医薬品研究, **32**, 158-183 (2001)

新有効成分含有医薬品のICH安定性試験ガイドラインについて、改訂作業の進捗状況を解説した。

Keywords: Stability, Guideline, Pharmaceutical

*¹ ノバルティスファーマ

小嶋茂雄: 医薬品の品質保証に関する国際調和 - ICHガイドラインを中心として -

PDA Journal of GMP and Validation in Japan, **1**, 18(1999)

ICHの品質分野のガイドラインの内容とこれらのガイドラインが我が国における医薬品の規制に与える影響について解説した。品質の分野では、安定性試験、分析法バリデーション、不純物試験に関する諸課題に関しては、既に3極間で調和が達成され、各行政当局により国内ガイドラインとして取り込まれて、実施の段階に達していること、また、現在、規格及び試験方法、原薬GMPおよびコモンテクニカルドキュメントなどの課題について検討中であることを紹介した。

小嶋茂雄: 医薬品の規格・安定性試験ガイドライン(Q6A/Q1A) について

医薬品研究, **30**, 381-421(1999)

1999年3月のブリュッセルでのICH専門家会議(品質分野)における医薬品の規格及び試験方法のガイドライン(Q6A)の策定ならびに安定性試験ガイドライン(Q1A)の改定の作業の進捗状況について報告した。Q6Aに関しては、薬局方試験法の調和が議論のポイントとなり、調和案の作成状況やその内容に関する議論が行われ、次回会議までのタイムスケジュールが決められた。Q1Aに関しては、試験の間隔、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ならびにガイドラインの記載中にある不整合な点の解消の5項目について検討が行われ、ほぼ合意に達した。

小嶋茂雄, 奥田秀毅: 医薬品の規格・不純物・安定性試験ガイドライン(Q6A/Q3/Q1A) について

医薬品研究, **31**, 345-390 (2000)

1999年10月のワシントンでのICH専門家会議(品質分野)における医薬品の規格及び試験方法のガイドライン(Q6A)の策定、不純物ガイドライン(Q3A&B)の改定ならびに安定性試験ガイドライン(Q1A)の改定の作業の進捗状況について報告した。Q6Aに関しては、前回に引き続き、薬局方試験法の調和が議論のポイントとなったが、ICHの場で試験法の調和作業を継続することを前提に、最終合意に達した。Q3A&Bに関しては、議論の焦点であった数値の丸め方に関して3極間で合意が得られ、ステップ2文書が作成された。Q1Aに関しても、前回会議での合意に基づいて、ステップ2文書が作成された。

小嶋茂雄: 医薬品の残留溶媒ガイドラインについて

ファームテクジャパン, **16**, 687-704 (2000)

1997年7月のブリュッセルでのICH専門家会議において最終合意に達し、2000年4月1日に我が国においても施行を迎えた残留溶媒ガイドライン(Q3C)について、実施する上で参考となるように、ガイドラインの改定に関する経緯、その内容と留意点、第13改正日本薬局方第2追補収載の残留溶媒試験法の内容ならびに新薬の承認審査における残留溶媒の規格に関する指摘事項などについて解説した。

小嶋茂雄: ICH-Q6Aに含まれる医薬品の品質保証の新しい考え方 - スキップ試験、工程内試験ならびにパラメトリックリリースについて -

ファームテクジャパン, **17**, 315-324 (2001)

1999年10月のワシントンでのICH専門家会議において最終合意に達した化学合成医薬品の規格及び試験方法のガイドライン(Q6A)に含まれるスキップ試験、工程内試験ならびにパラメトリックリリースなどの医薬品の品質保証に関する新しい考え方について解説するとともに、これらの新しい考え方を我が国において適用可能とするための方策を検討するために行われているfeasibility study(厚生科学研究)の内容について紹介した。

小嶋茂雄: スキップテスト等の最近の動きについて

医薬品研究, **32**, 58-72 (2001)

化学合成医薬品の規格及び試験方法のガイドライン(Q6A)にあるスキップテストやパラメトリックリリースなどの考え方は、「医薬品の製造工程を厳しくコントロールすることが品質保証の上で重要であり、これを活用することによって、最終製品での試験を軽減しうる。」とする最近の品質保証に関する新しい考え方に基づくものであるが、その導入によって、従来規格にある項目については全て出荷時に試験する必要があるとしてきた我が国における医薬品の品質保証に関する考え方は修正を迫られることになる。これらの新しい考え方を我が国において適用可能とするための方策を検討するためのfeasibility studyを平成10~12年度の3年計画で行っているため、その報告書の内容について紹介した。

早川堯夫, 谷本剛, 山口照英, 川西徹, 酒井喜代志*: 第十四改正日本薬局方の改正点, 医薬品各条の改正点—生

物薬品一

薬局, 52, 1609-1615 (2001)

生物薬品の局方収載において, 各条審議のポイントと基本方針となった①各条全体としての合理性に基づく規格及び試験方法の設定, ②性状の溶解性試験の見直し, ③試験動物の使用削減の観点からみた合理的試験法の設定, ④血液凝固物質や血液型物質に関する試験の設定意義及び必要性の見直し, ⑤比活性の独立示性値としての設定, ⑥範囲のある含量規格の設定, ⑦組織・体液由来(特にヒト由来)の製剤に関するウイルス安全性の検討の必要性, ⑧純度試験:電気泳動で試験を実施する際の検出感度の保証について解説した。さらに, 収載品であるウリナスタチン, エルカトニン, β -ガラクトシダーゼ(ペニシリウム), カリジノゲナーゼ, セクレチン, 遺伝子組換えヒトインスリン, ヘパリンナトリウム注射液, 及びアスペルギルス産生ガラクトシダーゼについて概説するとともに審議経過の要点を解説した。

Keywords : pharmacopoeia, biologicals

*(社)東京医薬品工業協会

早川堯夫, 水口裕之: 遺伝子治療用医薬品の実用化と一層の進展に向けて - 新世代アデノウイルスベクターの開発 -

医薬ジャーナル, 37, 541-546 (2001)

遺伝子治療の一層の進展に向けての最大のキーポイントは適切な遺伝子導入技術(ベクター)の開発である。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遺伝子治療導入効率が優れているとされるが, ①作製法の煩雑さ, ②搭載できる遺伝子の数や大きさに関する制限, ③標的細胞指向性の制限, ④抗原性, ⑤核内での安定性の欠如などが解決すべき重要課題として残されている。本総説では, これらの問題を克服した新世代アデノウイルスベクターの開発を中心に, ベクター開発の現状と将来性に関して解説した。

Keywords : Adenovirus vector, gene therapy

豊田淑江, 山口照英, 押澤正, 内田恵理子, 早川堯夫: 好中球の機能分化と増殖の制御炎症, 21, 101-109 (2001)

HL-60細胞を用いた好中球の機能分化と増殖の制御機構に関する研究について概説した。特に, G-CSFによる分化・増殖の促進作用に関するシグナル伝達系の解析より p70 S6キナーゼの果たす役割について考察した。

Keywords : neutrophils, differentiation, p70 S6 kinase

水口裕之, 早川堯夫: アデノウイルスベクター作製技術と次世代ベクターへの応用 - ファイバーミュータントアデノウイルスベクターを中心として -

日本臨床, 58, 1544-1553 (2000)

本総説では, *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, およびウイルス表面のファイバー蛋白質に外来ペプチドを発現させることによりベクターの標的細胞選択性を制御し, より広範な目的に使用できる可能性を付与したファイバーミュータントアデノウイルスベクターの作製法, およびその応用について解説した。

Keywords : Adenovirus vector, gene therapy

佐竹元吉: 生薬

薬局, 47, 84-87 (2001)

第十四改正日本薬局方・医薬品各条における生薬の基原, 確認試験, 純度試験, 定量法の各改正点について解説した。

Keywords : crude drugs, origin,

関田節子: 生薬の微生物限度試験法

薬局, 47, 51-55 (2001)

第十四改正日本薬局方・一般試験法に新規収載された生薬の微生物限度試験法について要点と試験の手順等について解説した。

Keywords : Japanese Pharmacopoeia X IV, general tests, microbial limit test

齋島由二: 感染性廃棄物中間処理新技術の将来性

技術予測シリーズ“21世紀に期待される技術~その将来展望”, 365-377 (2001)

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, 本稿では新処理技術の種類および将来性, 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, medical waste

齋島由二: 医療廃棄物の感染性の不活化に関する基準

月刊薬事, 43(4), 857-864 (2001)

近年, 感染性廃棄物中間処理の中心的役割を果たしてきた焼却施設に対する規制強化に伴い, 代替法である新処理技術が注目されている。新技術による感染性廃棄物の適正処理を確保するためには適切な基準が必要であり, 旧厚生省は平成10年に「感染性廃棄物中間処理新技術に関するガイドライン」を公布した。本稿では同ガイドラインについて詳述するとともに, 平成13年における同ガイドラインの一部修正に関して解説した。

Keywords : incinerator, alternative technology, medical waste

齋島由二, 松島 肇*: プリオン汚染廃棄物処理の現状と適正処理

医療廃棄物研究, 12(2), 147-163 (2001)

新課題医療廃棄物の一つであるTSE廃棄物の適正処理に資することを目的として, 世界保健機構, 英国の危険病原体に関する諮問委員会および海綿状脳症諮問委員会により作成されたガイダンス, 並びに関連文献・資料の調査を行い, TSE疾患の伝播, TSE病原体の体内分布, 医療施設におけるTSE患者およびTSE廃棄物の取扱いなど, 医療廃棄物処理に関連する現在の知見を取りまとめた。

Keywords : TSE agent, guidance, inactivation

*浜松医科大学

矢上 健: ラテックスアレルギーやOASに関わる交叉反応性抗原

日本ラテックスアレルギー研究会会誌, 4, 102-107 (2000)

ラテックスアレルギーや, 花粉症に伴う口腔アレルギー症候群 (Oral Allergy Syndrome: OAS) に関わる交叉反応性

抗原の特徴について、植物の生体防御蛋白質群を例に取上げながら解説した。

Keywords : latex allergy, oral allergy syndrome, cross-reactivity

矢上 健：ラテックス-果物症候群と花粉症に伴う口腔アレルギー症候群との類似点

アレルギーの臨床, 20, 854-860 (2000)

ラテックスアレルギーに伴う果物・野菜アレルギー(ラテックス-果物症候群)と、花粉症に伴う果物・野菜アレルギーの主症状である口腔アレルギー症候群(Oral Allergy Syndrome: OAS)との類似性を、原因となる交叉反応性抗原という視点から解説した。また、食物アレルギーを引き起こす蛋白質抗原を、消化性、分子量、交叉反応性、経口感作能、経口誘発能、症状の程度という基準から分類した。

Keywords : latex allergy, oral allergy syndrome, cross-reactivity

鹿庭正昭：化学物質による皮膚障害(18) 各論11. 接触アレルギー性皮膚炎の実際(1)～ゴム製品によるアレルギー性接触皮膚炎～

医薬ジャーナル, 37(3), (2001)

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 : allergic contact dermatitis, rubber product, rubber additive

鹿庭正昭：化学物質による皮膚障害(19) 各論12. 接触アレルギー性皮膚炎の実際(2)～プラスチック製品(めがね部品)によるアレルギー性接触皮膚炎～

医薬ジャーナル, 37(4), (2001)

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、プラスチック製品(めがね部品)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 : allergic contact dermatitis, plastic eyeglass, coloring agent

鹿庭正昭：抗菌剤・抗菌製品の安全性評価

防菌防黴, 29(4), 237-243 (2001)

抗菌製品における抗菌剤の使用実態、これまでに報告されている抗菌剤、抗菌製品による健康被害事例における原因究明の取り組みの結果などの情報をもとに、抗菌剤・抗菌製品の安全性評価を行ううえで、化学物質等安全データシート(MSDS)、製品の表示などによる情報提供が重要であることを概説した。

Keywords : antimicrobial agent, antimicrobial product, safety assessment

新谷英晴：放射線滅菌された医療用高分子からの分解生成物

防菌防黴, 28, 727-730 (2000)

医療用高分子として良く使用されるポリスチレンならびにポリ塩化ビニルに放射線滅菌し、滅菌後の分解生成物定性、定量ならびに安全性について解説した。

Keywords : radiation sterilization, medical polymer, degradation products

新谷英晴, 小久保 護*, 出口統也* : 医療用具滅菌バリデーションプロトコル記載例-エチレンオキシド滅菌例-

防菌防黴, 28, 585-592 (2000)

エチレンオキシド滅菌でのバリデーションプロトコルの記述の具体例について解説した。

Keywords : sterilization protocol, medical devices, ethylene oxide gas sterilization

*渋谷工業(株)

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-第4報-

防菌防黴, 28, 311-320 (2000)

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-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(株)

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-第5報-

防菌防黴, 28, 459-472 (2000)

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-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(株)

新谷英晴：滅菌バリデーションならびに再現性ある滅菌保証達成のために1-汚染菌/環境浮遊菌生育培地の選択ならびに培地性能の改良-1. 結論

防菌防黴, 29, 115-116 (2000)

使用者が滅菌バリデーションを行う際にバイオバーデン菌生育性能が確保できる培地選択の方法についての講座を組んだ。

Keywords : sterilization validation, sterility assurance, bioburden

新谷英晴, 佐々木公一* : 培地性能のばらつきならびに生物指標のばらつきの原因とその解決法について

防菌防黴, 29, 161-166 (2001)

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

*エーザイ(株)美里工場

新谷英晴：医療用品の滅菌保証—高圧蒸気滅菌を中心として—

PDA J., 2, 53-67 (2000)

高圧蒸気滅菌による医療用品の滅菌保証について総説した。

Keywords : health care products, moist heat sterilization, sterility assurance

松村年郎：わが国における居住環境室内空气中化学物質汚染の実態

アレルギーの臨床, 21, 29-34 (2001)

我が国における室内汚染の経緯, 室内汚染の定義, 揮発性有機化合物(VOCs)の定義, VOCsの発生源等について基礎的事項を紹介した。更に, VOCs, SVOC及びTVOC汚染の現状を著者らの研究結果を基に解説した。また, 室内における2次生成物質の可能性のある蟻酸による室内汚染の実態も紹介した。

豊田正武：食品のダイオキシンレベル

食品衛生研究, 50, 11-15 (2000)

厚生省が実施している平成8~10年度の個別食品中のダイオキシンレベルの実態調査結果をまとめて報告した。また食品群別のダイオキシンの食事経路1日摂取量及び我が国における22年間のダイオキシンの1日摂取量の経年変化について解説した。

Keywords : dioxin, total diet, Co-PCBs

豊田正武：平成11年度食品からのダイオキシン1日摂取量調査等の調査結果について

食品衛生研究, 51, 15-24 (2001)

厚生労働省が平成11年度に実施した調査結果の概要を紹介した。即ちトータルダイエツトスタディーによる平均的な1日摂取量を2.25pgTEQ/日と推定した。また季節によるダイオキシン摂取量の変動の有無, 94種288食品のダイオキシン濃度, 野菜, 肉, 魚の調理による影響について記した。

Keywords : dioxin, total diet, cooking

豊田正武：組換えDNA技術応用食品および食品添加物の安全性評価の考え方について

食品衛生研究, 54, 87-98 (2001)

厚生労働省の平成13年度からの組換えDNA技術応用食品及び食品添加物について安全性審査を義務化することとなった。そこで従来の安全性評価, 義務化に伴う具体的手段, 安全性審査基準で明確化したポイントを解説した。

Keywords : genetically modified foods, safety assessment

残留動物用医薬品試験法検討委員会(豊田正武, 村山三徳)：畜産食品に残留する動物用医薬品の試験法(その7) —オキシテトラサイクリン, クロルテトラサイクリンおよびテトラサイクリン, ジクラズリルおよびナイカルバジンの試験法—

食品衛生研究, 50, 75-83 (2000)

平成12年度食品衛生法の改正に伴い, 新たに規格基準の設定された食品中の抗生物質, オキシテトラサイクリン, ク

ロルテトラサイクリンおよびテトラサイクリン, 抗コクシジウム剤のジクラズリルおよびナイカルバジ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 : tetracycline, diclazuril, nicarbazin

宮原 誠：Harvery W. WileyとAOAC — AOACに学ぶ試験法の信頼性確保の理念と具体的方法7

防菌棒, 28, 517-530 (2000)

AOACを創始したワイリーは粗悪な食品の危険性を実証した人物として, アメリカのAOACを創始したワイリーは粗悪な食品の危険性を実証した人物として, アメリカの食品衛生法の父として知られている。AOAC試験法を統一的な方法として確立し, FDAなどの試験機関の公定法として認知させた。現在では国際的な基準となる試験法となっており, その理念は重要視されている。

Keywords : Wiley, AOAC

米谷民雄：植物メタロチオネイン：フィトケラチンを中心として

Biomed. Res. Trace Elements, 11, 177-181 (2000)

植物は2種のメタロチオネイン(MT), すなわちフィトケラチン(PC)とfamily 15のMTを誘導する。両MTは, それぞれ有害金属と必須金属の観点から研究がなされてきた。本総説ではPCを中心に, PC及び金属-PCの構造, PCの誘導代謝機構, PCの役割, 最近のトピックスや研究動向, などを解説した。

Keywords : phytochelatin, metallothionein, plant

米谷民雄：食品添加物に関する最近の動向について

食品衛生研究, 51-2, 105-113 (2001)

最近の食品添加物行政の動向につき, 食品添加物公定書, 食品中の食品添加物分析法, 食品添加物摂取量調査, 保健機能食品用食品添加物, 合成添加物の整理, 既存添加物名簿収載品目リスト等の追加・変更, 食品香料に関する現状, の各項目毎に解説した。

Keywords : food additives, standards and specifications, JSFAVII

石綿 肇：食品添加物の使用と摂取量

月間HACCP, 6-7, 60-68 (2000)

食品添加物の種類, 用途, 使用量, 摂取量等について解説した。用途別分類と使用目的は日本の食品衛生法及びJECFAに, 使用実態は全国の行政検査結果にに基づいて解説した。また, 分析法は厚生省による食品中の食品添加物分析法について, 摂取量は国内外の調査結果について比較解説した。

Keywords : food additives, use, daily intake

石綿 肇：1996年度の行政検査結果を基に推定した食品添加物の食品中の濃度と摂取量

食品衛生研究, 50-7, 7-34 (2000)

1996年度の1年間に全国の100自治体で行われた16種の食品添加物の行政検査結果(162, 497検体)を基に食品添加物の食品中の濃度と摂取量を推定した。亜硝酸塩の摂取量がADIの35.7%であった他は, 保存料, 防かび剤, 甘味料等の15種の食品添加物の摂取量はADIの4.4%以下であった。こ

これらの結果を、他の文献値と比較考察した。

Keywords : food additives, official inspection, daily intake

石綿 肇:新指定食品添加物, アセスルファミウムについて

食品衛生学雑誌, 41, J277-278 (2000)

新指定食品添加物であるアセスルファミウムについてその性状や規格について解説した。食品衛生法別表 2 や JECFA, EU, FCC 等の規格, 外国における許可状況等についても言及した。

Keywords : food additive, acesulfame potassium, specification

石綿 肇:食品添加物の一日摂取量調査について

食品衛生研究, 51-3, 83-101 (2001)

厚生省による食品添加物一日摂取量総点検調査, 厚生科学研究によるマーケットバスケット方式, 生産・使用量方式, 行政検査方式による摂取量調査について, 方法論, 結果, 調査法の長所・短所, 過剰及び過少見積り要因等について解説し, 外国における調査結果と比較討論した。

Keywords : food additives, daily intake, methodology

河村葉子:食器・玩具からの溶出物

小児科, 41 別冊, 123-129 (2000)

乳幼児用食器, ほ乳器具, 玩具は, 各種素材で作られている。これらは食物を入れて使用したり, または直接口に入れるため, もし材質から溶出するものがあれば, こどもの口から体内へと容易に取り込まれることになる。幼児用食器は主に陶磁器, ガラス, メラミン樹脂, ポリカーボネート, ほ乳用乳首は天然ゴム, シリコンゴム, イソプレングム, ほ乳びんはガラス及びポリカーボネートである。玩具は多様な素材が用いられているが, ポリ塩化ビニルとスチレン関連樹脂をとりあげた。これらの素材から溶出する可能性のある物質について, 食品衛生規格や溶出事例などを紹介し, 安心して使用するための注意などを述べた。

Keywords : migrant, tableware, toy

河村葉子:食品用器具・容器包装中の内分泌攪乱化学物質生活と環境, 46-5, 20-24 (2001)

食品用器具・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, 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5~80ppm残存しているが, 大部分の製品では溶出は認められなかった。一方, エポキシ樹脂コーティング缶の内容物からは数百ppb検出されている。可塑剤であるフタル酸エステル類は, 塩ビラップフィルムからは検出されていないが, 塩ビ手袋, キャップシーリング, 玩具等に数十%添加されているものがあり, これらは容易に溶出する。スチレンはポリスチレンの原料, 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あるが, いずれも製品中に残存する。また, ノニルフェノールは塩ビラップフィルムや手袋, ポリスチレン製品などから検出されるが, 酸化防止剤トリス(ノニルフェニル) フォスファイトの分解物と推定される。

Keywords : endocrine disrupting chemicals, food contact plastics, bisphenol A

Miyata, N., Yamakoshi, Y. and Nakanishi, I.: Reactive species responsible for biological actions of photoexcited fullerenes 薬学雑誌, 120, 1007-1016 (2000)

Fullerene (C_{60} , C_{70} , etc.) is an effective photosensitizer and its utilization as a pharmacophore for photo-chemotherapy of tumors has received considerable attention. We developed a method to solubilize fullerenes into water with poly(vinylpyrrolidone) (PVP) as a detergent. By using thus prepared aqueous fullerene solutions, we have clarified a series of biological activities of fullerene under photoirradiation which include DNA-cleavage, hemolysis, mutagenicity, cancer-initiation, and cell-toxicity. A newly synthesized C_{60} derivative with an acridine moiety as a DNA-chelating function showed much more effective DNA-cleaving activity in the presence of NADH. Visible-light irradiation of PVP-solubilized C_{60} in water in the presence of NADH as a reductant and molecular oxygen resulted in the formation of $O_2^{\cdot-}$, which was detected EPR spin-trapping method. Formation of $O_2^{\cdot-}$ was also evidenced by the direct observation of a characteristic signal of $O_2^{\cdot-}$ with use of a low-temperature EPR technique at 77 K. On the other hand, no formation of 1O_2 was observed with use of TEMP as a 1O_2 trapping agent. No near-IR luminescence of 1O_2 was also observed in the aqueous C_{60} /PVP/ O_2 system. These results suggest that photoinduced bioactivities of the PVP-solubilized fullerene are caused not by 1O_2 , but by reduced oxygen species ($O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$) which are generated by the electron-transfer reaction of $C_{60}^{\cdot-}$ with molecular oxygen.

Keywords : biological activity, active oxygen species photosensitization, DNA-cleavage, hydroxyl radical,

手島玲子:組換え食品の安全性とその評価

農林水産技術研究ジャーナル, 24, 34-39, 2001

わが国における遺伝子組換え食品の安全性評価の現状を特にアレルギー誘発性に関して解説し, また, 私共が, ここ3年の間に遺伝子組換え食品の後世代交配種のフォローアップ的研究として行ったアレルギー試験並びに免疫毒性試験(具体的には, ①新規産生蛋白質のin vitroでの分解性の検討, ②アレルギー患者血清を用いる新規産生蛋白質のアレルギー性の検討, ③亜急性毒性試験の期間投与した動物における免疫毒性並びに抗体産生の検討)についても解説を行った。

Keywords : genetically-modified(GM)foods, allergenicity, digestibility

小澤正吾, 澤田純一:オーダーメイド投薬

日本臨床, 59, 195-201, 2000

薬理遺伝学及びそのオーダーメイド投薬(患者個別化薬物治療)への応用の可能性を, 現況の紹介を含めて, 概説した。

Keywords : pharmacogenetics, single nucleotide polymorphism, tailor-made drug therapy

最上(西巻)知子:フィブラートのVLDL分泌低下作用とPPAR

Ther. Res., 21, 19-23 (2000)

フィブラートの血清トリグリセリド低下作用に関しては、PPAR α を介する機構を中心に解明が進められてきた。私達は、トリグリセリド低下作用が特に強力なベザフィブラートはPPAR α とは別のターゲットを持ち、ホスファチジルエタノールアミンのメチル化を直接阻害しVLDL分泌を低下させる作用を示すことを明らかにした。このPPAR非依存のメカニズムについて、VLDLアセンブリー過程でのホスファチジルコリン合成の役割とともに解説した。

Keywords : bezafibrate, PPAR, VLDL

小沼博隆：野菜における微生物汚染状況とその対策
日食雑誌, 17, 37-41 (2000)

農産物（野菜や果物）の微生物汚染状況と病原菌によるヒトの健康被害ならびに対策の状況を諸外国を含めて解説した。

Keywords : Vegetable, Microbiological contamination, preventive measurement

高鳥浩介, 相原真紀*：カビとアレルギー
アレルギー・免疫, 7 (4) 32-37 (2000)

アレルギーとしてのカビは、ヒトの住環境である大気中、ハウスダストなどに生息分布し、適環境が得られると大量の発生から汚染へと進む。特に住環境に多いカビとしてクロカビ、アオカビ、アカカビ、コウジカビ、カワキコウジカビ、アズキイロカビを挙げることができる。こうしたカビを紹介し、その分布と発生による環境での汚染形態観察および真菌細胞の活性不活性を述べた。さらにカビによるアレルギー特性を知る発芽速度、プロテアーゼ活性から住環境に多いカビにはアレルギーとしての活性を示唆する情報が得られている。

Keywords : dwelling environments, fungal allergens, viable and non-viable cells

*お茶の水女子大学

高鳥浩介：現代カビ事情

栄養と料理, 66 (6) 155-161 (2000)

近年の食品は、多くを輸入に頼る傾向にある。そのため食品原料に由来による真菌も様変わりしてきた。特に食品衛生上重要なマイコトキシン産生真菌は多く外国から持ち込まれることからその情報をいち早くとらえておく必要がある。そうした予防的観点から有害真菌の生息状況をまとめてみた。

Keywords : imported foods, fungi, mycotoxins

高鳥浩介：かび抵抗性試験方法 JIS Z 2911:2000 改正
防菌防黴, 29 (1), 31-37 (2001)

日本工業規格 (JIS) のかび抵抗性試験方法が改訂されてから10年が経過したこと、さらに国際間の相互理解、協力の助長を目指して国際規格に整合させることを目的として改訂作業を行った。附属書を含め大幅に改定されたことから、その解説をした。

Keywords : JIS Z 2911, mold resistant test, revision

井上 達：日本膜学会第22年会特別講演特集「ホルモン様化学物質とその内分泌攪乱性生体作用の背景」
膜 (Membrane), 25, 142-149 (2000)

内分泌攪乱物質の除去を工学的に人工膜を通じて考える立場からこれまでに明らかになっている内分泌攪乱化学物質の性質について解説した。特にホルモン様の性質をもつ化学物質と実際に攪乱性を引き起こすメカニズムとの関連について焦点を当てた。

Keywords : chemicals holding hormone-like action, endocrine disruptors, aryl-hydrocarbon receptor, receptor mediacy

高橋雄, 相賀裕美子：マウス体節形成と Notch シグナル
細胞工学, 19, 1434-1437 (2000)

マウスの体節形成において重要な役割を果たしている2つの遺伝子、Mesp2とPresenilin1のノックアウトマウス及びMesp2/活性化型Notch1ノックインマウスの解析により、D111の発現量と発現パターンが体節の前後極性と非常によく相関していることを見出した。またMesp2によるD111の発現抑制とPresenilin1を介したD111の発現誘導が協調して体節の前後極性を形成することを明らかにした。

Keywords : somitogenesis, Notch signaling, molecular genetics

小野敦, 井上 達：ホルモン様化学物質と“内分泌攪乱”
病理と臨床, 18, 707-714 (2000)

ホルモン様化学物質が内分泌系を攪乱することによる生体影響やそのメカニズムとして、核内受容体シグナル伝達系や非内分泌系を含む高次系への作用について解説した。

Keyword : endocrine disrupting chemicals, receptor mediated toxicity, nuclear receptor

菅野 純：In vivo 系を用いた曝露試験による評価
日本臨床, 58, 2495-501 (2000)

内分泌攪乱化学物質問題の発端となった「奪われし未来」(Theo Colbornら著、1996、副題にa scientific detective story「科学的推理読み物」とある)が広く一般の関心を集めたのは、副題に表れているように科学的裏付けが希薄だったにもかかわらず、野生生物で起きたから人間でも起きるのではないかという危惧を惹起したことにある。エストロゲンやアンドロゲンが種を越えて保存された分子であり、その受容体分子機能も似ているという点がある。ここでは、内分泌攪乱現象を受容体原性毒性という視点から考えてみたい。ホルモン受容体を介して生体に引き起こされる変化が可逆的となるか不可逆的となるか、胎児・新生児・小児の内分泌機能の特異性、用量反応曲線が単調関数か、相乗効果があるか否か、など未解決の問題が山積みしているが、エストロゲン様作用物質を中心にそのメカニズムを考慮した検出法について述べる。

Keywords : Endocrine disrupting chemicals, Receptor-mediated toxicity, low-dose effects,

大野泰雄：動物実験代替法をめぐる欧米の動向と我が国の行った眼刺激試験代替法バリデーション
Human Science 12, 14-18 (2001)

動物実験代替法の行政試験への受け入れについての欧米およびOECDの情勢を調査し、EUでは化粧品安全性評価の

ための動物実験の廃止を2002年6月30日まで延期したこと, *in vitro*皮膚腐食性試験を2種採用した事, また, 米国ではやはり *in vitro*皮膚腐食性試験として Corrositex を一部の行政目的のために採用した事を報告した. また, 代替法を行政目的に採用するためのOECDの基準を紹介した. 厚生科学研究のもとで行った眼刺激性試験代替法のバリデーションの結果とそれに基づいて *in vitro*試験を組み込んだ眼刺激性評価のためのガイドライン案を作成した事を報告した.

Keywords : alternative tests, validation, regulatory acceptance

井上和秀 : ATPによる神経伝達物質放出の抑制
自律神経, 37, 329-331 (2000)

神経伝達物質放出メカニズムにおけるATPの役割について論じた. ATPはシナプス前神経末端のGタンパク共役型P2Y受容体を介して神経伝達物質放出を抑制し, 一方, イオンチャンネル型ATP受容体P2Xを介して神経伝達物質放出を促進するというのが, 一般則である. その作用メカニズムは様々な組織・部位で異なる.

Keywords : ATP, neurotransmitter release

井上和秀 : 疼痛制御におけるATP受容体の役割
医学の歩み, 195, 613-616 (2000)

ミトコンドリアで生産されるATP (アデノシン3リン酸) はリン酸化酵素の基質として使われ, 生体の重要な生理機能を維持しているが, 一方で細胞間情報伝達物質としても機能する. その受容体はイオンチャンネル型ATP受容体P2XとGタンパク共役型ATP受容体P2Yとに大別され, それぞれサブタイプが7種類以上報告されている. その中でP2X3は痛みに関与する神経に特異的に発現していることがわかって, ATP受容体と痛みに関する研究が一気に進みはじめた. 本稿では, 痛みに対するP2Xの関与について記述した.

Keywords : ATP, pain, P2X

井上和秀 : ATP受容体
緩和医療学, 3, 94-95 (2001)

現在臨床で用いられている鎮痛薬は, モルヒネに代表される麻薬性鎮痛薬とインドメタシンに代表される非ステロイド消炎剤であるが, それらに抵抗性を示すアロディニアやニューロパチックペインの存在, 重篤な各種副作用などの問題が指摘されていて, より優れた鎮痛薬が望まれている. ATP受容体ブロッカーはよい鎮痛薬となりうるだろうか. 選択的なブロッカーの作用点は, P2X3が限局して発現していることから, 極めて限られた部位となるので, 副作用は出にくくなるだろう. また, 既報のようにATP受容体ブロッカーはある種のアロディニアに奏効する可能性がある. ニューロパチックペインに対しては, 交感神経以上入力による発痛等にはATP受容体が関与している可能性が指摘されており, この点でブロッカーが奏効する可能性がある. 従って, ATP受容体ブロッカーは上記の問題点を克服できるかもしれない. いずれにしても, 特異的なブロッカー探しが急務と考えられる. 以上のことを述べた.

Keywords : ATP, neuropathic pain

井上和秀 : 総論「アデノシン・ATP受容体」
Life Support and Anesthesia (LiSA) 7, 1160-1165 (2000)

太古の地球, 嫌気的な環境が徐々に好気的環境に変わりつつある頃, ある種の嫌気性細胞は, 細胞毒であった酸素を利用して大量のATP (アデノシン3リン酸) を作り得たミトコンドリアの侵略を繰り返したあと, 何かをきっかけにミトコンドリアと共生する道を選び, 好気性細胞に生まれ変わったとされている. その後, 多細胞生物体へと進化していく過程で, 生体はATPを細胞間情報伝達の小道具として使い始めたい. ATPは細胞外に放出されたあとATP受容体を刺激する一方で, 脱リン酸化されてADP (アデノシン2リン酸), AMP (アデノシン1リン酸) を経てアデノシンとなり, アデノシンは全く別の受容体を刺激して様々な生理反応を引き起こす. アデノシンあるいはATPの生理活性に関する最初の報告は, 1929年心管系での作用について (Drury and Szent-Gyorgyi) であるが, 神経系では1954年Holton and Holtonの報告となる. その後1971年にBurnstockによりプリン作動性神経の概念が提唱されたが, プリンヌクレオチド類は細胞内に普遍的に存在し, ATPは細胞内のエネルギー伝達体としてあまりにもポピュラーなために当初はなかなか受け入れられなかったが, 各受容体のcDNAクローニングが成功し, この概念もようやく認知された.

Keywords : ATP, adenosine, receptor

井上和秀 : 特集に寄せて
生体の科学, 52, 92-94 (2001)

ATPが神経伝達物質であるという概念はバーンシュトック先生により四半世紀前に提出されたにもかかわらず, 1993年のATP受容体クローニング成功まではなかなか認知されなかった. クローニング成功以来世界では急速に研究者が増え, 論文も毎年700報以上 (2000年実績) 掲載されるまでになったが, 国内での研究基盤は脆弱の感を否めない. ATPはその作用が多面にわたっていることから全体を把握するためには総合的な基礎研究が必要であるが, 現段階ではATP研究の提案書は層の薄い総花的なものになってしまい, かつ研究費の全体規模 (パイ) が小さいために, このタイプの研究にはなかなか研究費がまわらない. しかし, 世界のATP受容体機能の研究は急速に発展しており, 様々な病態との関連が時々刻々と明らかにされており, 我が国の研究の立ち後れに危機感を募らせる日々であった. そのような時機に, 本特集号は, 現在ATP受容体の機能解明がどこまで進んでいて, どこが遅れているのかを明確にするために企画された. 以上を本特集号を企画した立場から述べた.

Keywords : ATP, receptor, function

小泉修一, 井上和秀 : 中枢性系ネットワークとATP
生体の科学, 52, 101-107 (2001)

ATPが中枢神経系で神経伝達物質として神経細胞間の情報伝達機能を担っていること及び, アストログリア細胞から放出されて各種グリア間の情報伝達をも担っていることを明らかとした. さらに機械刺激によりアストログリアから放出されたATPが, グリアー神経細胞間情報伝達物質として, 中枢神経伝達を直接制御していることを明らかとした.

Keywords : ATP, astrocytes, CNS

津田 誠, 小泉修一, 井上和秀 : ATPと痛み
日本薬理学雑誌, 116, 343-350 (2000)

ATP受容体の痛みの発生と伝達にどのように関与している

かについてその可能性も含めてまとめた。イオンチャネル型ATP受容体のなかでも、P2X₃はcapsaicin感受性の小型脊髄後根神経節(DRG)神経細胞に局在し、急速な不活性化を伴う内向電流の発現に寄与し、末梢側ではブラジキニンに匹敵するような痛みを引き起こす。さらに、nocifensive behaviorおよびthermal hyperalgesia発現に関与している事が推測される。脊髄後角ではP2X₃はDRG中枢端からのグルタミン酸放出を促進することにより痛み伝達を増強するようである。一方、P2X₂とP2X₃のヘテロマー受容体は、capsaicin非感受性のやや中型DRG神経細胞に局在し、比較的緩徐な不活性化を伴う内向電流の発現に寄与する。行動薬理的にはこのヘテロマー受容体はmechanical allodyniaの発現に関与していることが推測されている。なおGタンパク共役型ATP受容体は、痛みとの直接の関与については未だ証明されていないが、それを示唆する状況証拠はかなり蓄積されており、特に病態時の関わりについて今後の研究が待たれる。

Keywords : ATP receptors, sensory neurons, pain

津田 誠, 小泉修一, 井上和秀: **痛みとATP**
生体の科学, **52**, 131-137 (2001)

一次求心性知覚神経および脊髄後角神経細胞でのATP受容体の痛みの発生・伝達における役割についてまとめた。イオンチャネル型ATP受容体の一つP2X₃はcapsaicin感受性の小型脊髄後根神経節(DRG)細胞に局在し、自発痛や熱刺激過敏反応を引き起こす。また、脊髄後角のP2X₃はDRG中枢端からのグルタミン酸放出を促進することにより痛み伝達を増強する。一方、P2X₂とP2X₃のヘテロ受容体は、capsaicin非感受性の中型DRG神経細胞に局在し、アロディニアの発症に関与している。Gタンパク共役型ATP受容体(P2Y)は、痛みとの直接の関与については未だ証明されていないが、それを示唆する状況証拠はかなり蓄積されており今後の研究が待たれる。

Keywords : P2X receptors, P2Y receptors, pain

小澤正吾: **ヒト組織フェノール硫酸転移酵素の遺伝的多型性**
薬物動態, **15**, 171-176 (2000)

ヒト組織上清酵素である種々の硫酸転移酵素は内因性基質、薬物、一般化学物質の解毒的代謝、排泄に重要な役割を果たすと共に、基質によっては代謝的活性化反応を触媒する。本酵素はST1, ST2など遺伝子スーパーファミリーを構成している。本ミニレビューでは、フェノール類の解毒的代謝やある種の癌原物質の代謝活性化に関わるフェノール硫酸転移酵素とその遺伝的多型性について概説した。

Keywords : Phenol sulfotransferase, human, genetic polymorphism

小澤正吾: **抗ガン剤の代謝に関わる酵素の遺伝子多型と薬効/副作用の個人差**
遺伝子医学, **15**, 27-31 (2001)

臨床適用抗ガン剤の多くにつき、肝や腫瘍組織で薬物代謝酵素により解毒的代謝物や活性体が生成する。酵素機能欠損となる異型対立遺伝子を有するヒトでは、抗ガン剤の副作用が強く現われたり、薬効が減弱することがある。ジヒドロピリミジン脱水素酵素の異型遺伝子により5-フルオロウラシル、チオプリンS-メチル転移酵素の異型遺伝子により6-メルカプトプリンの解毒代謝能が低下し、副作用の原因の一

つとなっている。

Keywords : pharmacogenetics, dihydropyrimidine dehydrogenase, thiopurine S-methyltransferase

畝山智香子: **英語論文を書こう!**

化学, **55**, 105-113 (2000)

「指導者に恵まれない人のための論文投稿マニュアル」として作成した筆者の個人サイト (<http://www2s.biglobe.ne.jp/~Uneyama/>)内コンテンツの紹介。HP作成を思い立ったきっかけについてや、インターネットの持つ可能性などについて述べた。

Keywords : internet, paper, letter

阿部 寛*¹, 古川文夫, 尾崎善孝*², 葛西久芳*³: **動物実験の組織標本作製**

Med. Tech. **28**, 1475-1478 (2000)

実験動物の組織標本作製は、使用する器具、機材および試薬、大まかな操作手順にはヒトの標本作製と相違はないが、動物の種類、臓器は多種多様であることから、臓器お取り扱い方、染色方法など特別な配慮が必要となる。実験動物組織標本作製の現状と注意すべき事項について述べた。

Keywords : Histotechnology, experimental animal

*¹順天堂大学

*²第一製薬株式会社

*³山之内製薬株式会社

Kirkland, D.J.*¹, Hayashi, M., MacGregor, J.T.*², Muller, L.*³, Schechtman, L.*² and Sofuni, T.: **Summary of major conclusions from the International Workshop on Genotoxicity Test Procedures**

Environ. Mol. Mutagen., **35**, 162-166 (2000)

Comprehensive summaries are given in the individual workgroup reports. The following outline concentrates on the main points that either differ from existing published recommendations (in the case of mouse lymphoma and *in vivo* micronucleus tests, or are key features to be considered in the development of new guidelines.

Keyword : IWGTP, genotoxicity test, guideline

*¹ Covance Laboratories Ltd., UK

*² US FDA, CDER, USA

*³ BfArM, Germany

Hayashi, M., MacGregor, J.T.*¹, Gatehouse, D.G.*², Adler, I-D.*³, Blakey, D.H.*⁴, Dertinger, S.D.*⁵, Krishna, G.*⁶, Morita, T.*⁷, Russo, A.*⁸ and Sutou, S.*⁹: **In vivo rodent erythrocyte micronucleus assay. II. Some aspects of protocol design including repeated treatments, integration with toxicity testing, and automated scoring**

Environ. Mol. Mutagen., **35**, 234-252 (2000)

This report summarizes the discussions and recommendations of an expert working group on the *in vivo* micronucleus assay, formed as part of the International Workshop on Genotoxicity Test Procedures held 1999 in Washington, D.C.. It includes: 1) protocols using repeated dosing, 2) integration of the micronucleus assay

into general toxicology studies, 3) the concurrently-treated positive control, 4) automation, 5) criteria for regulatory acceptance, 6) detection of aneuploidy, and 7) other than bone marrow.

Keyword : IWGTP, micronucleus assay, protocol

¹US FDA, CDER, USA; ²Glaxo Wellcome Research and Development, UK; ³GSF-Institut fuer Saeugtiergenetik, Germany; ⁴Health Canada, Canada; ⁵Litron Lab., USA; ⁶Parke-Davis Pharmaceutical Research, USA; ⁷Tsukoba Research Lab., Glaxo Wellcome, Japan; ⁸DBSF, Universita degli Studi dell'Insubira, Italy; ⁹The Natl. Inst. of Bioscience and Human Technology, Japan

Krishna, G.* and Hayashi, M.: **In vivo rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation**

Mutat. Res., **455**, 155-166 (2000)

In vivo rodent micronucleus assay has been widely used to detect genotoxicity. Evaluation of micronucleus induction is the primary in vivo test in a battery of genotoxicity tests and is recommended by the regulatory agencies around the globe to be conducted as part of product safety assessment. The assay, when performed appropriately, detects both clastogenicity and aneugenicity. In recent years, the focus has been directed toward improving micronucleus detection with high efficiency by proposing data-based recommendations to the standard initial protocol design. This protocol paper describes the mechanism of micronucleus formation, a generalized protocol for manual detection, enumeration of micronuclei, and data interpretation in light of published information thus far, on the regulatory aspects of this assay. It is expected that such improvements of the protocol will continue to drive the utility of this assay in the product safety assessment.

Keyword : micronucleus assay, genotoxicity test, protocol

* Parke-Davis Pharmaceutical Research, USA

本間正充：ほ乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験の技術指導

日中医学, **15**, 27 (2001)

新医薬品承認申請資料の国際的ハーモナイゼーションを目指す会議(ICH)において、ほ乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験であるマウスリンフォーマ試験(MLA)の採用が承認され、本試験法の国際的普及が望まれている。堅調な医薬品産業の発展が続く中国では1998年、国家薬品監督管理局が設立され、昨年より中国国内においてもGLPが施行されている。しかしながら、施設の、技術的問題などからその実行が困難であるのが現状である。このような背景のもと、中国におけるGLP管理下における遺伝毒性試験の実施の視察を兼ね、新しい試験法であるMLAなどのほ乳類細胞遺伝子突然変異試験の普及のため訪中した。

Keywords : Mouse lymphoma assay (MLA), ICH, China

能美健彦, 増村健一：トランスジェニックマウス *gpt delta* を用いた点突然変異と欠失突然変異の検出環境変異原研究, **22**, 85-90 (2000)

変異原のヒトに対するリスクを評価するためには動物個体を用いた in vivo での突然変異検出系が重要である。近年、大腸菌やファージの遺伝子を標的遺伝子として組み込んだトランスジェニック動物を用いて遺伝子突然変異を検出

し分子レベルで解析することが可能になってきた。体細胞全てに標的遺伝子のコピーを持っているため、個体の全組織を対象に変異原性の検索を行うことが可能である。このことは変異原への暴露形態のみならず、発癌の臓器特異性や薬物代謝、さらに加齢や生殖細胞への影響などを考慮した変異原性評価を可能にする点で意義が大きい。我々はλEG10DNAを組み込んだトランスジェニックマウス *gpt delta* を開発した(Nohmi et al., 1996)。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特徴を持っている。①大腸菌 *gpt* 遺伝子をレポーターとする6-thioguanineセレクションは主に点突然変異(塩基置換変異とフレームシフト)を検出する。②λファージの *red/gam* 遺伝子をレポーターとする Spi^{-} セレクションは主に欠失変異を検出する。本稿では *gpt delta* マウスを用いた突然変異検出系について解説する。

Keywords : *gpt delta* transgenic mouse, 6-thioguanine selection, Spi^{-} selection

Nohmi, T., Suzuki, T. and Masumura, K.: **Recent advances in the protocols of transgenic mouse mutation assays**

Mutat. Res., **455**, 191-215 (2000)

Transgenic mutation assays were developed to detect gene mutations in multiple organs of mice or rats. The assays permit (1) quantitative measurements of mutation frequencies in all tissues/organs including germ cells and (2) molecular analysis of induced and spontaneous mutations by DNA sequencing analysis. The protocols of recently developed selections in the lambda phage-based transgenic mutation assays, i.e. *cII*, Spi^{-} and 6-thioguanine selections, are described, and a data set of transgenic mutation assays, including those using Big Blue and Muta Mouse, is presented.

Keywords : transgenic mouse, protocol, mutation

Horiguchi, M., Masumura, K. and Nohmi, T.: **UVB-induced mutations in the skin of *gpt delta* transgenic mouse: a novel transgenic mouse mutagenesis assay**

Env. Sci., **7**, 249-258 (2000)

UVB-induced mutations in the skin were examined using novel *gpt delta* transgenic mice. At 4 weeks after UVB irradiation, the transgene was rescued from the genomic DNA of epidermis and dermis and the mutant frequencies (MF) of the *gpt* gene were determined. At UVB doses of 0.3 and 0.5 kJ/m², the MF in epidermis of UVB-irradiated mice were more than nine times higher than those of the nonirradiated mice, whereas the MF in dermis of UVB-irradiated were only two to three times higher than those in nonirradiated mice. The predominant mutation induced by UVB was G:C to A:T transition at the 3'-side of dipyrimidine sites, such as 5'-TC-3' and 5'-CC-3'. Tandem transitions such as CC to TT were also observed. These results suggest that UV-photoproducts, such as cyclobutane pyrimidine dimers or pyrimidine-(6,4)-pyrimidone photoproducts, play an important role in UVB-induced mutations in the skin of mice. We conclude that the *gpt delta* transgenic mouse is a suitable model for analyzing in vivo UVB-induced mutations at the molecular level.

Keywords : UVB, transgenic mouse, *gpt*

山田雅巳: DNA polymerase β

環境変異原研究, 22, 115-124 (2000)

突然変異の生成にDNA polymeraseの存在は欠かせない。変異原による付加体がDNA上に存在するだけではそれはただの損傷であり、突然変異とはいえない。その損傷を鋳型に複製が行われると、結果として正しくない蛋白質ができ、そこで初めて突然変異が起こったことになる。ここ1-2年で新たに7個以上のDNA polymeraseが発見された。そのほとんどが損傷を乗り越えるタイプのDNA polymeraseで、中には乗り越える際に正しくない塩基を入れて複製を進ませるものもあり、見かけ上、突然変異を促進しているかに見えて興味深い。本総説では、構造的な解析を含む詳細な研究が進んでいるDNA polymerase β について酵素としての性質、生体内での役割、Translesion合成での役割、塩基除去修復での役割などさまざまな切り口から紹介している。

Keywords: DNA polymerase β , Translesion DNA synthesis, mutagenesis

宇都木 伸^{*1}, 迫田朋子^{*2}, 恒松由記子^{*3}, 野本亀久雄^{*4}, 唄孝一^{*5}, 増井 徹, 松村外志張^{*6}: ヒト組織・細胞の取扱いと法・倫理

ジュリスト 1193, 2-35 (2001)

国際的にはヒト資料(モノと情報)の研究利用は重要な国家戦略の一部となりつつある。日本においても、昨年度から複数のゲノム・遺伝子解析研究に対する政府研究指針が策定されてきた。しかし、その基礎となる、ヒト試料の取扱いについての指針はまだ検討されていない。本稿においては、ヒト試料の研究利用を取り巻く現状の分析と試料自体の性質と分類を試みた。

Keywords: human material, research usage, ethical environment

*1 東海大学

*2 日本放送協会

*3 国立小児病院

*4 九州大学

*5 北里大学

*6 ローマン工業

Masui, T.: Framework is indispensable to promote the use of human material in pharmacogenetics

Altern. Animal Test. Exp. 7, 66-67 (2001)

Public demands for the fair use of human tissues in research and development have been evident. The possible use of genomic information and human materials should be beneficial for the promotion of pharmacogenetics. However stable growth of the area requires 3 essential infrastructures, i.e., 1) establishment of ethical and legal environment supporting the activities in Japanese society, 2) scientific studies supporting the pharmacogenetics, and 3) the public supporting domain (banking system) that provides us human materials to the public.

Keywords: human material, ethical environment, public research resource bank

増井 徹, 水沢 博: 細胞と組織の凍結保存と解凍操作
蛋白質 核酸 酵素 45, 2195-2201 (2000)

細胞と組織の保存は主に凍結保存によってなされている。標準的な凍結保存法が使われているが、実際には問題点があ

る場合が少なくない。また、解凍操作は凍結法の有効性を左右する重要な側面を持ち、そのために、凍結法と解凍操作は一組の操作として論じられる必要がある。そこで、本稿においては、細胞と組織に凍結保存法についての全体像を示し、方法とその基礎にある考え方について解説する。

Keywords: tissue/cell, cryopreservation, thawing process

増井 徹, 中村晃忠: 細胞・組織の医療への利用に関する規制とガイドラインの動向; VII. 行政による枠組み整備と社会的認知について

蛋白質 核酸 酵素 45, 2354-2356 (2000)

ヒト資料の研究利用、産業利用に係わる政府指針がこの数年の間に整備された。これは、国際的にはヒト資料(モノと情報)が国家戦略に組み込まれて、次世代の産業の要になると信じられているからである。現状では欧米の対応の速さ圧倒されて、手をこまねいて見ている感を否めない。しかし、わが国においてもヒト資料の利用環境の整備が進みつつあり、一般社会の意識も高まることが期待されている。そこで、その整備の現状と問題点について解説を加える。

Keywords: guideline, human material, industrial usage

広瀬明彦, 小泉睦子, 長谷川隆一: ビスフェノール・アルキルフェノール類

日本臨床, 58, 2428-2433 (54-59) (2000)

ビスフェノールAおよびアルキルフェノール類は典型的なエストロゲン様作用を示す内分泌かく乱化学物質であることが良く知られている。これらの化学物質による子宮増殖刺激作用、性周期に対する作用、精巣および副生殖器に対する作用の無作用量はいずれも10mg/kg/日以上と推定される。一方、ビスフェノールAを妊娠動物に極低用量で投与したとき次世代雄に見られた影響ならびにノニルフェノールを雌の皮膚への埋込みで極低用量を投与したときに見られた乳腺増殖刺激作用について、いずれも同様の実験で影響の見られなかった報告を比較紹介した。

Keywords: bisphenol A, alkylphenols, estrogenic activity

岡田敏史: 熱分析法による医薬品の品質評価

熱測定, 27(5), 242-249 (2000)

日局13第二追補(1999)の一般試験法として新規に採用された「熱分析法」の概要を紹介するとともに、医薬品の品質評価試験にどのように利用可能であるかにつき考察した。医薬品原薬の品質は各種の物理化学的試験により規定されるが、熱分析法が適用可能な試験項目としては、「性状」、「乾燥減量又は水分」及び「純度試験(類縁物質)」がある。それぞれの試験項目がもつ医薬品原薬の品質評価上の意義及びどのような応用が可能であるかにつき、具体的な実験例を示して解説した。また、USP及びEPにおいて熱分析法がどのように取り扱われているかについても比較考察を行った。

Keywords: thermal analysis, Japanese Pharmacopoeia, loss on drying

岡田敏史: 第十四改正日本薬局方の改正点—既収載医薬品(化学薬品)—

薬局, 52(5), 65-70 (2001)

日局13に既に収載されている医薬品の規格及び試験法の見直し作業が、どのような方針の下で進められ、日局14においてどこまで具体化することができたかについて概説した。また、医薬品各条における各試験項目の見直しにあたっての基本的考え方についても合わせて示した。

Keywords : Japanese Pharmacopoeia, revision principle, adopted monographs

宮崎玉樹, 四方田千佳子: バイオポリマーの分子量評価法 I

製剤と機械, 258, 8-10 (2000)

高分子の分子量測定法の中で、光散乱を応用した各種測定装置の特徴について概説した。さらに低角度レーザー光散乱測定装置(LALLS)については、原理や測定の実際など詳細を紹介した。通常はサイズ排除クロマトグラフィーの検出器として用いられることの多いLALLSを単独で使用し、デキストランやプルラン、ヒアルロン酸など水溶性高分子の重量平均分子量及び第2ビリアル係数を求めた結果について述べた。

Keywords : bio-polymer, molecular weight, light scattering

宮崎玉樹, 四方田千佳子: バイオポリマーの分子量評価法 II

製剤と機械, 263, 10-12 (2000)

低角度レーザー光散乱測定装置(LALLS)をサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)の検出器として用い、様々な条件下で分解処理されたヒアルロン酸の分子量変化を追跡した。SEC-LALLS法は、少量の試料で効率良く、平均分子量や分子量分布が求められるため、今回の検討には有用な手法と言える。LALLS及び示差屈折計で得られたクロマトグラムの推移や分子量分画の分率変化、重量平均分子量の低下挙動などから、分解方法によって分子鎖の切断箇所が異なっている可能性を推測した。

Keywords : hyaluronan, molecular weight, low-angle laser light scattering photometer

四方田千佳子, 宮崎玉樹: バイオポリマーの分子量評価法 III

製剤と機械, 264, 10-12 (2000)

ヨーロッパ薬局方やアメリカ薬局方に収載されているデキストランのサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)について概説した。また、サイズ排除クロマトグラフィーの検出器として、オンライン粘度検出器と90度方向のみの光散乱検出器(RALLS)を用いる分子量評価法を多糖類に適用し、プルランやデキストランでは精度良く分子量評価が可能であったが、ヒアルロン酸では分子量が100万以上となると、粘度測定による干渉因子の補正のみでは実際より小さな分子量値が得られることを示した。

Keywords : polysaccharide, molecular weight, viscometer

斎藤博幸: 生体エマルション“血漿リポタンパク質”の構造とその生理的機能

表面, 38, 288-296 (2000)

生体内脂質輸送を担うリポタンパク質の代謝すなわちその生理的機能における粒子構造の重要性について、特にリポタンパク質リパーゼによるリポリシスとアポEによる粒子取

り込みの例を挙げながら概説した。

Keywords : emulsions, lipoproteins, apolipoproteins

斎藤博幸: 生体エマルション

油化学, 49, 1157-1162 (2000)

血漿リポタンパク質のモデル粒子であるトリグリセライドをリン脂質で乳化した脂質エマルションは、その表面構造がリン脂質二分子膜(リポソーム)と著しく異なる。これは、エマルション表面でリン脂質とコア脂質が動的に相互作用しているためであり、エマルション粒子とリポソーム粒子間での物理化学的安定性や体内代謝挙動の著しい差異は、この表面-コア脂質間相互作用によるエマルション表面構造の特異性が原因であると考えられた。

Keywords : emulsions, lipoproteins, bilayers

谷本 剛: 第十四改正日本薬局方の改正点, 医薬品各条の改正点「抗生物質医薬品」

薬局, 52 (5), 71-76 (2001)

抗生物質医薬品の日局14への収載に関して、次の項目について解説した。

1. 抗生物質医薬品の収載品目数
2. 日抗基の廃止に向けた抗生物質医薬品の日局移行スケジュール
3. 日局既収載抗生物質医薬品の日局規格設定の基本方針
4. フル規格を設定した抗生物質医薬品
5. 日抗基規格を準用した抗生物質医薬品
6. ミニマム規格による日局規格設定の基本方針
7. ミニマム規格で日局収載した抗生物質医薬品
8. 日局から削除した抗生物質医薬品
9. 日局抗生物質標準品

Keywords : The Japanese Pharmacopoeia, antibiotic products

谷本 剛: 日局の抗生物質各条, エンドトキシン試験法等大阪医薬品協会会報, 623号, 58-70 (2000)

日抗基の廃止に伴う日抗基医薬品各条の日局移行に関する問題点並びにその対応策等について概説した。また、日局におけるエンドトキシン規格の設定にかんする問題点について解説した。

Keywords : The Japanese Pharmacopoeia, antibiotic products, endotoxin test

柴田敏郎, 吉田清人*1, 鈴木邦輝*1, 本間尚治郎*2: 「第2回薬用植物に関するワークショップー北方先住民族の有用植物とその利用法についてー」記録集

北国研究集録, 5, 1-44 (2001)

北方先住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 : Aboriginal people, useful plants

*1 名寄市北国博物館

*2 なよろ野の花の会

鹿庭なほ子:「生物薬剤学, バイオアベイラビリティと生物学的同等性」, 林 正弘, 谷川原祐介編, 南江堂, 東京, (2000) Cpp. 59-68

Carpenter, J.F.^{*1}, Izutsu, K., Randolph, T.W.^{*2}: “Freezing and Drying-Induced Perturbations of Protein Structure and Mechanisms of Protein Protection by Stabilizing Additives.” In Freeze-drying/Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products. eds, Rey, L., May, J.C., Marcel Dekker, New York, 1999, pp.123-160
^{*1} University of Colorado Health Sciences Center
^{*2} Department of Chemical Engineering, University of Colorado

S. Yoshioka and V.J. Stella^{*1}: Stability of Drugs and Dosage Forms Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2000.
^{*1} University of Kansas

早川堯夫: “新薬開発評価の基礎と臨床”, バイオテクノロジー製剤の特徴と品質上のポイント, 新薬開発評価の基礎と臨床研究会編, デジタルプレス, 東京 (2001) pp.411-442

早川堯夫: “バイオ医薬品の品質・安全性評価”, 細胞基材の品質・安全性評価, 早川堯夫, 山崎修道, 延原正弘編, エル・アイ・シー, 東京 (2001) pp.33-49

早川堯夫: “バイオ医薬品の品質・安全性評価”, 感染症物質概論, 早川堯夫, 山崎修道, 延原正弘編, エル・アイ・シー, 東京 (2001) pp.101-122

早川堯夫: “バイオ医薬品の品質・安全性評価”, 製品の特性解析・品質規格, 安定性及びComparability, 早川堯夫, 山崎修道, 延原正弘編, エル・アイ・シー, 東京 (2001) pp.205-230

早川堯夫: “バイオ医薬品の品質・安全性評価”, 細胞・組織利用医薬品等の品質・安全性の確保, 早川堯夫, 山崎修道, 延原正弘編, エル・アイ・シー, 東京 (2001) pp.397-419

早川堯夫: “バイオ医薬品の品質・安全性評価”, 遺伝子治療用医薬品の品質, 安全性等の確保, 早川堯夫, 山崎修道, 延原正弘編, エル・アイ・シー, 東京 (2001) pp.341-350

川崎ナナ, 早川堯夫: “バイオ医薬品の品質・安全性評価”, 糖鎖構造解析, 早川堯夫, 山崎修道, 延原正弘編, エル・アイ・シー, 東京 (2001) pp.255-284

川西 徹: “基礎生化学実験法第2巻”, 共焦点顕微鏡, 日本生化学会編, 東京化学同人, 東京 (2000) pp.205-218

川西 徹, 篠内桃子, 高仲 正: “生物薬科学実験講座第15巻”, ラジオアイソトープを用いた薬物酸化酵素活性測定法, 鎌滝哲也監修, 廣川書店, 東京 (2001) pp.102-114

Hisamitsu, T., Ohata, H., Kawanishi, T., Iwamoto, T., Shigekawa, M., Amano, H., Yamada, S., Momose, K.: “Control and Diseases of Sodium Dependent Transport Proteins and Ion Channels”,

Functional coupling of Na⁺/Ca²⁺ exchange with Ca²⁺ release from intraelloular stores in cultured cells from guinea pig ileum., ed. Suketa, Y., Carafoli, E., Lazdunski, M., Mikoshiba, K., Yamada, Y. and Wright, E.M., Elsevier, Netherland (2000) pp.93-94

Uchida E., Hayakawa T.: “Quality and safety evaluation of gene therapy products in Japan”, Gene Therapeutic Agents - Past, Present, and Future, The 4th annual KFDA international symposium, ed. Korea Food and Drug Administration, Seoul (2000) pp. 5-15

水口裕之, 早川堯夫: “バイオ医薬品の品質・安全性評価”, アデノウイルスベクター, 早川堯夫, 山崎修道, 延原正弘編, エル・アイ・シー, 東京 (2001) pp.383-393

猪狩康孝・菊地寛・高倉喜信・水口裕之・奥平和穂(司会): “ファルマシア”, DDSと夢, 日本薬学会編, 東京 (2001) pp.369-374

佐竹元吉, 関田節子: 新訂版 GMP微生物試験法「生薬の微生物試験」, 川村邦夫, 佐々木次雄, 棚元憲一編, 講談社サイエンティフィック (2001), pp. 286-302

新谷英晴: “有害微生物管理技術第1巻”, 医療用具の滅菌保証の意義, 実際問題点ならびに使用者への指針, 芝崎 勲監修, フジテクノシステム, 東京 (2000), pp.1096-1191

松村年郎: “室内空気清浄便覧”, 日本空気清浄協会編, オーム社, 東京 (2000) pp.81-92

松村年郎: “21世紀のいのちと環境シリーズ・室内環境をとりまく最近の動向”, 健康事業総合財団, 東京 (2000) pp.18-33, 48-62

尾澤達也他: “化粧品の有用性一評価技術の進歩と将来展望”, 武田克之, 原田昭太郎, 安藤正典監修, 日本化粧品技術者会編集, 薬事日報社, 東京 (2001)

佐々木久美子, 松田りえ子, 根本 了: “FDA 残留農薬分析マニュアル”, PAM日本語版編集委員会訳, 中央法規. 東京 (2000) pp.3-26

佐々木久美子: “衛生試験法・注解 2000”, 日本薬学会編, 金原出版, 東京 (2000) pp.423-435

宮原 誠, 田辺寛子, 後藤典子: “照射食品の世界の現状と検知法”, 東京都立産業技術研究所編集, 東京都立産業技術研究所, 東京 (2000)

石綿 肇: “新食品分析ハンドブック”, 菅原龍幸, 前川昭男監修, 建帛社, 東京 (2000) pp.192-193, pp.552-556

石綿 肇: “新版介護福祉士養成講座 8 家政学概論”, 福祉士養成講座編集委員会編, 中央法規, 東京 (2001) pp.113-118

- 石綿 肇：“あなたが食べている食品添加物 本編版”，食品添加物研究会編，日本食品添加物協会，東京（2001）
- 石綿 肇：“あなたが食べている食品添加物 総合版”，食品添加物研究会編，日本食品添加物協会，東京（2001）
- 河村葉子：“新食品分析ハンドブック”，菅原龍幸，前川昭男監修，建帛社，東京（2000）pp.497-499
- 丹野雅幸，宮田直樹：“NOドナー”，生体内一酸化窒素(NO)実験プロトコール，共立出版，東京（2000）pp 13～33
- 最上（西巻）知子，横山信治：“基礎生化学実験法 第5巻 脂質・糖質・複合糖質”，基礎生化学実験法 編集委員会編集，東京化学同人，東京（2000），pp33-35, pp35-36
- 小沼博隆：“HACCP：衛生管理計画の作成と実践 清涼飲料水実践編”，清涼飲用水に有害な微生物と異物，厚生省生活衛生局監修，中央法規，東京（2000）pp.50-75
- 小沼博隆：“調理業のHACCP”，食品衛生協会，東京（2000）pp1-32
- 小沼博隆：“HACCPマニュアル総論編”食品産業センター，第3章HACCPシステムとは，第4章HACCPシステム導入への作業手順，東京（2000）pp3-37
- 小沼博隆：“食品の低温流通ハンドブック”，第4章調理加工品，丸山 務監修，サイエンスフォーラム，東京（2000）pp.288-300
- 小沼博隆：“発酵乳・乳酸菌飲料中のビフィズス菌の菌数測定法”，全国発酵乳乳酸菌飲料協会，東京（2000）pp.4-7
- 高鳥浩介：“真菌性疾患”，実験動物感染症の対応マニュアル，前島一淑監修，アドスリー出版，東京（2000）pp.227-238
- 高鳥浩介：“微生物の分類と同定 真菌”，川村邦夫・佐々木次男・棚元憲一監修，新改訂版GMP微生物試験法，講談社サイエンティフィック，東京（2000）pp.165-194
- 高鳥浩介：“クリーンルームの運転と維持管理”，(株)日本空気清浄協会編，クリーンルーム環境の施工と維持管理，オーム社，東京（2000）pp.110-115
- 高鳥浩介：“汚染による障害と障害機構 微生物による建物汚染”，(株)日本空気清浄協会編，室内空気清浄便覧，オーム社，東京（2000）pp.53-61
- 高鳥浩介：“カビ制御手法”，芝崎勲監修，有害微生物管理技術，フジテクノシステム，東京（2000）pp.32-41
- 高鳥浩介：“穀物、豆類とその加工品”藤井建夫編，食品微生物Ⅱ食品の保全と微生物，幸書房，東京（2000）pp. 84-96
- 関澤 純，花井荘輔，毛利哲夫：“化学物質の健康リスクアセスメント”，監訳，丸善株式会社，東京（2001）
- Sekizawa J. ed.：“**Concise International Chemical Assessment Document No.27**”，Diphenylmethane diisocyanate (MDI), International Programme on Chemical Safety / World Health Organization, Geneva (2001)
- 関澤 純：“安全性評価と基準”，農薬学事典，朝倉書店，東京（2000）pp. 281-314
- 関澤 純：“第6章 リスク評価の科学と方法”，日本リスク研究会編，リスク学事典，TBSブリタニカ，東京（2000），pp216～219, pp228～231, pp234～235
- 関澤 純：“統合的リスク評価とリスク対応，環境ホルモンの総合的リスク管理”，西日本環境ホルモン研究会編，環境新聞社，東京（2000），pp47～56
- Sekizawa J. ed.：“**Concise International Chemical Assessment Document No.13**”，Triphenyltin Compounds, International Programme on Chemical Safety / World Health Organization, Geneva (1999)
- Kitajima, S., Momma, J. and Inoue, T.：“**Toxicology for the Next Millennium**”-Reactivities of the skin-sensitization test in guinea pig (GPMT) as a function of three parameters: induction doses (MID), challenge doses (SCD), and direct exposures (DED)-, ed, Isfort, R.J., and Lederberg, J., The New York Academy of Sciences, New York (2000) pp.312-314
- 菅野 純：“内分泌攪乱化学物質の生物試験研究法”子宮肥大試験およびハーシュバーガー試験・原理，OECDバリデーションプロトコールの解説，井上達監修，シュプリンガーフェアラーク東京，東京（2000）pp.49-54, pp.227-241
- 松島裕子：“内分泌攪乱化学物質の生物試験研究法”子宮肥大試験およびハーシュバーガー試験・子宮肥大試験，井上達監修，シュプリンガーフェアラーク東京，東京（2000）pp.54-64
- 金子豊蔵：“内分泌攪乱化学物質の生物試験研究法”子宮肥大試験およびハーシュバーガー試験・ハーシュバーガー試験，井上達監修，シュプリンガーフェアラーク東京，東京（2000）pp.69-75
- 高木篤也：“内分泌攪乱化学物質の生物試験研究法”胚幹細胞を用いた検討，井上達監修，シュプリンガーフェアラーク東京，東京（2000）pp.143-149
- 井上和秀：“ATP受容体．医学のあゆみ「7 回膜貫通型受容体研究の新展開」”，佐藤公道，赤池昭紀編，医歯薬出版（2001）pp.38-42
- Sibutani, M.：“**Anesthesia, Artificial Ventilation and Perfusion Fixation**” Chapter 26, in Digital Handbook of Laboratory animals. The rat., G.J. Krinke (ed.) Academic Press, San Diego (2000)

pp.511-521

林 裕造*, 西川秋佳: “毒性病理組織学”, 代謝障害, 日本毒性病理学会編, 東京 (2000) pp. 39-44.

*北里大学

林 裕造*¹, 西川秋佳, 今井田克己*²: “毒性病理組織学”, 肺, 日本毒性病理学会編, 東京 (2000) pp. 117-135.

*¹北里医学

*²名古屋市立大学

真鍋 淳*¹, 松沼尚史*¹, 高橋道人*², 立松正衛*³, 西川秋佳: “毒性病理組織学”, 消化管, 日本毒性病理学会編, 東京 (2000) pp.153-178.

*¹三共株式会社

*²昭和大学

*³愛知がんセンター

渡辺満利*, 西川秋佳: “毒性病理組織学”, 腎臓, 日本毒性病理学会編, 東京 (2000) pp. 246-266.

*持田製薬株式会社

今井 清*, 広瀬雅雄: “毒性病理組織学”, 甲状腺/上皮小体, 日本毒性病理学会編, 東京 (2000) pp. 435-446.

*食品医薬品安全センター

古川文夫: “毒性病理組織学”, 膝 (内分泌), 日本毒性病理学会編, 東京 (2000) pp. 447-453.

豊田和弘, 広瀬雅雄: “内分泌攪乱化学物質の生物試験研究法”, 28日間連続投与試験, 井上 達監修 シュプリンガー・フェアラーク, 東京 (2000) pp. 76-84

三森国敏: “内分泌攪乱化学物質の生物試験研究法”, 甲状腺腫瘍に対する影響, 井上 達監修 シュプリンガー・フェアラーク, 東京 (2000) pp. 205-212.

広瀬雅雄, 西川秋佳: “脂質栄養学シリーズ4 脂質と癌”, 過酸化脂質と抗酸化物質の関与, 日本脂質栄養学会監修, 学会センター関西, 大阪 (2000) pp. 115-129

水沢 博: “第4節 血清中のウイルス試験, バイオ医薬品の品質・安全性評価”, 早川堯夫・山崎修道・延原正弘 編, 株式会社 LIC (Life-Science Information Center), 東京 (2001), pp170 ~ 178

松村外志張, 増井 徹, 宇都木 伸: “ヒト細胞・組織の取り扱いに関する倫理的諸問題, バイオ医薬品の品質・安全性評価”, 早川堯夫・山崎修道・延原正弘 編, 株式会社 LIC (Life-Science Information Center), 東京 (2001), pp489 ~ 504

Ishimaru, K., Ando, M., Takamiya, M., Terahara, N., Yamakawa, T., Shimomura, K. and Tanaka, N.: “*Transgenic Campanula spp. (Bellflower)*” In *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Vol. 48, *Transgenic Crops III*, edited by Bajaj, Y.P.S., Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2001) pp. 55-69

Ishimaru, K., Murakami, Y. and Shimomura, K.: “*Transgenic Hyssopus officinalis. (Hyssop)*” In *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Vol. 48, *Transgenic Crops III*, edited by Bajaj, Y.P.S., Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2001) pp. 201-208

吉松嘉代: “遺伝子組換え食品—あなたはどう思いますか?—”, 健康とくすりシリーズ, 日本薬学会編, 丸善株式会社, 東京 (2001) pp.1-108

生物学的同等性試験の評価法：局所適用製剤の評価方法と溶出試験の適性化：青柳伸男，鹿庭なほ子，香取典子，小嶋茂雄，東京医薬品工業協会，大阪医薬品協会，同一性評価調査研究（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月医薬品機構に報告。

患者のクオリティオブライフの向上を目指した医薬品治療におけるリスク集団の検出方法：鹿庭なほ子，委託研究（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月医薬品機構に報告。

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12年4月～平成13年3月），平成13年4月厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課に報告。

2-プロモ-2-ニトロプロパン-1,3-ジオール,4,4-ジメチル-1,3-オキサゾリン,N,N'-ヘキサメチレンビス(4-カーバモイル-1-デシルピリジニウムブロマイド)及びビス(2-ピリジルチオ-1-オキシド)亜鉛の細胞毒性：五十嵐良明，鹿庭正昭
家庭用品等調査研究費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年4月厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室に報告。

抗菌剤4,4-テトラメチレンビス(4-カーボモイル-1-デシルピリジニウムブロマイド)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12年4月～平成13年3月），平成13年4月厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室に報告。

抗菌剤2-(チオシアノメチルチオ)ベンゾチアゾールの分析法策定：五十嵐良明，鹿庭正昭
家庭用品等調査研究費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年4月厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室に報告。

家庭用品規制法の有害物質等基準における樹脂加工剤のホルムアルデヒドの改訂測定法の設定：五十嵐良明，鹿庭正昭
家庭用品等調査研究費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年4月厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室に報告。

家庭用品規制法の有害物質等基準における衛生加工剤のトリフェニル錫化合物・トリブチル錫化合物の改訂測定法の設定：五十嵐良明，鹿庭正昭
家庭用品等調査研究費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年4月厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室に報告。

国設自動車排出ガス測定所における大気汚染実態調査：松村年郎，関田 寛，濱田実香，安藤正典
環境庁環境保全費（平成12年4月～平成13年3月）平成13年5月環境省環境管理局自動車環境対策課に報告。

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12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告。

エテクロゼート試験法：高附 巧，佐々木久美子，豊田正武
食品等試験検査費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告。

畜産食品中の残留有害物質に係るモニタリング検査－エプリノメクテン，チルミコシン，レバミゾール－：村山三徳，松田りえ子，豊田正武
食品等試験検査費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部監視安全課に報告。

畜産食品中の残留動物用医薬品のスクリーニング法：村山三徳，松田りえ子，豊田正武
食品等試験検査費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部監視安全課に報告。

食品中の添加物分析法の設定：米谷民雄，石綿 肇，山崎壮，川崎洋子，佐藤恭子
食品添加物規格基準設定費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告。

既存添加物規格実態調査要領の作成について：米谷民雄，佐藤恭子
食品添加物規格基準設定費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告。

ワイン中のソルビン酸エステル分析：米谷民雄，石綿肇，武田由比子，川崎洋子，久保田浩樹，阿部有希子
食品添加物規格基準設定費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告。

高速液体クロマトグラフィーによる粉末スープ中のポリソルベートの分析法の検討：米谷民雄，石綿 肇，武田由比子，阿部有希子
食品添加物規格基準設定費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告。

第7版食品添加物公定書中タール色素試験法の一般試験法及び各条に係る正誤について：米谷民雄，石綿 肇，武田由比子
食品添加物規格基準設定費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告。

第7版食品添加物公定書の規格試験法中の有害試薬について

て代替試薬の検討：米谷民雄，石綿 肇，武田由比子
食品添加物規格基準設定費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告。

魚肉中の一酸化炭素（CO）の分析法の検討およびCO無処理イズミダイ中のCO濃度（バックグラウンド値）の測定：川崎洋子，石綿 肇，米谷民雄
食品添加物規格基準設定費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告。

輸入イズミダイ及び市販マグロ，ブリ中の一酸化炭素の測定：川崎洋子，石綿 肇，米谷民雄
未指定添加物対策費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告。

食品添加物として用いられる酵素の試験方法：秋山卓美，佐藤恭子，山崎 壮，米谷民雄
天然添加物指定制度実施事業費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告。

ホコッシ抽出物の含有成分及び分析法：秋山卓美，佐藤恭子，山崎 壮，米谷民雄
天然添加物指定制度実施事業費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告。

天然苦味料レイシ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，山崎 壮，米谷民雄
食品添加物規格基準設定費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告。

ポリエチレン及びポリ塩化ビニル製使い捨て手袋の溶出試験：河村葉子，米谷民雄
容器包装等試験検査費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告。

天然ゴム製使い捨て手袋の溶出試験：河村葉子，米谷民雄
容器包装規格基準等作成費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告。

ポリ塩化ビニル製玩具からのフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)の溶出について：杉田たき子，阿部有希子，石綿 肇，米谷民雄
容器包装規格基準等作成費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告。

化学物質の毒性情報等提供システムに関する調査と検討：山本 都
家庭用品等試験検査費（平成12年4月～平成13年3月），平成13年4月厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対

策室に報告

水道水源における有害化学物質等監視情報ネットワーク機能強化検討委員会報告書：国包章一^{*1}，関澤 純，相沢貴子^{*1}，安藤正典，岡田光正^{*2}，小泉 清^{*3}，小笹 泰^{*4}，白石寛明^{*5}，西野二郎^{*6}，眞柄泰其^{*7}，益永茂樹^{*8}，米沢龍夫^{*9}
（平成12年4月～平成13年3月），平成13年4月厚生労働省健康局水道課に報告

^{*1} 国立公衆衛生院

^{*2} 広島大学工学部

^{*3} 横浜市水道局

^{*4} 大阪市水道局

^{*5} 国立環境研究所

^{*6} 東京都水道局

^{*7} 北海道大学工学部

^{*8} 横浜国立大学環境科学センター

^{*9} (社)日本水道協会

要調査項目評価検討会（平成12年度）報告書：森田昌敏^{*1}，関澤 純，石井泰雄^{*2}，大島輝夫^{*3}，国包章一^{*4}，白石寛明^{*1}，益永茂樹^{*5}
（平成12年4月～平成13年3月），平成13年4月環境省環境保健部環境安全課に報告

^{*1} 国立環境研究所

^{*2} 農業環境技術研究所

^{*3} 化学品安全管理研究所

^{*4} 国立公衆衛生院

^{*5} 横浜国立大学環境科学センター

内分泌攪乱物質等，生活環境中の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：今井 清^{*1}，井上 達，関澤 純，大野泰雄，江馬 真，金子豊蔵，菅野 純，小野 敦，長谷川隆一，中田琴子
（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部企画課に報告

^{*1} 財団法人食品薬品安全センター

第1回高感受性群リスク評価委員会（平成12年度）報告書：内山巖雄^{*1}，関澤純，佐々木久美子，玉城英彦^{*2}，堤 治^{*3}，常俊義三^{*4}，遠山千春^{*5}，森永謙二^{*6}
（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月環境省環境保健部環境リスク評価室に報告

^{*1} 国立公衆衛生院

^{*2} 北海道大学医学部

^{*3} 東京大学医学部

^{*4} 宮崎医科大学

^{*5} 国立環境研究所

^{*6} 大阪府立成人病センター

平成12年度新エネルギー・産業技術総合開発機構受託石油製品総合管理推進事業リスク評価システム開発研究成果報告書：松尾昌季^{*1}，関澤 純，林 裕造^{*2}，藤田正一^{*3}，磐田光夫^{*4}

（平成12年4月～平成13年3月），平成13年3月経済産業省製造産業局化学物質管理課に報告

^{*1} 大阪大学先端科学技術共同研究センター

*2 北里大学薬学部

*3 北海道大学獣医学部

*4 呉羽化学工業

平成12年度化学物質総合安全管理のための環境・安全
ファシリテータ育成調査研究報告書:平石次郎*1, 関澤 純,
大島輝夫*2, 織朱實*3, 吉川肇子*4

(平成12年4月～平成13年3月), 平成13年3月経済産業省製造産業局化学物質管理課に報告

*1 化学物質評価研究機構

*2 化学品安全管理研究所

*3 東京海上リスクコンサルティング

*4 慶應義塾大学文学部

三塩化チタンのラットによる急性経口毒性, 急性経皮毒性および皮膚刺激性試験: 鈴木幸子, 川崎 靖, 井上 達
毒物劇物指定調査のための毒性試験(平成9年4月～平成12年3月), 平成12年5月厚生省医薬安全局安全対策課に報告

1,5,9-シクロドデカトリエンのラットによる急性経口毒性, 急性経皮毒性および皮膚刺激性試験: 川崎 靖, 井上 達
毒物劇物指定調査のための毒性試験(平成9年4月～平成12年3月), 平成12年5月厚生省医薬安全局安全対策課に報告

硫化アンモニウム文献調査: 松島裕子, 井上 達
毒物劇物指定調査のための毒性試験(平成9年4月～平成12年3月), 平成12年5月厚生省医薬安全局安全対策課に報告

ニトロベンゼンスルホン酸のラットによる急性経口毒性, 急性経皮毒性および皮膚刺激性試験: 斎藤 実, 川崎 靖, 井上 達
毒物劇物指定調査のための毒性試験(平成9年4月～平成13年3月), 平成13年3月厚生労働省医薬安全局安全対策課に報告

フルオロスルホン酸のラットによる急性経口毒性, 急性経皮毒性および皮膚刺激性試験: 川崎 靖, 井上 達
毒物劇物指定調査のための毒性試験(平成9年4月～平成13年3月), 平成13年3月厚生労働省医薬安全局安全対策課に報告

F344ラットによるフクロノリ抽出物の90日間反復混餌投与毒性試験: 関田清司, 斎藤 実, 梅村隆志, 小川幸男, 川崎 靖, 松島裕子, 内田雄幸, 金子豊蔵, 井上 達
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7月厚生省生活衛生局食品化学課に報告

10,10'-Oxy-bis(phenoxyarsine)のラットにおける急性毒性試験および28日間反復投与毒性試験(強制経口投与試験)(中間報告): 斎藤 実, 梅村隆志, 内田雄幸, 松島裕子, 川崎 靖, 金子豊蔵, 小川幸男, 関田清司, 鈴木幸子, 鹿庭正昭, 土屋利江, 井上 達
家庭用品等調査研究費(平成9年4月～平成10年3月),

平成13年3月厚生労働省医薬局安全対策課に報告

ジョサマイシンのF344ラットにおける慢性毒性試験(最終報告): 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12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F344ラットにおける90日間反復投与毒性試験(最終報告): 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12月 厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

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, 高木広憲, 有村卓朗, 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13年3月), 平成13年5月 厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

N-アセチルグルコサミンの慢性毒性・発がん性併合試験(中間報告): 有村卓朗, 渋谷 淳, 高木広憲, 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12年4月～平成13年3月), 平成13年5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F344ラットにおける長期毒性・癌原性試験(中間報告): 小野寺博志, 三森国敏, 安原加壽雄, 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13年3月 厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

コウジ酸の甲状腺腫瘍誘発メカニズムの解析(最終報告): 小野寺博志, 安原加壽雄, 三森国敏, 広瀬雅雄
食品添加物安全性再評価費(平成8年4月～平成12年3月), 平成13年3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ラットにおける長期毒性・癌原性試験(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13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(最終報告): 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13年3月 厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

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13年3月厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室に報告。

既存添加物の安全性評価に関する調査研究: 黒川雄二, 祖父

尼俊雄, 林 真, 広瀬明彦, 米谷民雄, 山田 隆
食品添加物安全性評価等試験検査費(平成10年4月~平成13年3月), 平成12年12月厚生省生活衛生局食品化学課に報告.

平成12年度試験所間比較による技能試験結果: 四方田千佳子, 田頭洋子, 岡田敏史
厚生本省医薬品等審査業務庁費(平成12年4月~平成13年3月), 平成12年3月厚生労働省医薬安全局監視指導・麻薬対策課に報告.

食品残留農薬告示分析法検討費(農産物中に残留するハロスルフロメチル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12年4月~13年3月), 平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告

残留農薬告示分析法見直し検討会報告, ベンタゾン試験法, フルスルファミド試験法, N-メチルカルバメート系農薬試験法の検討: 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
残留農薬分析再評価検討費(平成12年4月~13年3月), 平成13年4月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告

食品添加物規格基準設定費一試験法の設定及び改良「第7

版食品添加物公定書一タール色素試験法等一の見直し」: 辻澄子, 海野有紀子, 天倉吉章, 外海泰秀
食品等試験検査費(平成12年4月~平成13年3月), 平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告.

食品添加物規格基準設定費一試験法の設定及び改良「食品中食品添加物の分析法一亜硝酸分析法」: 辻澄子, 海野有紀子, 外海泰秀
食品等試験検査費(平成12年4月~平成13年3月), 平成13年4月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告.

食品添加物規格基準設定費一化学的合成品以外の食品添加物の規格基準の設定「天然酸化防止剤『ユーカリ葉抽出物』の成分分析」: 天倉吉章, 辻澄子, 外海泰秀
食品等試験検査費(平成12年4月~平成13年3月), 平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告.

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, 江馬真, 安田峯生^{*1}, 今井 清^{*2}, 石渡尚子^{*3}
厚生科学研究(平成12年4月~平成13年3月), 平成13年3月厚生労働省医薬局食品保健部基準課に報告

^{*1} 広島大学医学部

^{*2} 食品薬品安全センター 秦野研究所

^{*3} 跡見学園大学女子短期大学部

香取典子：糖衣錠データ（糖衣前，糖衣後）の解析結果と工程内試験への適用について

含量均一性試験と重量偏差試験の適用範囲の研究報告会（2000.5）

青柳伸男：品質管理の新しい考え方について スキップ試験，工程内試験，パラメトリックリリースの実施に向けて 第37回全国衛生技術協議会（2000.10）

鹿庭なほ子，石橋無味雄：1999年度溶出試験の技能試験 第37回全国衛生化学技術協議会（2000.10）

鹿庭なほ子：高齢者とくすり
公開講座：第7回環境科学セミナー（2000.10）

鹿庭なほ子：分析法バリデーション
第37回全国薬事指導協議会総会（2000.11）

青柳伸男：我が国の生物学的同等性試験と国際調和
第1回製剤機械技術研究会シンポジウム（2000.12）

鹿庭なほ子：分析法バリデーションと溶出試験
富山県薬事研究会（2001.2）

鹿庭なほ子：生物学的同等性試験関連のガイドラインについて：処方変更，含量違い製剤のガイドライン
後発医薬品の生物学的同等性試験関連のガイドラインに関する講演会（2001.2）

青柳伸男：後発医薬品，剤形が異なる製剤の生物学的同等性試験
後発医薬品の生物学的同等性試験関連のガイドラインに関する講演会（2001.2）

青柳伸男：薬局方製剤試験法の国際調和
三重県薬事研究会（2001.3）

青柳伸男，森原元彦，石井文由，緒方宏泰，瀬田康生：in vitro溶出速度と生物学的同等性との関連—ロキソプロフェンナトリウム製剤
日本薬学会第201年会（2001.3）

石井文由，緒方宏泰，森原元彦，青柳伸男：in vitro溶出速度と生物学的同等性との関連—ニフェジピン製剤
日本薬学会第201年会（2001.3）

森原元彦，青柳伸男，香取典子，鹿庭なほ子，小嶋茂雄，緒方宏泰：日本における無酸症の現状と15年間の推移
日本薬学会第121年会（2001.3）

香取典子，鹿庭なほ子，青柳伸男，小嶋茂雄：日本における市販製剤の含量均一性—実態と局方規格の妥当性
日本薬学会第121年会（2001.3）

青柳伸男：医療用後発医薬品の品質再評価について

日本薬学会第121年会（2001.3）

鹿庭なほ子，石橋無味雄，小嶋茂雄：公的機関を対象とした溶出試験による技能試験
日本薬学会第121年会（2001.3）

青柳伸男：後発医薬品，剤形が異なる製剤の生物学的同等性試験
後発医薬品の生物学的同等性試験関連のガイドラインに関する講演会（2001.4）

鹿庭なほ子：生物学的同等性試験関連のガイドラインについて：処方変更，含量違い製剤のガイドライン
後発医薬品の生物学的同等性試験関連のガイドラインに関する講演会（2001.4）

伊豆津健一，小嶋茂雄：凍結濃縮による生体高分子の相分離と共存物質の影響
低温生物工学会第46年会（2000.6）

Izutsu, K., Kojima S., : **Miscibility of Proteins and Polysaccharides in Frozen Solutions**
2000 Colorado Protein Stability Conference (2000.7)

伊豆津健一，小嶋茂雄：凍結水溶液中におけるタンパク質と低分子添加剤の相分離
日本薬剤学会第16年会（2001.3）

伊豆津健一，小嶋茂雄：タンパク質と添加剤の凍結相分離と凍結乾燥時の安定化作用への影響
日本薬学会第121年会（2001.3）

Izutsu, K., Kojima S., : **Miscibility of Components in Frozen Solutions and Amorphous Freeze-dried Protein Formulations**
The Amorphous State: A Critical Review (2001.5)

Murase, N.¹, Horie, K.¹ and Yoshioka, S.: **Freezing and thawing behavior of polymer gels studied by X-ray diffraction and DSC simultaneous measurements**
ISOPOW 2000, 8th International Symposium on the Properties of water (2000.9)

¹東京電機大学理工学部

Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: **Dependence of Chemical Stability of Aspirin and Cephalothin on Molecular Mobility of Lyophilized Formulations as Determined by 13C-NMR**
American Association of Pharmaceutical Scientists, 2000 Annual Meeting (2000.10)

吉岡澄江，阿曾幸男，小嶋茂雄：13Cおよび1HのT1およびT1ρからみた凍結乾燥製剤の分子運動性
第39回NMR討論会（2000.11）

阿曾幸男，吉岡澄江，小嶋茂雄：NMR緩和時間測定によるハイドロゲル網目サイズの予測

第39回NMR討論会(2000.11)

阿曾幸男, 吉岡澄江, 小嶋茂雄: 非晶質ニフェジピンおよびフェノバルビタールの結晶化速度とガラス転移温度の昇温速度依存性から算出される緩和時間との関係
日本薬学会第16年会(2001.3)

吉岡澄江, 阿曾幸男, 小嶋茂雄: KWW関数を利用したタンパク質凍結乾燥製剤の凝集現象の解析
日本薬学会第121年会(2001.3)

阿曾幸男, 吉岡澄江, 小嶋茂雄: ニフェジピン-PVP 固体分散体の構造緩和時間および誘電緩和時間の測定
日本薬学会第121年会(2001.3)

坂本知昭, 花尻瑠理, 石橋無味雄, 小嶋茂雄: 情報公開に対する国立衛研薬品部の取組み
第37回全国衛生化学技術協議会年会(2000.10)

坂本知昭, 花尻瑠理, 石橋無味雄, 小嶋茂雄: 紫外可視吸収スペクトルによる確認試験への参照スペクトルの導入
日本薬学会第121年会(2001.3)

坂本知昭, 花尻瑠理, 石橋無味雄, 小嶋茂雄: キノロン系抗菌薬の簡易HPLC分析法の開発
日本薬学会第121年会(2001.3)

最所和宏, Karen Scott, 森本鎮義*, 中原雄二: ラット及びヒト毛髪中の Sildenafil (Viagra) 及び脱メチル代謝物の抽出法とGC-MSによる同定と定量
日本薬学会第121年会(2001.3)

*市立岸和田市民病院

Hayakawa, T.: **Perspective on assessing comparability of biotechnology products -A view from Japan-**
Biologics 2000 Conference (2000.6)

Hayakawa, T.: **Perspective on Comparability of Biotechnology Products**
The 3rd International Conference, Strategic Use of Comparability Studies and Assays for Well Characterized Biologicals (2000.9)

Hayakawa, T.: **Specifications for Biotechnological Substances**
The Fifth International Conference on Harmonisation (2000.11)

Hayakawa, T.: **Biotech Process Evaluation**
The Fifth International Conference on Harmonisation (2000.11)

日向須美子, 川崎ナナ, 日向昌司, 太田美矢子, 柴山理恵, 川西 徹, 山形貞子*, 山形達也*, 早川堯夫: HGFで誘導される高転移性癌細胞の運動能のガングリオシドGD1aによる抑制機構
第59回日本癌学会総会(2000.10)

*財日本皮革研究所

川崎ナナ, 太田美矢子, 伊藤さつき, 配島由二, 日向昌司,

日向須美子, 早川堯夫: LC/MSによるエリスロポエチンの硫酸化糖鎖の解析
日本薬学会第121年会(2001.3)

太田美矢子, 川崎ナナ, 伊藤さつき, 日向昌司, 日向須美子, 早川堯夫: 糖タンパク質性医薬品の同等性・同質性評価法としてのLC/MSの有用性
日本薬学会第121年会(2001.3)

伊藤さつき, 川崎ナナ, 太田美矢子, 日向昌司, 日向須美子, 早川堯夫: LC/MSを用いた組換え型ヒトトロポモジュリンの糖鎖解析
日本薬学会第121年会(2001.3)

日向昌司, 川崎ナナ, 太田美矢子, 伊藤さつき, 日向須美子, 早川堯夫: GlcNAc転移酵素III遺伝子導入による組換えフォリスタチンの糖鎖構造の改変
日本薬学会第121年会(2001.3)

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存在するトランスフェリン受容体(Trf-R)陽性細胞及び陰性細胞の分化・増殖におけるp70 S6キナーゼの役割とその上流の解析
第21日本炎症学会(2000.5)

豊田淑江, 山口照英, 押澤正, 内田恵理子, 早川堯夫: HL-60細胞の好中球分化への機能成熟や増殖におけるp70 S6キナーゼ(p70S6K)カスケードの役割についての解析
第73回日本生化学大会(2000.10)

豊田淑江, 山口照英, 押澤正, 内田恵理子, 早川堯夫: HL-60細胞の好中球分化への機能成熟や増殖におけるp70 S6キナーゼ(p70S6K)カスケードの役割についての解析
第30回日本免疫学会総会(2000.11)

川西 徹, 柴山理恵, 河合 洋, 大幡久之*, 百瀬和享*, 早川堯夫: 細胞内カルシウムイオン貯蔵へのトリブチル錫の影響
第9回日本バイオイメーキング学会学術集会(2000.11)
*昭和大学薬学部

川西 徹: カルシウムイオンダイナミクスを見る: 生命の躍動
第20回東邦大学生命科学シンポジウム(2000.12)

田中 光*, 河合 洋, 柴山理恵, 水口裕之, 川西 徹, 早川堯夫, 田中直子*, 重信弘毅*: アデノウィルスベクターを用いた培養心筋および肝細胞へのGFPおよびカメレオン遺伝子導入の試み
第74回日本薬理学会年会(2001.3)
*東邦大学薬学部

河合 洋, 柴山理恵, 水口裕之, 川西 徹, 田中 光*, 田中直子*, 重信弘毅*, 早川堯夫: アデノウィルスベクターを用いた初代培養肝細胞へのCa²⁺プローブの導入
日本薬学会第121年会(2001.3)

*東邦大学薬学部

川西 徹, 河合 洋, 柴山理恵, 水口裕之, 田中 光*, 田中直子*, 重信弘毅*, 早川堯夫: 生細胞の機能を視るプローブ—その光と影—

日本電子顕微鏡学会第57回学術講演会シンポジウム (2001.5)

*東邦大学薬学部

Mizuguchi, H., Kay, M.A.*, Hayakawa, T.: **A simplified system for constructing recombinant adenoviral vectors containing heterologous peptides in the HI loop of their fiber knob**
American Society of Gene Therapy, 3rd Annual Meeting (2000.6)

*Stanford University

水口裕之, 細野哲司, 早川堯夫: アデノウイルスベクター作製技術と次世代ベクターへの応用

第3回 Cell Biology Summer Meeting (2000.6)

Mizuguchi, H., Hosono, T., Hayakawa, T.: **A Simplified System to Construct Fiber-Mutant Adenovirus Vectors for Retargeted Gene Delivery**

第6回日本遺伝子治療学会総会 (2000.7)

Nagayama, Y.¹, Namba, H., Yokoi, H.¹, Hasegawa, M.², Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Hamada, H.³, Yamashita, S.¹, Niwa, M.¹: **Targeting the replication of adenovirus to p53-defective thyroid carcinoma with a p53-responsive promoter and the cre-loxP system**

第6回日本遺伝子治療学会総会 (2000.7)

¹長崎大学医学部

²ディナベック研究所

³札幌医科大学

水口裕之, 早川堯夫: ターゲティングに応用可能な新規アデノウイルスベクターの開発

第16回日本DDS学会 (2000.7)

Uchida, E., Hayakawa, T.: **Quality and safety evaluation of gene therapy products in Japan**

The 4th annual KFDA international symposium, Gene Therapeutic Agents—Past, Present, and Future (2000.9)

水口裕之, 早川堯夫: アデノウイルスベクター作製技術と次世代ベクターへの応用

第59回日本癌学会総会 (2000.9)

大森信彦¹, 水口裕之, 秋田朗子¹, 星川裕¹, 下重美紀¹, 早川堯夫, 高坂新一², 芝崎 太¹: ファイバーミュータントアデノウイルスベクターを用いた, ミクログリアへの遺伝子導入

第23回日本神経科学大会・第10回日本神経回路学会大会合同大会 (2000.9)

¹東京都臨床医学総合研究所

²国立精神・神経センター

内田恵理子, 水口裕之, 石井(渡部)明子, 日向昌司, 早川堯夫: プラスミドの複製, 安定性に関するヒトDNA配列の探索

第73回日本生化学会大会 (2000.10)

岡田直貴¹, 森 宏平¹, 斎藤友美¹, 藤田卓也¹, 山本 昌¹, 塚田有希子², 中川晋作², 真弓忠範², 水口裕之, 早川堯夫: ファイバーミュータントアデノウイルスベクターを用いた樹状細胞への効率的な遺伝子導入

第50回日本薬学会近畿支部総会 (2000.10)

¹京都薬科大学

²大阪大学大学院薬学研究科

塚田有希子¹, 中川晋作¹, 岡田直貴², 森 宏平², 斎藤友美², 藤田卓也², 山本 昌², 水口裕之, 早川堯夫, 真弓忠範¹: 樹状細胞への効率的な遺伝子導入を目指したアデノウイルスベクターの開発

日本バイオマテリアル学会シンポジウム2000 (2000.11)

¹大阪大学大学院薬学研究科

²京都薬科大学

Mizuguchi, H., Hayakawa, T.: **Improvement of Adenovirus Vectors for Gene Transfer**

The Thirteenth Annual Meeting of the Japanese Association for Animal Cell Technology (2000.11)

水口裕之, 早川堯夫: 新規アデノウイルスベクターシステムの開発

第23回日本分子生物学会 (2000.12)

Nakagawa, S.*, Imazu, S.*, Hayashi, K.*, Tsuda, Y.*, Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Mayumi, T.*: **Cancer immunotherapy using fusogenic liposome as a gene transfer vector**

The 5th Joint Conference of AACR and JCA (2001.2)

*大阪大学大学院薬学研究科

水口裕之, 早川堯夫: 次世代アデノウイルスベクターの開発
日本薬学会121年会 (2001.3)

徐 志利, 水口裕之, 石井(渡部)明子, 内田恵理子, 真弓忠範*, 早川堯夫: 各種転写活性化因子の系統的機能評価と最適なプラスミドベクターの開発

日本薬学会121年会 (2001.3)

*大阪大学大学院薬学研究科

小泉直也, 水口裕之, 細野哲司, 瓶子宣子, 村井 淳, 宇都口直樹*, 渡辺善照*, 早川堯夫: RGD配列を有したファイバーミュータントアデノウイルスベクターの有効性—ヒト, マウス由来細胞株における検討—

日本薬学会121年会 (2001.3)

*昭和薬科大学

津田育宏¹, 中川晋作¹, 塚田有希子¹, 水口裕之, 早川堯夫, 中山隆史², 義江 修², 真弓忠範¹: ケモカインを用いた癌免疫療法に関する基礎的検討

日本薬剤学会第16年会 (2001.3)

*1 大阪大学大学院薬学研究科

*2 近畿大学医学部

井上暢子^{*1}, 岡田裕香^{*2}, 中川晋作^{*1}, 岡田直貴^{*3}, 水口裕之, 早川堯夫, 真弓忠範^{*1}: 癌サイトカイン遺伝子治療における次世代型ファイバーミュータントアデノウイルスベクターの有用性

日本薬剤学会第16年会 (2001.3)

*1 大阪大学大学院薬学研究科

*2 武庫川女子大学薬学部

*3 京都薬科大学

岡田直貴^{*1}, 森 宏平^{*1}, 斎藤友美^{*1}, 舛永安繁^{*1}, 藤田淳子^{*1}, 塚田有希子^{*2}, 中川晋作^{*2}, 真弓忠範^{*2}, 水口裕之, 早川堯夫, 藤田卓也^{*1}, 山本 昌^{*1}: ファイバーミュータントアデノウイルスベクターによる樹状細胞への遺伝子導入効率と機能修飾

日本薬剤学会第16年会 (2001.3)

*1 京都薬科大学

*2 大阪大学大学院薬学研究科

岡田直貴^{*1}, 森 宏平^{*1}, 斎藤友美^{*1}, 舛永安繁^{*1}, 藤田淳子^{*1}, 塚田有希子^{*2}, 中川晋作^{*2}, 真弓忠範^{*2}, 水口裕之, 早川堯夫, 藤田卓也^{*1}, 山本 昌^{*1}: 次世代型アデノウイルスベクターによる樹状細胞への遺伝子導入

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*1 京都薬科大学

*2 大阪大学大学院薬学研究科

塚田有希子^{*1}, 中川晋作^{*1}, 岡田直貴^{*2}, 森 宏平^{*2}, 斎藤友美^{*2}, 藤田卓也^{*2}, 山本 昌^{*2}, 水口裕之, 早川堯夫, 真弓忠範^{*1}: 樹状細胞を用いた癌免疫療法における次世代型アデノウイルスベクターの有用性評価

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*1 大阪大学大学院薬学研究科

*2 京都薬科大学

佐竹元吉: 世界の薬用植物 - WHOの動き -

日本薬学会第121年会 (2001.3)

森原直明^{*1}, 牛島光保^{*1}, 榎本尚樹^{*1}, 許栄海^{*1}, 春日繁男^{*1}, 荒川正人^{*1}, 黒柳正典^{*2}, 関田節子, 佐竹元吉: マウスの湯温負荷精巢障害モデルを用いた強精生薬の探索研究(2)イカリソウおよびニンニクの精子形成作用

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*1 湧永製薬

*2 広島県大

黒柳正典^{*1}, 杜 暁^{*1}, 松浦広道^{*2}, 川原信夫: サワラ *Chamaecyperis pisifera* の抗菌活性物質

日本生薬学会第47年会 (2000.9)

*1 広島県大

*2 湧永製薬

佐竹元吉, 中根孝久, 淵野裕之, 川原信夫, 尹永淑, 鎌倉浩之, 関田節子: 未規制薬物の乱用防止に関する研究(5)

日本生薬学会第47年会 (2000.9)

増田和夫^{*1}, 高野昭人^{*1}, 内田夕美子^{*1}, 上田博之^{*1}, 塩島憲治^{*1}, 川原信夫, 中根孝久, 関田節子, 佐竹元吉, Kuber J. Malla^{*}: シダ植物成分: ネパール産 *Aleuritopteris anceps* の新規セスターテルペノイド(4)

日本生薬学会第47年会 (2000.9)

*1 昭和薬科大

*2 ネパール植物資源局

山崎勝弘^{*}, 川口正美^{*}, 起橋雅浩^{*}, 関田節子, 佐竹元吉: 漢方製剤中に混入するアリストロキア酸の迅速分析法

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*大阪府公衛研

高上馬希重, 飯田 修, 栗原孝吾, 山田和也, 関田節子, 佐竹元吉: *Cinnamomum* 属植物における non-coding trnL-trnF chloroplast DNA に基づく種間変異

日本薬学会第121年会 (2001.3)

奥山恵美^{*1}, 嶋村 健^{*1}, 永松千加子^{*1}, 藤本治宏^{*1}, 石橋正己^{*1}, 関田節子, 佐竹元吉, J.Ruiz^{*2}, F.Ayala Flores^{*2}, S. Yuenyongsawad^{*3}: PG拮抗活性並びにDPPH試験を指標としたペルー民間薬 Chuchuhuashi の活性成分

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*1 千葉大薬

*2 HEA-Peru

*3 Prince of Songkla Univ.

安田一郎^{*1}, 中嶋順一^{*1}, 畠山好雄, 関田節子, 佐竹元吉: 未規制薬物の乱用防止に関する研究(5) アルカロイドに基づくウバタマ植物の化学的分類

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*1 都立衛研

小島 尚^{*}, 土井佳代^{*}, 岸美智子^{*}, 佐藤修二^{*}, 関田節子, 佐竹元吉: 未規制薬物の乱用防止に関する研究(7) メラトニン含有サプリメントの品質について

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*神奈川衛研

後藤智美^{*1}, 三上栄一^{*1}, 大野 勉^{*1}, 松本 浩^{*1}, 金森久幸^{*2}, 関田節子, 佐竹元吉: 未規制薬物の乱用防止に関する研究(8) 健康食品に添加が疑われる7種の向精神薬の同時分析

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*1 愛知県衛生研

*2 広島県保環センター

金森久幸^{*}, 豊田安基江^{*}, 松尾 健^{*}, 井手吉範久^{*}, 関田節子, 佐竹元吉: 未規制薬物の乱用防止に関する研究(9) イチヨウ葉製品中の ginkgolic acid 類および 4-O-methyl-pyridoxine の分析

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*広島県保環センター

Hiroyuki Fuchino, Marii Takahashi, Tatsuo Koide, Setsuko Sekita

and Motoyoshi Satake : **LEISHMANICIDAL CONSTITUENTS FROM MEDICINAL PLANTS IN SOUTH AMERICA**

22nd IUPAC International Symposium on the Chemistry of Natural Products, (2000. 9)

瀧野裕之, 小出達夫, 高橋真理衣, 関田節子, 佐竹元吉: 抗リーシュマニア活性を有する薬用植物の成分研究(1) 南米産薬用植物の成分について

日本薬学会第121年会 (2001.3)

尾崎幸絃: 類似生薬の医薬品としての同等性についての評価方法についての研究

第七回中国薬理学会中薬薬理討論会, 中国西安 (2000.10)

Nobuo Kawahara, Atsuyo Kurata*, Maiko Tsuru*, Kazu Sasai*, Takashi Hakamatsuka*, Setsuko Sekita and Motoyoshi Satake : **NOVEL CUCURBITACINS FROM THE BRAZILIAN FOLK MEDICINE "BUCHINHA" (*LUFFA OPERCULATA*)**.

22nd IUPAC International Symposium on the Chemistry of Natural Products, (2000. 9)

*東京理科大・薬

川原信夫, 野沢雅人^{*1}, 関田節子, 佐竹元吉, 萩原 勲^{*1}, 倉田敦代^{*1}, 笹井加都^{*1}, 水流真依子^{*1}, 富野浩充^{*1}, 袴塚高志^{*1}, 河合賢一^{*2}: 細胞内情報伝達系に作用する南米産薬用植物の成分研究

第42回天然有機化合物討論会 (2000.11)

*¹ 東京理科大・薬

*² 星薬大

袴塚高志*, 水流真依子*, 倉田敦代*, 笹井加都*, 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生物活性化合物の探索

第20回メディシナルケミストリーシンポジウム (2000.12)

*東京理科大・薬

川原信夫: 第14改正日本薬局方と中華人民共和国薬典2000年版の比較一試験法と規格値について一

第5回薬局方生薬に関する日中国際共同シンポジウム (2001.2)

増田和夫*, 高野昭人*, 内田夕美子*, 上田博之*, 塩島憲治*, 川原信夫, 中根孝久, 関田節子, 佐竹元吉: シダ植物成分: ネパール産 *Aleuritopteris anceps* の新規セスターテルペノイド(5)

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*昭和薬科大

増田和夫*, 伊藤卓也*, 中根孝久, 川原信夫, 清谷多美子*, 上田博之*, 塩島憲治*: シダ植物成分: 台湾産アヤマメシダの C31 新規トリテルペノイド炭化水素

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*昭和薬科大

黒柳正典^{*1}, 川原信夫, 関田節子, 佐竹元吉, 林 達男^{*2}: ブラジル産植物 *Cordia multispicata* の成分(2)

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*¹ 広島県立大

*² ㈱ライオン

川原信夫, 佐藤亜希*, 袴塚高志*, 関田節子, 佐竹元吉: 骨代謝関連遺伝子の発現変調活性を有するブラジル産薬用植物 *Canna angustifolia* の成分研究

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*東京理科大・薬

中根孝久, 川原信夫, 瀧野裕之, 関田節子, 佐竹元吉: 未規制薬物の乱用防止に関する研究(6) - GBH, GBL, BD 及び AMT の分析 -

日本薬学会第121年会 (2001.3)

李書淵, 瀧野裕之, 高橋真理衣, 川原信夫, 関田節子, 佐竹元吉: 抗リーシュマニア活性を有する薬用植物の成分研究(2) *Smilax* 属のフェノール性成分について

日本薬学会第121年会 (2001.3)

鎌倉浩之, 関田節子: 放射線照射による生薬の成分変化 第8回生薬の品質保証に関する研究会 (2000. 9)

Kamakura, H., Hirano, T^{*1}, Ito, H^{*2}, Sunaga, H^{*1}, Takizawa, H^{*1}, Takatani, Y^{*1}, Sekita, S., Satake, S.: **Studies on the Sterilization Methods for the Crude Drugs Possibility of EB Machine for Decontamination of Crude Drugs and Influence on the Components of Crude Drugs by Irradiation**

12th International Meeting on Radiation Processing (2001.3)

*¹ Communication Systems Center, MITSUBISHI ELECTRIC CORPORATION

*² Takasaki Establishment, Japan Atomic Energy Research Institute, Japan

Osamu Shirota, Sekita Setsuko, Motoyoshi Satake : **Study on the chemical constituents of Amazonian medicinal plants**

International Congress on Traditional Medicine (2001.1)

代田 修, 中西香爾^{*1}, Nina Berova^{*1}: ファイトスフィンゴシンの合成と分光分析法による立体異性体識別

第121回日本薬学会年回 (2001.3)

*¹ コロンビア大学

尹 永淑, 杉本直樹, 米谷民雄, 関田節子, 佐竹元吉: たばこの成分研究(4)

日本生薬学会第47回年会 (2000.9)

李 宜融, 高上馬希重, 飯田 修, 関田節子, 佐竹元吉, 牧野由紀子^{*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(3) *Cannabis sativa* の染色体数の変異

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*¹ 関東麻取

*² 日大生物資源科学部

下村裕子, 関田節子, 佐竹元吉, 徳川斉正^{*1}, 徳川真木^{*1}:

徳川家康の薬「烏犀圓」Ⅲ

日本生薬学会第47回年会(2000.9)

*¹水府明德会彰考館徳川博物館下村裕子, 関田節子, 佐竹元吉, 徳川斉正*¹, 徳川真木*¹:

徳川家康の薬「烏犀圓」Ⅳ

日本薬学会第121年会(2001.3)

*¹水府明德会彰考館徳川博物館

土屋利江, 板橋由佳, 坂井正宗*: 組織工学的材料の生体適合性評価(1)ポリ乳酸等の軟骨分化に及ぼす効果

日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2000(2000.11)

*宇部興産

土屋利江: 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

創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業(第1期)研究成果発表会(2001.3)

Toshie Tsuchiya, Tadahiko Mashino*: **A remarkable promoting action of an aqueous fullerene derivative on the chondrogenesis in rat limb bud cell culture system**

Third biennial meeting of the tissue engineering society(2000.10)

*共立薬科大

Toshie Tsuchiya, Yuka Itahashi, Tomoko Ichikawa: **Studies on the Biocompatibility of artificial organs and tissue engineered products: Embryonic neuronal cell differentiation on the various kinds of biodegradable polymers**

The 13th annual meeting of the Japanese association for animal cell technology(2000.11)

Aikra Ichikawa, Toshie Tsuchiya: **Reversion of transformed phenotype of polyetherurethane-induced tumor cells by Cx43 transfection**

The 13th annual meeting of the Japanese association for animal cell technology(2000.11)

市川 明, 土屋利江: ギャップ結合タンパク質コネキシン43の過剰発現は化学発癌物質に対する感受性を高める
第23回日本分子生物学会年会(2000.12)

朴 正雄, 土屋利江: バイオ人工臓器開発のための多糖類の安全性評価

第49高分子討論会(2000.9)

朴 正雄, 土屋利江: 多糖類を応用したバイオ人工臓器開発における *in vitro* での安全性評価

日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2000(2000.11)

Muhammad Shahidur Rahman, Toshie Tsuchiya: **In vitro culture of human chondrocytes (1): Effects of factors on chondrogenesis for tissue engineering**

日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2000(2000.11)

Muhammad Shahidur Rahman, Toshie Tsuchiya: **Studies on the****enhancement of chondrogenic differentiation of human chondrocytes for tissue engineering**

The 13th annual meeting of the Japanese association for animal cell technology(2000.11)

長田和浩, 土屋利江, 市川 明, Muhammad Shahidur Rahman: 人工臓器を生体に適用する際に引き起こされる免疫原性の評価系の確立と応用に関する研究

日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2000(2000.11)

角出泰造, 土屋利江: コンタクトレンズ用化学消毒剤の細胞間連絡機能に及ぼす影響

日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2000(2000.11)

角出泰造, 土屋利江: コンタクトレンズ用化学消毒剤の細胞間連絡機能に及ぼす影響

第3回眼科生体材料研究会(2000.11)

齋島由二, 村井敏美, 中川ゆかり, 長谷川千恵, 平田陸正*, 矢上 健, 中村晃忠: 天然医用材料由来創傷被覆材のエンドトキシン汚染調査

日本薬学会第121年会(2001.3)

*岩手医科大

矢上 健: ラテックスアレルギーやOASに関わる交叉反応性抗原

第5回日本ラテックスアレルギー研究会(2000.7)

杉本真純*¹, 大砂博之*¹, 比江森美樹*², 小川 正*³, 矢上 健, 池澤善郎*¹: ラテックスアレルギー患者とアトピー性皮膚炎患者におけるヘパインの血清IgE値と皮膚ブリック試験
第5回日本ラテックスアレルギー研究会(2000.7)*¹横浜市立大学医学部*²徳島大学医学部*³京都大学食糧科学研究所Kitagawa, K.*¹, Fujiwara, H.*¹, Futaki, S.*², Yagami, T.: **Total synthesis of cholecystokinin-58 by a thioester segment condensation approach**

26th European Peptide Symposium(2000.9)

*¹新潟薬科大学*²京都大学化学研究所Sugimoto, M.*¹, Osuna, H.*¹, Yamamoto, M.*¹, Okajima, M.*¹, Onuma, S.*¹, Tsubaki, K.*², Yagami, T., Ikezawa, Z.*¹: **A role of pathogenesis-related proteins in patients with latex allergy and atopic dermatitis**

XVII International Congress of Allergology and Clinical Immunology(2000.10)

*¹横浜市立大学医学部*²アレルギー・フリーテクノロジー研究所鹿庭正昭, 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: 着色剤の役割
第37回全国衛生化学技術協議会(2000.10)

中島晴信^{*1}, 松永一朗^{*1}, 宮野直子^{*1}, 宮内留美^{*2}, 糴川日出男^{*2}, 増田ゆり^{*2}, 伊佐間和郎, 五十嵐良明, 鹿庭正昭: 抗菌加工剤の安全性評価(22)―大阪府における抗菌製品の市場実態調査(1991～1999)―

第37回全国衛生化学技術協議会年会 (2000.10)

^{*1}大阪府立公衆衛生研究所

^{*2}大阪府健康福祉部

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の原因究明: 染料アレルギー C. I. Solvent Orange 60 及び C.I.Solvent Red 179

第25回日本接触皮膚炎学会 (2000.12)

鹿庭正昭, 五十嵐良明: 抗菌剤・抗菌製品の使用実態と健康被害事例

第25回日本接触皮膚炎学会 (2000.12)

秋元留理^{*1}, 三嶋絵美^{*1}, 知念多恵子^{*1}, 阿部典子^{*1}, 鷲崎久美子^{*1}, 関東裕美^{*1}, 伊藤正俊^{*1}, 鹿庭正昭: ゴム膝ベルトによる接触皮膚炎の1例

第25回日本接触皮膚炎学会 (2000.12)

^{*1}東邦大学医学部大森病院皮膚科

角田孝彦^{*1}, 鹿庭正昭: めがねの先セル・フレームの染料による接触皮膚炎の1例

第25回日本接触皮膚炎学会 (2000.12)

^{*1}山形市立病院済生館皮膚科

鹿庭正昭: ワークショップ4「接触皮膚炎: 化学物質を中心に」: 2c. アレルゲン解明の実際―ゴム製品―

第13回日本アレルギー学会春季臨床大会 (2001.5)

中出伸一^{*1}, 鹿庭正昭, 池田尚之^{*2}, 宮本芳明^{*3}, 金丸英次^{*4}, 神原昭夫^{*5}, 志野木達也^{*6}, 対馬恭吾^{*7}, 戸井裕典^{*8}, 富樫博靖^{*9}, 林 正治^{*9}: ラテックス製品溶出蛋白質レベルと被患者のアレルギー反応性

2001年日本ゴム協会年次大会 (2001.5)

^{*1}ラテックスアレルギーフォーラム

^{*2}三興化学工業

^{*3}住友ゴム工業

^{*4}不二ラテックス

^{*5}ダンロップホームプロダクツ

^{*6}ジェクス

^{*7}オカモト

^{*8}エステー化学

^{*9}花王

中出伸一^{*1}, 鹿庭正昭, 池田尚之^{*2}, 宮本芳明^{*3}, 金丸英次^{*4}, 神原昭夫^{*5}, 志野木達也^{*6}, 対馬恭吾^{*7}, 戸井裕典^{*8}, 富樫博靖^{*9}: 市販ラテックス製品の溶出蛋白質レベル調査結果

2001年日本ゴム協会年次大会 (2001.5)

^{*1}ラテックスアレルギーフォーラム

^{*2}三興化学工業

^{*3}住友ゴム工業

^{*4}不二ラテックス

^{*5}ダンロップホームプロダクツ

^{*6}ジェクス

^{*7}オカモト

^{*8}エステー化学

^{*9}花王

五十嵐良明, 鎌田栄一, 鹿庭正昭, 中村晃忠: ホルムアルデヒドの吸入暴露によるマウスの化学物質に対するアレルギー反応性の増強

第27回日本トキシコロジー学術年会 (2000.6)

金澤由基子^{*}, 松田 洋^{*}, 松岡千明^{*}, 五十嵐良明, 鹿庭正昭, 小島幸一^{*}, 田中憲徳^{*}: 医用材料の安全性評価のための感作性試験における試験条件の比較検討

第27回日本トキシコロジー学術年会 (2000.6)

^{*}財食品薬品安全センター秦野研究所

五十嵐良明, 鹿庭正昭: 人工皮革中の抗菌剤 10,10'-oxybis-10H-phenoxarsine の分析

第37回全国衛生化学技術協議会年会 (2000.10)

米鴻斌^{*}, 平本一幸^{*}, 五十嵐良明, 菊川清見^{*}: 接触性皮膚炎に対するNO₂暴露及び食品中のVEの影響

フォーラム2000: 衛生薬学・環境トキシコロジー (2000.10)

^{*}東京薬科大学

伊佐間和郎, 土屋利江: PLLAの Maus及びヒト骨芽細胞の分化過程に及ぼす影響の差異

日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2000 (2000.11)

中岡竜介, 土屋利江: 微粒子状物質のヒト骨芽細胞機能への影響に関する研究: 細胞間連絡機能と骨分化に対する影響

日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2000 (2000.11)

中岡竜介, 土屋利江: 細胞間連絡機能を指標とした材料の生体融和性評価: 微粒子状物質による骨分化機能との関連性について

生体融和材料シンポジウム (2001.2)

佐藤道夫: 世界のインプラント・データシステム

第15回日本眼内レンズ屈折手術学会 (2000.6)

佐藤道夫: イントラネット医療用具関連データベースの作成

第37回全国衛生化学技術協議会年会 (2000.10)

林 譲: FUMI理論による精度予測

第40回日本臨床化学学会年会 (2000.10)

新谷英晴: 医療用具に使用されるポリウレタンの生体適合性

インド生体材料人工臓器学会 (2000.12)

新谷英晴: 無菌性保証に使用される生育培地性能ならびに生物指標の性能のばらつきの原因について

PDA年次大会 (2001.2)

新谷英晴：医療用具への各種滅菌に拠る素材分解と品質保証の確保

第16回GMPとバリデーションをめぐる諸問題に関するシンポジウム(2001.3)

新谷英晴：滅菌保証と品質保証の同時確保の困難さについて—各種滅菌に拠る人工透析器からのビスフェノールA、ステレンオリゴマーならびにシクロステレンオリゴマーの生成ならびに溶出について

第28回防菌防黴学会(2001.5)

新谷英晴：滅菌保証と品質保証の同時確保の困難さについて—各種滅菌に拠る人工透析器ポッティング剤からの毒性化合物メチレンジアニリンの生成ならびに溶出について

第28回防菌防黴学会(2001.5)

豊田正武：食品中有害物質等の分析並びに摂取量評価に関する衛生化学的研究

日本食品衛生学会第81回学術講演会(2001.5)

佐々木久美子：食品中の残留農薬分析法の精度評価に関する研究

日本食品衛生学会第81回学術講演会(2001.5)

根本了, 高附巧, 佐々木久美子, 今中雅章^{*1}, 村上恵美子^{*2}, 植田英一^{*2}, 豊田正武:食品中のビスフェノールAの分析法の検討

日本食品衛生学会第80回学術講演会(2000.11)

^{*1}岡山県環境保健センター

^{*2}北九州市環境科学研究所

根本了, 佐々木久美子, 豊田正武:食品中の2,4,6-トリ tert-ブチルフェノール及び関連化合物の分析

日本食品衛生学会第81回学術講演会(2001.5)

高附巧, 佐々木久美子, 豊田正武:米・穀類中のアシベンゾラル-S-メチル及び分解物アシベンゾラル酸の分析法の検討

第37回全国衛生化学技術協議会年会(2000.10)

Tsutsumi, T., Iida, T.^{*1}, Hori, T.^{*1}, Yanagi, T.^{*2}, Kono, Y.^{*2}, Uchibe, H.^{*2}, Toyoda, M.: Levels of PCDDs, PCDFs and Co-PCBs in fresh and cooked leafy vegetables in Japan

20th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants & POPS(2000.8)

^{*1}Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences

^{*2}Japan Food Research Laboratories

五十嵐敦子, 松田りえ子, 豊田正武:食品汚染物モニタリング調査結果の新規データベース化について

第37回全国衛生科学技術協議会年会(2000.10)

林 讓, 松田りえ子, 岩木和夫*, 大羽 宏*, 勝峰万里*, 小澤さやか*: FUMI理論を用いたGC/HRMSによるダイオキシン類の検出下限の予測

第9回環境化学討論会(2000.6)

*荏原製作所

Hayashi, Y., Matsuda, R., Katsumine, M.^{*}, Iwaki, K.^{*}, Tagashira, Y., Yomota, C.: Comparison of approaches to confidence intervals of linear calibration

220th ACS National Meeting(2000.8)

松田りえ子, 林 讓, 豊田正武: LC/MSの測定精度

第11回クロマトグラフィー科学会議(2000.10)

小谷 明*, 林 讓, 松田りえ子, 楠 文代*: FUMI理論による電気化学検出HPLCの精度予測

第46回ポーラログラフイおよび電気化学討論会(2000.12)

*東京薬科大学

松田りえ子: FUMI理論による機器分析の測定精度の予測

日本農薬学会第26回大会(2001.3)

浦田真軌^{*1}, 牛山慶子^{*1}, 井草京子^{*1}, 宮崎奉之^{*1}, 堀江正一^{*2}, 村山三徳, 豊田正武: HPLCによる鶏組織中, 抗コキシウム剤, シクラズリル, ナイカルバジンの簡易同時分析法

日本食品衛生学会第80回学術講演会(2000.11)

^{*1}東京都立衛生研究所

^{*2}埼玉県衛生研究所

村山三徳, 豊田正武, 宮崎奉之^{*1}, 堀江正一^{*2}: 畜産物中のトリクラベンダゾールの分析

日本食品衛生学会第80回学術講演会(2000.11)

^{*1}東京都立衛生研究所

^{*2}埼玉県衛生研究所

近藤一成, 栗原正明, 宮田直樹, 鈴木 隆, 豊田正武: カテキンの抗酸化作用におけるC-2位プロトンの重要性

第22回磁気共鳴医学会, 第4回SFRR JAPAN合同学会(2000.6)

Kondo, K., Uchida, R., Tokutake, S., Suzuki, T., Toyoda, M.: Production of nitric oxide by proanthocyanidin extracted from grape seed in mast cell line RBL-2H3

10th the International Society for Free Radical Research(2000.10)

近藤一成, 内田理一郎, 徳武昌一, 豊田正武: ブドウ種子由来プロアントシアニン高分子画分の抗アレルギー活性

第80回日本食品衛生学会(2000.11)

近藤一成, 内田理一郎, 徳武昌一, 豊田正武: ブドウ種子由来プロシアニン高分子画分のRBL-2H3細胞からの脱顆粒抑制作用について

日本薬学会第121年会(2001.3)

Sakushima, J., Okunuki, H., Akiyama, H., Goda, Y., Toyoda, M., Teshima, R., Sawada, J.: Examination of active systemic anaphylaxis in oral immunized-mast cell deficient mice

18th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology(2000.7)

Morimoto, T*, Yamada, M*, Nakamura, M*, Goda, Y.: **Analysis of subsidiary colors in Tartrazine**

The 114th AOAC International annual meeting (2000.9)

* San-Ei Gen FFI. Inc.

合田幸広：遺伝子組換え食品の検知について

第37回全国衛生化学技術協議会年会 (2000.10)

合田幸広, 柿原芳輝, 佐々木真紀子, 穂山 浩, 松岡 猛*, 日野明寛*, 豊田正武: トウモロコシ穀粒からの組換え遺伝子検知について

第37回全国衛生化学技術協議会年会 (2000.10)

*農水省食品総合研究所

佐久嶋順一郎, 松浪優哉, 穂山 浩, 合田幸広, 庄司俊彦*, 中川圭一*, 古庄義明*, 豊田正武: リンゴ未熟果由来プロシアニジンの抗アレルギー活性—その重合度とタンパク結合性—

日本食品衛生学会第80回学術講演会 (2000.11)

*ニッカウキスキー(株)生産技術研究所

*ジールサイエンス

合田幸広：遺伝子組換え食品の検知について

日本食品衛生学会特別シンポジウム (2000.11)

寺原典彦*, 合田幸広: 紫甘藷マイナーアントシアニンについて

日本農芸化学会2000年西日本支部会 (2000.11)

*南九州大学園芸学部

Hino, A*, Matsuoka T*, Kuribara, H*, Goda, Y., Toyoda, M.: **Labeling in Japan and detection methods for GM-Foods**

Joint workshop on method developments in relation to regulatory requirements concerning GMOs in the food chain (2000.12)

* National Food Research Institute, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries

佐久嶋順一郎, 松浪優哉, 穂山 浩, 庄司俊彦*, 古庄義明*, 神田智正*, 中川圭一*, 合田幸広, 豊田正武: リンゴ未熟果由来プロシアニジンの抗アレルギー活性の解析

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*ニッカウキスキー(株)生産技術研究所

*ジールサイエンス

合田幸広, 浅野卓哉, 青柳有美, 穂山 浩, 松岡 猛*, 日野明寛*, 豊田正武: 輸入トウモロコシ試料の組換え品種別含量について

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*農水省食品総合研究所

庄司俊彦*, 六鹿元雄, 神田智正*, 柳田顕郎*, 中川圭一*, 佐久嶋順一郎, 穂山浩, 合田幸広, 豊田正武: リンゴ中のプロシアニジン成分の構造解析

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*ニッカウキスキー(株)生産技術研究所

六鹿元雄, 坂野勇一*, 菅沼大行*, 猪熊隆博*, 合田幸広, 渋谷雅明*, 海老塚豊*, 豊田正武: サトイモ中に含まれるヒト由来ラノステロール合成酵素阻害成分の検討

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*1 東京大学大学院薬学系研究科

*2 カゴメ(株)総合研究所

日野明寛*, 松岡 猛*, 栗原秀夫*, 合田幸広, 豊田正武, 進藤洋一郎*, 吉村倫彰*, 小川真智子*, 布藤 聡*: 遺伝子組換え農作物の新しい定量分析法の開発

日本農芸化学会2001年大会 (2001.3)

*1 農水省食品総合研究所

*2 アサヒビール(株)研究開発本部

*3 日本製粉(株)中央研究所

庄司俊彦*, 柳田顕郎*, 神田智正*, 合田幸広, 中川圭一*: 果実酒中のアントシアニン色素の構造 MALDI-TOF-MASS による解析

日本農芸化学会2001年大会 (2001.3)

*ニッカウキスキー(株)生産技術研究所

寺原典彦*, 服部健太郎*, 合田幸広: 紫甘藷中のアシル化アントシアニンの構造と抗酸化性

日本農芸化学会2001年大会 (2001.3)

*南九州大学園芸学部

Ngang, E.*, Matsufuji, H.*, Chino, M.*, Goda, Y., Toyoda, M., Takeda, M.*: **Structural determination of subsidiary color in commercial food green No.3 (Fast Green FCF, FD&D Green No.3)**

11th World Congress of Food Sciences and Technology (2001.4)

* College of Bioresource Science, Nihon University

松岡 猛*, 栗原秀夫*, 日野明寛*, 合田幸広, 豊田正武, 進藤洋一郎*, 吉村倫彰*, 小川真智子*, 布藤 聡*: 遺伝子組換え農作物の新しい定量分析法の開発

日本食品衛生学会第81回学術講演会 (2001.5)

*1 農水省食品総合研究所

*2 アサヒビール(株)研究開発本部

*3 日本製粉(株)中央研究所

六鹿元雄, 太田久恵, 合田幸広, 豊田正武: 遺伝子組換え・非組換えパパイアの色素成分の比較

日本食品衛生学会第81回学術講演会 (2001.5)

宮原 誠, 豊田正武, 斉藤顕子, 上村智美, 長沢妙子: 炭化水素法による照射食品の検知 1 ガンマ線照射による各種脂肪酸エステルからの炭化水素の生成

食品衛生学会第80回学術講演会 (2000.11)

宮原 誠: これからの照射食品

防菌防黴学会第27回年次大会 (2000.5)

安藤正典: 室内空气中化学物質のサンプリング方法及び測定方法

第4回分析化学東京シンポジウム (2000.8)

- 安藤正典：室内化学物質の分析
フォーラム2000, 衛生薬学・環境トキシコロジー (2000.10)
- 安藤正典：室内空气中化学物質のサンプリング方法及び測定方法
第37回全国衛生化学技術協議会 (2000.11)
- 安藤正典：室内空气中化学物質のガイドライン設定について
第37回全国衛生化学技術協議会 (2000.11)
- 星野邦広*, 今中努志*, 松村年郎: チャンバー法による室内装材から発生する有機化合物の測定と評価
第19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 (2001.4)
*ジーエルサイエンス(株)
- 松村年郎, 濱田実香, 並木 崇*: 室内空气中のフタル酸エステル類の測定法の検討とそのアプリケーションについて
平成12年度室内環境学会総会講演集 (2000.12)
*日本大学理工学部
- 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(2)
平成12年度室内環境学会総会講演集 (2000.12)
*ジーエルサイエンス(株)
- 渡辺文雄*, 松延邦明*, 松村年郎: 室内環境中の簡易測定における検知管法の展開と校正ガス発生法の検討について
平成12年度室内環境学会総会講演集 (2000.12)
*ガステック(株)
- 濱田実香, 松村年郎: ペンタフルオロベンジルヒドロキシルアミン(PFBOA)カートリッジ捕集HPLC法を用いた室内空气中のアルデヒド類の測定法の検討
平成12年度室内環境学会総会講演集 (2000.12)
- 大塚健次, 松村年郎, 濱田実香: 居住環境内における化学物質汚染の実態
平成12年度室内環境学会総会講演集 (2000.12)
- 松村年郎: 「シックハウス」その今日の問題と今後の対策
室内環境学会・健康事業総合財団セミナー (2000.10)
- 徳永裕司, 鄭 然孫, 内野 正, 安藤正典: フタル酸ジエテルの In vitro 経皮吸収に関する研究
第46回日本化粧品技術者会研究討論会 (2000.6)
- 徳永裕司, 高 玲華, Chandra Skaran, N. Sharaim, A. Chowdhury, UR. Chakraborti, D*. 安藤正典: HPLC-ICP/MSによるヒト尿中のヒ素化合物の形態分析に関する研究
フォーラム2000: 衛生薬学・環境トキシコロジー (2000.10)
* Jadavpur University
- 徳永裕司, 鄭 然孫, 内野 正, 安藤正典: フタル酸ジエテルの In vitro 経皮吸収に関する研究
第37回全国衛生化学技術協議会年会 (2000.10)
- Tokunaga, H. Ko, R. Chong, Y. Uchino, T. Ando, M.: A simple in-vitro evaluation of immunotoxicity for cosmetic ingredients
5th Scientific Conference of the Asian Societies of Cosmetic Scientists (2001.3)
- 徳永裕司, 鄭 然孫, 内野 正, 安藤正典: 香粧品中の防腐剤の経皮吸収に関する研究
日本薬学会第121年会 (2001.3)
- 内野 正, 徳永裕司, 安藤正典: 化粧水及び乳液中のビタミンL1及び塩酸ピロカルピンの高速液体クロマトグラフィーによる定量
第47回 SCCJ 研究討論会 (2000.11)
- 内野 正, 徳永裕司, 安藤正典: 表示指定成分のヒトケラチノサイト(A431)からのサイトカイン放出への影響
日本薬学会第121年会 (2001.3)
- 埴岡伸光, 神野透人, 香川(田中)聡子, 西村哲治, 安藤正典: HPLCによるCYP1A依存性酵素活性測定法の開発
第15回日本薬物動態学会年会 (2000.10)
- 埴岡伸光, 渡部佳世子*, 神野透人, 香川(田中)聡子, 西村哲治, 与田玲子*, 安藤正典: ラット肝シクロクロムP450に対するアラクロールの影響
日本薬学会第121年会 (2001.3)
* 国立薬科大学
- 神野透人, 埴岡伸光, 香川(田中)聡子, 西村哲治, 安藤正典: ラット肝による二酸化塩素処理 Microcystin 類の生物評価
第6回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会 (2000.9)
- 香川(田中)聡子, 神野透人, 埴岡伸光, 安藤正典: ヒト表皮角化細胞の遺伝子発現に及ぼす無機ヒ素化合物の影響
フォーラム2000: 衛生化学・環境トキシコロジー (2000.10)
- 神野透人, 埴岡伸光, 香川(田中)聡子, 佐伯真弓, 西村哲治, 長野美千代, 斎藤喜朗, 小澤正吾, 安藤正典, 澤田純一: COS-1細胞で発現させた変異型ヒトUGT1A1のGSN-38グルクロン酸抱合活性
日本薬学会第121年会 (2001.3)
- 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
- 西村哲治, 平川江美*1, 埴岡伸光, 神野透人, 香川(田中)聡子, 鈴木和人*1, 西川淳一*2, 西原 力*2, 安藤正典: 水質汚濁性化学物質のエストロゲン様活性の検討

第51回全国水道研究発表会 (2000.5)

*1 東京医薬専門学校

*2 大阪大学大学院薬学研究科

西村哲治, 埴岡伸光, 神野透人, 香川(田中)聡子, 安藤正典:
遺伝子発現を利用した評価試験

第3回日本水環境学会シンポジウム (2000.9)

西村哲治, 高木博夫*1, 中川順一*2, 加藤信弥*3, 宇田川富男*4, 寺内 修*5, 鈴木 朗*6, 寺嶋勝彦*7, 中野康晴*8, 中野淑雄*9, 安藤正典: 上水試験方法2001年版の改訂について(Ⅲ)-6農薬(ベンゾエピン, マラソン, アラクロール, トリフルラリン, カルバリル, メソミル)の測定方法の検討-
第52回全国水道研究発表会 (2001.5)

*1 国立環境研究所

*2 東京都立衛生研究所

*3 仙台市水道局

*4 東京都水道局

*5 千葉県水道局

*6 横浜市水道局

*7 大阪市水道局

*8 大阪府水道局

*9 福岡地区水道企業団

Miyahara, M., Saito, A., Ito, H., Toyoda, M.: **Capability for detection of gamma-irradiation of bovine liver by high sensitivity comet assay**

AOAC International, the 114th AOAC International Annual Meeting and Exposition (2000.9)

宮原 誠, 上野浩二, 山瀬 豊, 伊藤 均, 豊田正武: 電子線を用いる食品照射における線量測定 基礎的検討

日本食品照射研究協議会第36回大会 (2000.12)

Miyahara, M., Saito, A., Ito, H., Toyoda, M.: **Identification of Low level gamma-irradiation of Meats by New High Sensitivity Comet Assay**

The 12th International Meeting on Ionization Processing, IAEA, AIII (2001)

穂山 浩, 天野博雄*1, 合田幸広, 豊田正武, Bienenstock J.*2:
ラット気管上皮粘膜の電気生理学的パラメーターにおける
ストレスの影響

日本薬学会121年会 (2001.3)

*1 群馬大学医学部

*2 McMaster university

古庄義明*1, 山本勝彦*2, 佐久嶋順一郎, 穂山 浩, 合田幸広, 豊田正武, 庄司俊彦*3, 神田智正*3, 中川圭一*3: **High Throughput SPE/LC/MS/MS法によるマウス血漿中 Pro-cyanidin B2の測定**

日本薬学会121年会 (2001.3)

*1 ジーエルサイエンス(株)

*2 A Bシステムズ(株)

*3 ニッカウキスキー(株)

穂山 浩, 合田幸広, 田中敏嗣*1, 豊田正武: **多機能カラムを用いた香辛料中のアフラトキシンの迅速定量法**

日本食品衛生学会第81回学術講演会 (2001.5)

*1 神戸市環境保健研究所

福田 崇*1, 小柳美喜子*1, 香田隆俊*2, 米谷民雄, 小関良宏*1: 植物における可動性因子の形質転換に与える効果

日本植物生理学会第41回シンポジウム (2001.3)

*1 東京農工大学工学部

*2 三栄源エフ・エフ・アイ(株)

杉本直樹, 尹 永淑, 関田節子, 佐竹元吉, 米谷民雄: **たばこの成分研究(5)**

日本薬学会第121年会 (2001.3)

秋山卓美, 齊藤祐一, 米谷民雄: **食品添加物として用いられる糖質関連酵素の特性**

日本食品衛生学会第81回学術講演会 (2001.5)

長岡(浜野)恵, 米谷民雄: **シアル酸欠損トランスフェリンの金属(Al, Fe)結合能の解析**

第11回金属の関与する生体関連反応シンポジウム (2001.5)

山崎 壮: **プリオン感染と検出法**

日本薬学会第121年会 (2001.3)

Ishiwata, H., Abe, Y.: **Simultaneous determination of hexamethylenetetramine and formaldehyde in cheese by post column HPLC**

The 114th AOAC International Annual Meeting (2000.9)

新野竜太*1, 石橋 亨*1, 伊藤 武*1, 坂井千三*1, 小野寺祐夫*2, 杉田たき子, 石綿 肇: **フタル酸ジエステルのPVC製乳幼児用玩具からヒト唾液への溶出とそのモノエステル体の生成**

日本薬学会フォーラム 2000 (2000.10)

*1 助東京顕微鏡院

*2 東京理科大学

石綿 肇: **食品添加物の摂取量調査**

第37回全国衛生化学技術協議会年会 (2000.10)

水野竹美*, 金子旬一*, 石橋 亨*, 伊藤 武*, 坂井千三*, 石綿 肇: **ケイ光検出器付HPLC法による硝酸塩・亜硝酸塩の分析法**

日本食品衛生学会第80回学術講演会 (2000.10)

* 助東京顕微鏡院

新野竜太*1, 朝倉敬行*1, 加藤文秋*1, 石橋 亨*1, 伊藤 武*1, 坂井千三*1, 小野寺祐夫*2, 杉田たき子, 石綿 肇: **回転振とう抽出法によるPVC製乳幼児玩具から人工唾液へのフタル酸エステルの溶出**

日本食品衛生学会第80回学術講演会 (2000.10)

*1 助東京顕微鏡院

*2 東京理科大学

新野竜太*1, 朝倉敬行*1, 加藤文秋*1, 石橋 亨*1, 伊藤 武

*¹, 坂井千三*¹, 小野寺祐夫*², 杉田たき子, 石綿 肇: ヒトのchewingによるPVC製乳幼児玩具から唾液へのフタル酸エステルの溶出

日本食品衛生学会第80回学術講演会 (2000.10)

*¹ 助東京顕微鏡院

*² 東京理科大学

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: 食品中の安息香酸, ソルビン酸, デヒドロ酢酸, 及びサリチル酸の簡易一斉分析法の検討

日本食品衛生学会第81回学術講演会 (2001.5)

* 助東京顕微鏡院

河村葉子, 和久井千世子, 岸香織, 米谷民雄: 各種使い捨て手袋からの溶出物に関する検討

フォーラム2000: 衛生薬学・環境トキシコロジー (2000.10)

Kawamura, Y.: A Simple Determination method for residual chemicals in food contact plastics and their survey in Japan
2nd International Symposium on Food Packaging (2000.11)

Kawamura, Y.: Endocrine disruptors in food containers and packages

KFDA/NITR International Symposium on EDs & GM Food 2000 (2000.12)

河村葉子: 食品用器具・容器包装中の内分泌かく乱化学物質
The 45th International NIBB Conference (2001.3)

和久井千世子, 河村葉子, 米谷民雄: 非フタル酸エステル系ポリ塩化ビニル及びニトリルゴム製手袋の溶出物に関する検討

日本食品衛生学会第81回学術講演会 (2001.5)

宮田直樹: フラーレンの化学-生体作用機構の解析-
有機合成化学講演会 合成有機化学のフロンティア(2000.6)

福原 潔, 宮田直樹: 化学物質による活性酸素の生成と消去
日本環境変異原学会第11回公開シンポジウム (2000.6)

栗原正明, 近藤一成, 鈴木 隆, 豊田正武, 宮田直樹: カテキンの抗酸化作用機構: 半経験的分子軌道法による解析
第22回磁気共鳴医学会・第4回SFRR Japan合同学会 (2000.6)

福原 潔, 栗原正明, 宮田直樹: 光活性型NOドナーの開発-芳香族ニトロ化合物からのNOの生成-
第22回磁気共鳴医学会・第4回SFRR Japan合同学会 (2000.6)

Nakanishi, I., Yamakoshi, Y., Ohkubo, K.*¹, Fujita*¹, P, S., Fujitsuka, M.*², Ito, O.*², Fukuzumi, S.*¹ and Miyata, N.: Electron-Transfer Properties of Fullerenes in the Presence of Oxygen
The 19th Fullerene General Symposium (2000.7)

*¹ 阪大院・工

*² 東北大・反応研

栗原正明, 田中正一*¹, 大庭 誠*¹, 末宗 洋*¹, 宮田直樹: 分子力学法によるペプチドのコンフォメーション解析: α , α -ジ置換アミノ酸より構成されるペプチド
CBI ミレニアムシンポジウム2000年大会 (2000.7)

*¹ 九大院薬

Kurihara, M., Tanaka, M.*¹, Oba, M.*¹, Suemune, H.*¹, Miyata, N.: Computational study on conformation of Oligopeptides prepared from α , α -disubstituted amino acids

26th European Peptide Symposium (2000.9)

*¹ Kyusyu University

Tanaka, M.*¹, Imawaka, N.*¹, Oba, M.*¹, Kurihara, M., Suemune, H.*¹: Conformational Study of Peptides Containing α -Ethylated α , α -Disubstituted Amino Acid: (s)-Buthylethylglycine.

26th European Peptide Symposium (2000.9)

*¹ Kyusyu University

Miyata, N., Nakanishi, I., Yamakoshi, Y., Ohkubo, K.*¹ and Fukuzumi, S.*¹: Direct observation of the ESR spectrum of superoxide anion in an aqueous C₆₀/PVP/NADH/O₂ system under irradiation.

Xth Biennial Meeting of the International Society for Free Radical Research (2000.10)

*¹ Osaka University

Fukuhara, K., Kurihara, M., and Miyata N.: Nitric oxide generation from 6-nitrobenzo[a]pyrene and its DNA-cleaving activity under photoirradiation.

Xth Biennial Meeting of the International Society for Free Radical Research (2000.10)

中西郁夫, 山越葉子, 福原 潔, 宮田直樹: 還元剤存在下における光増感DNA切断に関与する酸化活性種の解析
第15回生体フリーラジカル研究会 (2000.11)

栗原正明, 志茂雅敏, 梶谷亜沙子, 篠原秀美, 寒水壽朗, 宮田直樹: L-696, 474のHIVプロテアーゼ阻害機構に基づいた新規阻害薬の設計と合成

第26回反応と合成の進歩シンポジウム (2000.11)

福原 潔, 永川真希, 宮田直樹: レスベラトロールによる酸化的DNA鎖切断反応の分子メカニズムの化学的解析
日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

高山浩明*¹, 紺野勝弘*¹, 藤島利江*¹, 牧昌次郎*¹, 劉 兆鵬*¹, 三浦大志郎*¹, 一寸木学*², 石塚誠一*², 山口健太郎*³, 管由紀子*⁴, 栗原正明, 宮田直樹, C. Smith*⁵, H. F. DeLuca*⁵, 中川公恵*⁶, 岡野登志夫*⁶: 2-Methyl-1,25-dihydroxyvitamin D₃とその20-epimerの合成, 立体配座解析, 及び活性評価~ビタミンD研究の新展開~

第20回メディシナルケミストリーシンポジウム, 第9回日本薬学会医薬化学部会年会 (2000.12)

*¹ 帝京大薬,

*² 帝人生物医学総研

*3 千葉大分析センター

*4 サントリー生有研

*5 ウィスコンシン大

*6 神戸薬大

須原義智*1, 橘高敦史*1, 高柳 仁*1, 藤島利江*1, 紺野勝弘*1, 高山浩明*1, 中川公恵*2, 岡野登志夫*2, 栗原正明, 宮田直樹: 2- α -置換型-1 α , 25-Dihydroxyvitamin D₃ 誘導体の合成と生物活性評価~構造活性相関及びビタミンD受容体とのドッキングスタディ~
第20回メディスナルケミストリーシンポジウム, 第9回日本薬学会医薬化学部会年会 (2000.12)

*1 帝京大薬

*2 神戸薬大

藤島利江*1, 紺野勝弘*1, 高山浩明*1, 中川公恵*2, 田中麻紀*2, 岡野登志夫*2, 栗原正明, 宮田直樹: 2-メチル置換活性型ビタミンD₃の5, 6-トランス幾何異性体の合成~活性相関およびビタミンD受容体へのドッキングスタディ~
第20回メディスナルケミストリーシンポジウム, 第9回日本薬学会医薬化学部会年会 (2000.12)

*1 帝京大薬

*2 神戸薬大

Miyata, N.: **Superoxide Generation in Active Oxygen Species Generated from Photoexcited Fullerene in an Aqueous Media**
2000 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (2000.12)

Nakanishi I., Yamakoshi, Y., Ohkubo, K.*1, Fukuzumi, S.*1 and Miyata, N.: **Superoxide Generation in C₆₀-photosensitized oxidation of NADH and analogs by Oxygen**
2000 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (2000.12)

*1 Osaka University

Tanno, M., Sueyoshi, S., Fukuhara, K. and Miyata, N.: **Evaluation of extended-releasing NO ability of aromatic N-nitrosamines**
2000 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (2000.12)

Sueyoshi, S., Tanno, M. and Miyata, N.: **NO generation of N-hydroxy-L-arginine analogs in oxidative conditions**
2000 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (2000.12)

Miyata, N. and Nakanishi, I.: **Electron Transfer from Photochemically Reduced C₆₀ (gamma-Cyclodextrin-Bicapped C₆₀) to Molecular Oxygen Causes DNA-Cleavage**
The 4th Taiwan-Japan Cooperative Meeting of Fullerene Science and Technology (2000.12)

宮田直樹: わが国で承認された薬のデータベース化と海外の状況
CBI学会第201回研究講演会 (2001.1)

Nakanishi, I., Konishi, T.*1, Ohkubo, K.*2, Fujitsuka, M.*1, Ito, O.*1, Fukuzumi, S.*2 and Miyata, N.: **Photoinduced Superoxide Generation and DNA Cleavage in the Aqueous C₆₀/gamma-Cyclodextrin/NADH/O₂ System**

The 20th Fullerene General Symposium. (2001. 1)

*1 Tohoku University

*2 Osaka University

Yamakoshi, Y., Schlittler, R. R.*1, Skinner, P. J.*2, Gimzewski, J. K.*1, Diederich, F.*2: **Getting A Grip On A Single Molecule - Novel Cavitands as Mecanoreceptors: UK Macrocylic Conference (2001.1)**

*1 IBM Zürich Research Laboratory

*2 ETH-Zürich

Nakanishi, I., Konishi, T.*1, Ohkubo, K.*2, Fujitsuka, M.*1, Ito, O.*1, Fukuzumi, S.*2 and Miyata, N.: **DNA Cleavage via Electron Transfer from NADH to Molecular Oxygen Photosensitized by gamma-Cyclodextrin-Bicapped C₆₀**
The 199th Meeting of The Electrochemical Society, (2000.3)

*1 Tohoku University

*2 Osaka University

栗原正明, 志茂雅敏, 梶谷亜沙子, 篠原秀美, 寒水壽朗, 宮田直樹: サイトカラシン類L-696, 474のHIVプロテアーゼ阻害機構に基づいた新規阻害薬の設計と合成
第121回日本薬学会年会 (2001.3)

丹野雅幸, 末吉祥子, 福原 潔, 中西郁夫, 宮田直樹: 活性酸素の生成を伴うNO遊離化合物の合成
日本薬学会第121年会 (2001.3)

中西郁夫, 小西利史*1, 大久保 敬*2, 藤塚 守*1, 伊藤 攻*1, 福住俊一*2: 光電子移動を経由する水溶性C60-シクロデキストリン錯体/NADH系におけるスーパーオキシドの生成機構

日本薬学会第121回年会 (2001.3)

*1 東北大・反応研

*2 阪大院・工

橘高敦史*1, 平阪幸四郎*1, 栗原正明, 須原義智*1, 吉田彰宏*1, 宮田直樹, 高山浩明*1: 2- α -ベンジル-1 α , 25-ジヒドロキシビタミンD₃の合成研究

第121回日本薬学会年会 (2001.3)

*1 帝京大薬

橘高敦史*1, 高柳 仁*1, 須原義智*1, 藤島利江*1, 栗原正明, 高山浩明*1: 2- α -(ヒドロキシアルコキシ)-1 α , 25-ジヒドロキシビタミンD₃誘導体の合成とVDR結合活性の解析
第121回日本薬学会年会 (2001.3)

*1 帝京大薬

藤島利江*1, 紺野勝弘*1, 中川公恵*2, 田中麻紀*2, 岡野登志夫*2, 栗原正明, 宮田直樹, 高山浩明*1: 2位メチル置換活性型ビタミンD₃-5, 6-トランス幾何異性体の合成と生物活性: 2位メチル基による活性増強効果の解析

第121回日本薬学会年会(2001.3)

*¹帝京大薬*²神戸薬大

大庭 誠*¹, 田中正一*¹, 栗原正明, 末宗 洋*¹: 光学活性ジ置換アミノ酸(S)-エチルロイシンを導入したペプチドの合成とそのコンフォメーション

第121回日本薬学会年会(2001.3)

*¹九大薬

藤島利江*¹, 紺野勝弘*¹, 中川公恵*², 田中麻紀*², 岡野登志夫*², 栗原正明, 宮田直樹, 高山浩明*¹: 2位メチル置換活性型ビタミンD₃の幾何異性体の合成とその生理作用: 2位メチル基による活性増強効果の解析

日本ビタミン学会第53回大会(2001.5)

*¹帝京大・薬*²神戸薬大

橋高敦史*¹, 須原義智*¹, 平阪幸四郎*¹, 藤島利江*¹, 吉田彰宏*¹, 栗原正明, 宮田直樹, 高山浩明*¹: 2 α , 25-ジヒドロキシビタミンD₃の合成とVDR結合活性

日本ビタミン学会第53回大会(2001.5)

*¹帝京大・薬

福原 潔, 内藤有紀, 佐藤由紀子, 中西郁夫, 宮田直樹: キノンによる活性酸素生成とDNA損傷反応

第24回磁気共鳴医学会・第5回SFRR Japan合同学会(2001.5)

Williams, D.B.*¹, Stronge, V.*¹, Ihara Y.*¹, Saito, Y.: Relationship between calnexin and Bip in the folding of proteins and glycoproteins in vitro

5th Biennial Meeting on Molecular Chaperones and the Heat Shock Response(2000.5)

*¹University of Toronto

Williams, D.B.*¹, Stronge, V.*¹, Ihara Y.*¹, Saito, Y.: In Vitro Characterization of ER Chaperones

Canadian Society of Biochemistry and Molecular & Cellular Biology, 11th Winternational Conference(2001.2)

*¹University of Toronto

斎藤嘉朗, 井原義人*, Leach, M.L.*¹, Cohen-Doyle, M.F.*¹, Williams, D.B.*¹: カルレティキュリンのin vitroシャペロン活性

第73回日本生化学会大会(2000.10)

*¹University of Toronto

中村亮介, 平嶋尚英*, 中西 守*: 原子間力顕微鏡によるマスト細胞抑制シグナルの研究

第73回日本生化学会大会(2000.10)

*名古屋市立大学

中村亮介, 手島玲子, 澤田純一: マスト細胞のCa²⁺応答及び脱顆粒反応に及ぼすフタル酸エステル類の影響

第121回日本薬学会年会(2001.03)

高木加代子, 斎藤嘉朗, 澤田純一: 成長ホルモン結合蛋白の生成に及ぼす proteasome inhibitor の影響

第73回日本生化学会大会(2000.10)

奥貫 晴代, 手島 玲子, 澤田 純一: 転写レベルにおけるマスト細胞からのMCP-1産生制御機構について

第73回日本生化学会大会(2000.10)

Teshima, R., Onose, J., Saito, Y., Ikebuchi, H., Kitani, S.*¹, Sawada, J.: Casein kinase II-like ectokinase activity on RBL-2H3 cells

18th International Congress of Biochem. and Mol. Biology(2000.7)

*¹University of Tokyo

Okunuki, H., Teshima, R., Akiyama, H., Goda, Y., Toyoda, M., Sawada, J.: Determination of enzymatic activity of EPSPS by radio-HPLC

18th International Congress of Biochem. and Mol. Biology(2000.7)

竹田茂正*, 鈴木 亮*, 古野忠秀*, 手島玲子, 中西 守*: 知覚神経活性化によるマスト細胞のカルシウムシグナル

第73回日本生化学会大会(2000.10)

*名古屋市立大学薬学部

手島玲子, 明谷早映子*, 梅澤喜夫*, 澤田純一: マスト細胞における抗原特異的IgE濃度とカルシウム応答との相関について

第73回日本生化学会大会(2000.10)

*東京大学理学部化学科

森 尚子*¹, 鈴木 亮*¹, 古野忠秀*¹, 手島玲子, Bienenstock J.*², 中西 守*¹: マスト細胞と神経細胞の細胞間相互作用の可視化解析

第73回日本生化学会大会(2000.10)

*¹名古屋市立大学薬学部*²MacMaster University

新藤智子*¹, 金沢由基子*¹, 古谷真美*¹, 小島幸一*¹, 手島玲子, 奥貫晴代, 澤田純一, 高橋和子*², 大澤基保*², 吉田貴彦*³: トルエンジイソシアネート暴露マウスにおける免疫影響指標の解析(1)液性免疫能(抗体産生)に関する指標

第7回免疫毒性研究会(2000.9)

*¹食品薬品安全センター秦野研究所*²帝京大学薬学部*³旭川医科大学医学部

鈴木 亮*, 古野忠秀*, 竹田茂正*, 大城博行*, 手島玲子, 中西 守*: 交換神経節および感覚神経節初代培養細胞とマスト細胞のクロストークの研究

第22回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム(2000.11)

*名古屋市立大学薬学部

手島玲子: 遺伝子組換え食品とアレルギー性試験

第37回全国衛生化学技術協議会年会(2000.10)

手島玲子：遺伝子組換え食品の安全性試験－免疫毒性並びにアレルギー性試験－
平成12年日本食品衛生学会特別シンポジウム (2000.11)

手島玲子：遺伝子組換え食品の安全性とその評価
平成12年農林水産技術情報協会フォーラム (2000.12)

奥貫晴代, 手島玲子, 重田輝子, 佐久嶋順一郎, 穂山 浩, 合田幸広, 豊田正武, 澤田純一：遺伝子組換え食品導入蛋白質 (CP4-EPSPS 等) の熱感受性並びに *in vitro* 分解性試験
第81回日本食品衛生学会学術講演会 (2001.5)

安達玲子, 松井幸子*, 楠井 薫, 山口照英, 笠原 忠*, 早川亮夫, 鈴木和博：食細胞のコフィリンの活性制御におけるホスホリパーゼCの役割
第73回日本生化学会大会 (2000.10)
*共立薬科大学

渡辺秀実*, 浜野美紀子*, 安達玲子, 楠井 薫, 笠原 忠*, 鈴木和博：白血球細胞の分化に対する内分泌攪乱物質の影響
第73回日本生化学会大会 (2000.10)
*共立薬科大学

渡辺秀実*, 安達玲子, 楠井 薫, 笠原 忠*, 鈴木和博：白血球細胞の分化に対する内分泌攪乱化学物質の影響
第30回日本免疫学会総会・学術集会 (2000.11)
*共立薬科大学

Sasaki, D.¹, Shimizu, S.¹, Naito, S.², Sato, Y., Mori, Y.³ and Kiuchi, Y.¹: Nitric Oxide inhibits the expression of transcription factor ETS-1 and cell migration in rat aortic smooth muscle cells
第74回日本薬理学会総会 (2001.3)

¹ 昭和大学

² 国立嬉野病院

³ 国立生理学研究所

室井正志, 棚元憲一：リポドAの構造認識機構
第5回日本LPS研究会 (2000.6)

Ken-ichi Tanamoto, Satoko Azumi : *Salmonella*-type lipid A is inactive on human cells
6th Conference of the International Endotoxin Society (2000.8)

Masashi Muroi, Takahiro Ohnishi, Ken-ichi Tanamoto : Domain requirements of mouse CD14 molecule to enhance TLR2- and TLR4-mediated activation of NF- κ B in response to lipopolysaccharide.
6th Conference of the International Endotoxin Society (2000.8)

棚元憲一：エンドトキシンの生物活性を支配する要因
第6回日本エンドトキシン研究会 (2000.11)

室井正志, 大西貴弘, 棚元憲一：内毒素によるNF- κ B活性化に必須なCD14分子の機能的部位の探索
第74回日本細菌学会総会 (2001.4)

大西貴弘, 室井正志, 棚元憲一：Toll-like receptor 結合分子MD-2におけるグリコシル化の役割
第74回日本細菌学会総会 (2001.4)

黛(安住)聡子, 室井正志, 棚元憲一：サルモネラリポドAの動物種特異的反応におけるMD-2の関与
第74回日本細菌学会総会 (2001.4)

洪志駿, 棚元憲一：内分泌かく乱物質のエンドトキシン作用に与える影響について
第74回日本細菌学会総会 (2001.4)

宮原美知子, 玉井奈都子, 小沼博隆：ビーズ法(K6)を用いた腸炎ビブリオの検出方法
第21回日本食品微生物学会学術総会 (2000.10)

Michiko Miyahara, Hiroataka Konuma : Japanese EHEC O157:H7 Strains Having Similar DNA Sequences to that of Bacteriophage 933W

4th International Symposium and Workshop on "Shiga toxin (Verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* Infections" (2000.11)

Michiko Miyahara, Makoto Miyahara : Effects of Gamma and E-beam Irradiation on Survival of Anaerobic and Aerobic Bacteria
12th International Meeting on Radiation Processing (2001.3)

宮原美知子, 熊谷進, 小沼博隆：夏・秋・冬における殻付き卵での *Salmonella* Enteritidis(SE) 接種実験
日本防菌防黴学会第28回年次大会 (2001.5)

村瀬 稔¹, 木股祐子¹, 仲西寿男¹, 小沢一弘², 赤羽荘資², 浅川 豊², 田中廣行³, 宇田川藤江³, 上条茂徳⁴, 南沢仁志⁴, 小沼博隆：食品からの腸管出血性大腸菌O157およびサルモネラの分離培地“CHROM AGAR”の検討
第21回日本食品微生物学会学術総会 (2000.10)

¹ 神戸市環境保健研究所

² 中部衛生検査センター

³ 日本食品分析センター

⁴ 日本ベクトン・ディッキンソン

長谷川順子¹, 仁科徳啓¹, 工藤由起子², 小沼博隆, 熊谷進³：酸性下における *Vibrio parahaemolyticus* の消長
第21回日本食品微生物学会学術総会 (2000.10)

¹ 東海大学

² 国立感染症研究所

³ 東京大学院農生命

榊原芳恵¹, 工藤由起子², 小沼博隆, 澤田拓士¹, 熊谷 進³：殻付卵の保存条件と *Salmonella* Enteritidis の増殖性に關する研究
第21回日本食品微生物学会学術総会 (2000.10)

¹ 日本獣医畜産大学

² 国立感染症研究所

³ 東京大学院農生命

山本真弓¹, 山田 満¹, 岡野哲也², 松尾 豊², 日下部鉄

也*2, 田村 成*2, 日置裕一*2, 大森牧子*3, 石原島栄二*3, 春日文字*4, 小沼博隆: 食材由来菌に汚染した手指の洗浄殺菌方法の検討

日本防菌防黴学会第27回年次大会 (2000.5)

*1 和洋女子大学

*2 花王石鹼株式会社

*3 栃木県保健環境センター

*4 国立感染症研究所

仁科徳啓*1, 工藤由起子*2, 杉山寛治*3, 斉藤章陽*4, 中川 弘*5, 宮原美知子, 長谷川敦子*6, 市原 智*6, 小沼博隆, 熊谷進*7: 食品からの *Vibrio parahaemolyticus*(TDH+) 分離方法の検討

第151回日本獣医学会学術集会 (2001.4)

*1 東海大学

*2 国立感染症研究所

*3 静岡県環境衛生科学研究所

*4 埼玉県衛生研究所

*5 財団法人東京顕微鏡院

*6 東京サラヤ株式会社

*7 東京大学院農生命

工藤由起子*1, 池戸正成*2, 小松 理*2, 小沼博隆, 中川 弘*3, 山本茂貴*1, 熊谷 進*4: 酵素基質培地を用いた腸管出血性大腸菌 O26 の検出方法の検討

第83回日本細菌学会関東支部総会 (2000.11)

*1 国立感染症研究所

*2 栄研化学株式会社

*3 財団法人東京顕微鏡院

*4 東京大学院農生命

仁科徳啓*1, 工藤由起子*2, 中川 弘*3, 小沼博隆, 熊谷進*4: 酵素基質培地を用いた腸炎ビブリオの検出方法の検討

第83回日本細菌学会関東支部総会 (2000.11)

*1 東海大学

*2 国立感染症研究所

*3 財団法人東京顕微鏡院

*4 東京大学院農生命

酒井綾子, 増井 徹, 降旗千恵*: BALB/3T3 細胞における発癌プロモーターによる *Np95*mRNA の発現上昇

第59回日本癌学会総会 (2000.10)

* 青山学院大・理工

松谷佐知子: 細菌の挿入因子 IS1 と真核生物の SINE における転写装置の普遍性

第14回遺伝的組換えとその制御ワークショップ (2000.12)

松谷佐知子: 細菌における RNA ポリメラーゼ III プロモーター配列の保存とその機能

第23回日本分子生物学会年会 (2000.12)

高鳥浩介: 真菌アレルギー 住環境にみる真菌とその生態
日本医真菌学会第44回総会 (2000.10)

Kikuchi, Y., Yamazaki, T., Imazawa, T., Takekida, K.*1, Nishikawa, A., Takatori, K., Tanimura, A.*1, Tanamoto, K. and Sawada, J.: High-level expression of cellular form of prion protein in human glioblastoma cell line T98G

Society for Neuroscience 30th Annual Meeting (2000.11)

*1 Showa Women's University

菊池 裕, 高鳥浩介, 伊藤 均*1, 小沼博隆: 低線量放射線による微生物毒素産生能の変化に関する研究 1 ペロ毒素を産生する腸管出血性大腸菌 *E. coli* O157:H7 に及ぼす影響
日本食品照射研究協議会第36回大会 (2000.12)

*1 日本原子力研究所高崎研究所

高鳥浩介, 菊池 裕, 鈴木明子, 成田紀子, 穂山 浩, 合田幸広, 豊田正武, 伊藤 均*1, 小沼博隆: 低線量放射線による微生物毒素産生能の変化に関する研究 2 マイコトキシンを産生する真菌に及ぼす影響
日本食品照射研究協議会第36回大会 (2000.12)

*1 日本原子力研究所高崎研究所

神沼二真: 医薬品開発, 化学物質の安全性研究, ゲノム研究からの計算化学への期待

2000 計算化学討論会 (2000.6)

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: 医薬品一般名称のデータベース化

CBI学会 (2000.7)

瀧 明, 大竹千代子, 中野達也, 高野英雄, 前田 憲, 神沼二真: 健康環境影響化合物データベースの開発

CBI学会 (2000.7)

高井貴子, 長谷川式子, 神沼二真: 内分泌かく乱物質の受容体結合情報のデータベース化

CBI学会 (2000.7)

福澤 薫, 大河内郁雄, 小谷野和郎, 中野達也, 中田琴子, 神沼二真: エストロゲン受容体リガンド結合エネルギーの計算による予測について

CBI学会 (2000.7)

高井貴子, 徳永雅彦, 中田琴子, 神沼二真: 公開 SNPs データの自動収集システム

CBI学会 (2000.7)

高井貴子, 徳永雅彦, 中野達也, 中田琴子, 神沼二真: MOBI-DIGS 開発における生体影響データベースの統合

CBI学会 (2000.7)

山本美智子, 高井貴子, 中野達也, 會田喜崇, 濱 義昌, 落合宏英, 清水 広, 斉藤竜太, 小沢直記, 橋本宗弘, 神沼二真: 薬物代謝酵素チトクローム P450 関連知識ベース

CBI学会 (2000.7)

渡邊将人, 三谷なな子, 鈴木福英, 三木敬三郎, 三輪錠司,

- 神沼二眞 : *C. elegans* を用いた階層的な化学物質の生体影響評価体系の研究
CBI学会 (2000.7)
- 徳永雅彦, 上林正巳, 宮澤三造, 中野達也, 神沼二眞 : CBIポータル構築
CBI学会 (2000.7)
- 神沼二眞, 高井貴子, 湯川真澄, 滝 克彦, 立野玲子, 中野達也 : GERS IV : *C. elegans* の発生過程の再構成システム
CBI学会 (2000.7)
- 神沼二眞 : ITが加速するゲノム革命
バイオエンジニアリング研究会講演会 (2000.10)
- 鈴木聡子, 横山美和, 川出 達, 瀧 明子, 長谷川式子, 山本美智子, 小峰 啓, 中野達也, 宮田直樹, 神沼二眞 : 医薬品一般名称のデータベース化 (その 2)
第23回情報化学討論会 (2000.10)
- 高野英雄, 友利和秀, 中野達也, 小谷野和郎, 神沼二眞 : 内分泌かく乱候補物質および関連物質データベースの開発 2
第23回情報化学討論会 (2000.10)
- 小谷野和郎, 中野達也, 神沼二眞 : CoMFAを用いたダイオキシン類の構造活性相関解析
第28回構造活性相関シンポジウム (2000.10)
- 福澤 薫, 小谷野和郎, 中野達也, 中田琴子, 神沼二眞 : エストロゲン受容体リガンド結合エネルギーの計算による予測
第28回構造活性相関シンポジウム (2000.10)
- 高井貴子, 蕪山典子, 滝 克彦, 湯川真澄, 小宮山直美, 神沼二眞 : *C. elegans* の発生過程のグラフィックス
バイオイメージング学会 (2000.11)
- 滝 克彦, 湯川真澄, 小宮山直美, 岡田真紀子, 斉藤竜太, 會田善崇, 濱 義昌, 神沼二眞 : 線虫発生過程の画像解析
バイオイメージング学会 (2000.11)
- 神沼二眞, 湯川真澄, 岡田真紀子, 小宮山直美 : *C. elegans* を用いたスクリーニング法の開発
環境ホルモン学会 (2000.12)
- 小谷野和郎, 中野達也, 神沼二眞 : COMFAによるダイオキシンの毒性予測
環境ホルモン学会 (2000.12)
- 山本美智子, 落合宏英, 會田喜崇, 濱 義昌, 小沢直記, 高井貴子, 中田琴子, 神沼二眞 : 薬物代謝酵素チトクローム (CYP) P450相互作用データベース
薬学会 (2001.3)
- Takako Takai-Igarashi and Tsuguchika Kaminuma : Cell Signaling Networks Database and its Application to Medicinal Biology
CBI学会 (2000.7)
- T. Kaminuma : Future of Toxicology and Role of Asian Chemical Safety Network
ASIATOX II, Korea (2000.8)
- T. Kaminuma, M. Yukawa, M. Okada, N. Komiyama, N. Kabuyama, H. Taki : A Dynamic Reconstruction Model for Embryo Development of *C. elegans*
Genome Workshop (2000.12)
- Nakata, K., Nakano, T., Fukuzawa, K., Koyano, K. and Kaminuma, T.: Mode of Action Analysis of Endocrine Disrupting Chemicals,
Biophysical Society 45th Annual Meeting (Boston, 2001.2)
- Nakata, K., Nakano, T., Takai-Igarashi, T. and Kaminuma, T.: Pharmacoinformatics infrastructure for genome based personalized medicine.
Genome Informatics Workshop (Tokyo, 2000.12)
- Nakata, K., Hasegawa, S. and Kaminuma, T.: Extension of a Receptor Database for Pharmacological Research.
Advanced Genomics (Yokokama, 2000.11)
- Nakata, K., Takai, T., Nakano, T. and Kaminuma, T.: Receptor Database (RDB) as an analytical tool for the drug design.
International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure (Novosibirsk, 2000.8)
- 中田琴子, 高井貴子, 長谷川式子, 神沼二眞 : 受容体データベースの発展
CBI学会 (2000.7)
- Nakata, K., Nakano, T., Takai, T. and Kaminuma, T.: Structure analysis of estrogen receptor using receptor database. (Kyongyu, May 2000)
- Nakata, K., Takai, T., Nakano, T. and Kaminuma, T. : Receptor Database (RDB): As an Analytical Tool.
RECOMB 2000 (Tokyo, 2000.4)
- 山本 都, 高井貴子, 神沼二眞 : 健康危機管理ホームページの構築と検索エンジンの開発
CBI学会第1回年会 (2000.7)
- 中野達也, 神沼二眞, 上林正巳^{*1}, 佐藤智之^{*2}, 稲富雄一^{*3}, 秋山 泰^{*4}, 古明地勇人^{*5}, 長嶋雲兵^{*5}, 北浦和夫^{*6} : フラグメントMO法プログラムABINIT-MPによるタンパク質の計算
2000 計算化学討論会 (2000.6)

*1 生命工学工業技術研究所

*2 ㈱富士総合研究所

*3 筑波大学

*4 電子技術総合研究所

*5 産業技術融合領域研究所

*6 大阪府立大学

中野達也, 神沼二眞, 上林正巳*¹, 佐藤智之*², 稲富雄一*³, 秋山 泰*⁴, 古明地勇人*⁵, 長嶋雲兵*⁵, 北浦和夫*⁶: フラグメントMO法プログラムABINIT-MPによるタンパク質の計算 2

CBI学会 (2000.7)

*¹ 生命工学工業技術研究所

*² (株)富士総合研究所

*³ 筑波大学

*⁴ 電子技術総合研究所

*⁵ 産業技術融合領域研究所

*⁶ 大阪府立大学

中野達也, インターネットアトラス*¹, 小谷野和郎, 神沼二眞: 内分泌かく乱候補物質および関連物質データベースの開発

2000CBI学会 (2000.7)

*¹ (株)インターネットアトラス

中野達也, 神沼二眞, 上林正巳*¹, 佐藤智之*², 稲富雄一*³, 秋山 泰*⁴, 古明地勇人*⁵, 長嶋雲兵*⁵, 北浦和夫*⁶: フラグメント分子軌道法による解析的微分を用いた構造最適化計算 第23回情報化学討論会 (2000.10)

*¹ 生命工学工業技術研究所

*² (株)富士総合研究所

*³ 筑波大学

*⁴ 電子技術総合研究所

*⁵ 産業技術融合領域研究所

*⁶ 大阪府立大学

中野達也, 福澤 薫*¹, 小谷野和郎, 中田琴子, 神沼二眞: エストロゲン受容体とリガンドとの結合性の計算 日本内分泌攪乱化学物質学会第3回研究発表会 (2000.12)

*¹ (株)富士総合研究所

関澤 純: 環境ホルモン物質によるリスクを考える 第3回内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウム (2000.12)

Sekizawa J., Murayama T.*¹ and Nagashima M.*²: Risk Communication on Endocrine Disruptors and Dioxins by News Media in Japan

2000 Annual Meeting of the Society for Risk Analysis (2000.12)

*¹ Waseda University

*² Kyowa Hakko Kogyo CO., LTD.

Sekizawa J. and Sugimori S.*: Risk Communication on the Problems Regarding Endocrine Disruptors and on Release of Information on Pollutant Emission from Industrial Plants

Fifth International Conference on Probabilistic Safety Assessment and Management (2000.11)

* Tokyo Gakugei University

関澤 純, 内山巖雄*¹, 松井三郎*²: 環境を経由した化学物質による次世代影響リスクの統合的な評価—医薬品を例とした予備的評価と文献的考察— 第13回日本リスク研究学会研究発表会 (2000.11)

*¹ 国立公衆衛生院

*² 京都大学

関澤 純, 今井 清*¹, 松木容彦*¹, 吉岡義正*²: 医薬品その他の生理活性物質の環境中運命と環境中生物に及ぼす影響の評価

第14回日本動物実験代替法学会研究発表会 (2000.11)

*¹ 食品薬品安全センター

*² 大分大学

関澤 純: IT時代における食品添加物情報—情報提供・情報入手におけるそれぞれの役割— 日本食品化学学会第11回食品化学シンポジウム (2000.11)

関澤 純: 環境分析とリスクコミュニケーション 環境分析技術協議会第29回総会特別講演 (2000.11)

関澤 純: リスクの考え方—化学物質の安全性確保におけるリスク評価とリスク管理の役割— リスクマネジメントセミナー (2000.10)

関澤 純: 化学物質のリスクにおける不確実性の評価 第13回日本リスク研究学会春期シンポジウム (2000.6)

Sekizawa J., Suter G.* and Birnbaum L.*: Case Study on Tributyltin and Triphenyltin Compounds - Information Package

International Workshop on Integrated Risk Assessment (2001.4)

* US Environmental Protection Agency

井上 達: 特別講演「ホルモン様化学物質とその内分泌攪乱性生体作用の背景」

日本膜学会第22年会 (2000.5)

井上 達, 遠山千春*: ワークショップ「化学物質による毒性評価系としての遺伝子変異動物」

第27回日本トキシコロジー学会学術年会 (2000.6)

* 国立環境研究所

Inoue, T.: Plenary Lectures "Current trends in Hematotoxicology Hemopoietic stem cells as a tool of interpreting the mechanism of hematotoxicology"

The Second Congress of Asian Society of Toxicology, ASIATOX II (2000.8)

井上 達: 内分泌攪乱化学物質の評価法の現状

第6回環境ホルモン学会講演会「内分泌攪乱化学物質の評価・試験法」 (2000.10)

井上 達: 内分泌作用物質と内分泌かく乱

第一回植物エストロゲン・シンポジウム (2001.1)

Inoue, T.: Hormone-mimic chemicals and their possible endocrine disruption - Development of testing methods - The First Symposium of The NIRT/KFDA and BSRC/HIHS (200.10)

Inoue, T.: **Hormonally active compounds and their implication of low-dose effects**

Annual Symposium of The Korean Society of Endocrinology (2000.11)

Inoue, T.: **Hormonally active compounds (HAC) and endocrine disruption (ED) -possible mechanism of "low dose effect"**

U.S.-Japan International Workshop for Endocrine Disrupting Chemicals (2001.3)

高橋 雄, 小泉健一*, 北嶋 聡, 高木篤也, 井上 達, 古関明彦*, 相賀裕美子: **Mesp2はNotchシグナリングとDIIIの発現を制御することによって体節の前後極性の確立に関与する**

第33回日本発生生物学会 (2000.5)

*千葉大学医学部

北嶋 聡, 高木篤也, 井上 達, 相賀裕美子: **転写因子MesP1およびMesP2の初期中胚葉形成における役割**

第33回日本発生生物学会 (2000.5)

澤田篤志*¹, 黒岩厚*², 相賀裕美子, 武田洋幸*¹: **ゼブラフィッシュ体節形成におけるher1の周期的な発現**

第33回日本発生生物学会 (2000.5)

*¹国立遺伝学研究所

*²名古屋大学理学部

Kitajima, S., Takagi, A., Inoue, T., Saga, Y.: **Mesp1 and Mesp2 are essential for the development of cardiac mesoderm**

Mouse Molecular Genetics 2000 (2000. 8)

Nomura-Kitabayashi, A., Takagi, A., Kitajima, S., Sawada, A. *, Inoue, T., Takeda, H. *, Saga, Y.: **mespb, zebrafish Mesp-related gene, partially rescues segmentation defect in Mesp2-deficient mice**

Mouse Molecular Genetics 2000 (2000. 8)

*国立遺伝学研究所

Takahashi, Y., Inoue, T., Saga, Y.: **Expression of Mesp2 is correlated with the molecular clock and regulates Notch pathway genes in somitogenesis**

Mouse Molecular Genetics 2000 (2000. 8)

Takahashi, Y., Koizumi, K. *, Takagi, A., Kitajima, S., Inoue, T., Koseki, H. * and Saga, Y.: **Mesp2 initiates somite segmentation via the Notch signaling pathway**

Mouse Molecular Genetics 2000 (2000. 8)

*千葉大学医学部

Kitajima, S., Takagi, A., Inoue, T. and Saga, Y.: **MesP1 and MesP2 are essential for the development of cardiac mesoderm**

International Congress on Cell Differentiation and Development (2000. 9)

相賀裕美子: **体節形成とNotchシナリング: 転写因子MesP2による制御**

第73回日本生化学会 (2000.10)

相賀裕美子: **繰り返しパターンの確立機構**

第53回日本細胞生物学会 (2000.10)

Saga, Y.: **Function of Mesp2, a bHLH-type transcription factor, in somite segmentation**

International Symposium in Conjunction With Award of The International Prize for Biology -Frontiers of Developmental Biology-(2000. 11)

高橋 雄, 小泉健一*, 北嶋 聡, 高木篤也, 井上 達, 古関明彦*, 相賀裕美子: **体節の前後極性の形成におけるMesP2とNotchシグナリングの役割**

第23回日本分子生物学会 (2000.12)

*千葉大学医学部

高木篤也, 北嶋 聡, 北林あや, 高橋雄, 井上達, 相賀裕美子: **転写因子Mesp2及びParaxisのダブルノックアウトマウスの解析**

第23回日本分子生物学会 (2000.12)

北林あや, 高木篤也, 北嶋 聡, 澤田篤志*, 井上 達, 武田洋幸*, 相賀裕美子: **Mesp 転写因子の機能解析: ゼブラフィッシュ Mesp2 ホモログ, mespb によるレスキュー**

第23回日本分子生物学会 (2000.12)

*国立遺伝学研究所

原口清輝, 北嶋 聡, 高木篤也, 北林あや, 井上 達, 小林 悟*, 相賀裕美子: **マウス nanos 遺伝子の機能解析**

第23回日本分子生物学会 (2000.12)

*筑波大学生物科学系

Kitajima, S., Kitabayashi, A., Hirabayashi, Y., Saga, Y. and Inoue, T.: **A novel haploid germ cell-specific antigen detected by monoclonal antibody during rat spermatogenesis**

2000 Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Germ Cells (2000.10)

加藤千明*, 堀井郁夫*, 北嶋 聡, 相賀裕美子, 井上 達: **Flow cytometry を用いたラット精巣毒性検査方法の検討 - Cyclophosphamide2 週間投与の影響 -**

第27回日本トキシコロジー学会 (2000.6)

*日本ロシユ(株)研究所

井上 達, 北嶋 聡, 門馬純子*: **モルモットの皮膚反応における基本法則: 3つのパラメーターの関係式について**

第90回日本病理学会総会 (2001.4)

*医薬品機構

平林容子, 淀井淳司*, 菅野 純, 鈴木幸子, 尹 秉一, 内田雄幸, 梅村隆志, 川崎 靖, 黒川雄二, 井上 達: **Trx/ADF 遺伝子改変マウスのパラコート耐性**

第90回日本病理学会総会 (2001.4)

*京都大学ウイルス研究所

Hirabayashi, Y., Yoon, B.I., Kodama, Y., Kanno, J. and Inoue, T.: **Connexin-32 gap junction is involved in the normal hemopoiesis** Keystone Symposia "Pluripotent Stem Cells: Biology and Applications" (2001.2)

Yoon, B.I., Hirabayashi, Y., Kawasaki, Y., Kodama, Y., Igarashi, K., Kanno, J., Kaneko, T. and Inoue, T.: **cDNA microarray in mouse bone marrow cells: Profiles reflecting the epigenetic responses to benzene**

第 23 回日本分子生物学会年会 (2000.12)

田中 稔*¹, 平林容子, 中村健司*¹, 中尾和貴*¹, 井上 達, 勝木元也*², 宮島 篤*¹: **オンコスタチンM受容体ノックアウトマウスの解析**

第 23 回日本分子生物学会年会 (2000.12)

*¹ 東京大学分子細胞生物学研究所

*² 東京大学医科学研究所

Yoon, B.I., Hirabayashi, Y., Kawasaki, Y., Kodama, Y., Kaneko, T. and Inoue, T.: **Over-expression of thioredoxin in transgenic mice attenuates hematotoxicity induced by benzene**

American Society of Hematology Forty-Second Annual Meeting (2000.12)

Tanaka, M.*¹, Hirabayashi, Y., Nakamura, K.*¹, Nakao, K.*¹, Inoue, T., Katsuki, M.*² and Miyajima, A.*¹: **Targeted disruption of the Oncostatin M receptor gene causes unsettled anemia**

American Society of Hematology Forty-Second Annual Meeting (2000.12)

*¹ 東京大学分子細胞生物学研究所

*² 東京大学医科学研究所

平林容子, 相澤慎一*, 井上 達: **p53 欠失骨造血幹細胞の増殖能—連続骨髄移植アッセイモデル**

第 17 回日本疾患モデル学会総会 (2000.11)

* 熊本大学・発生医学研究センター

Yoon, B.I., Kawasaki, Y., Hirabayashi, Y., Kaneko, T., Kodama, Y., Aizawa, S-i. and Inoue, T.: **Different leukemogenic mechanisms of benzene in wild, p53 hetero- and homozygous deficient mice**

第 17 回日本疾患モデル学会総会 (2000.11)

平林容子, 高木篤也, 尹 乗一, 児玉幸夫, 五十嵐勝秀, 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γ線に対する抵抗性**

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

尹 乗一, 平林容子, 児玉幸夫, 五十嵐勝秀, 菅野 純, 井上 達: **ベンゼン暴露マウス骨髄細胞における cDNA マイクロアレイによる遺伝子発現のプロフィール**

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

吉田和子*, 相澤志郎*, 平林容子, 井上 達: **副腎皮質ホルモンは p53 を介さないアポトーシスによって放射線誘発リンパ性腫瘍の発生を抑制する**

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

*放射線医学総合研究所

吉田和子*, 相澤志郎*, 渡辺恵子*, 平林容子, 井上 達: **p53 遺伝子欠失マウスに発症する造血器腫瘍—p53 遺伝子欠失骨髄で造血系を再建したマウスとの比較—**

日本放射線影響学会第 43 回大会 (2000.8)

*放射線医学総合研究所

相澤志郎*, 渡辺恵子*, 田中 薫*, 吉田和子*, 平林容子, 井上 達: **p53 ヘテロ欠失マウスからの放射線誘発胸腺リンパ腫における LOH 発生の機構解析**

日本放射線影響学会第 43 回大会 (2000.8)

*放射線医学総合研究所

Hirabayashi, Y., Yoon, B.I., Kawasaki, Y., Kaneko, T. and Inoue, T.: **Mechanism of benzene leukemogenicity: cell cycle suppression in CFU-GM**

The 28th World Congress of The International Society of Hematology (2000.8)

Hirabayashi, Y., Saga, Y., Kanno, J., Kurokawa, Y. and Inoue, T.: **Hematotoxicity by two oxidative stress agents, ultraviolet light (UV) and paraquat, in Thioredoxin/ADF transgenic and knock-out mice: comparison between in vitro and in vivo study**

The Second Congress of Asian Society of Toxicology, ASIATOX II (2000.8)

Yoon, B.I., Hirabayashi, Y., Kawasaki, Y., Kodama, Y., Kaneko, T. and Inoue, T.: **p21CIP1 plays a pivotal role in the cell cycle suppression of hemopoietic progenitor cells (CFU-GMs) induced by benzene**

The Second Congress of Asian Society of Toxicology, ASIATOX II (2000.8)

Hirabayashi, Y., Yoshida, K., Aizawa, S-i., Kodama, Y., Kanno, J. and Inoue, T.: **p53-deficiency directly revealed the non-threshold leukemogenesis by a single administration of relatively low-dose of methyl nitrosourea**

29th Annual Meeting of The International Society for Experimental Hematology (2000.7)

Yoon, B.I., Hirabayashi, Y., Kawasaki, Y., Kodama, Y., Kaneko, T. and Inoue, T.: **Mechanism of benzene toxicity and leukemogenicity: Cell cycle suppression in hemopoietic progenitor cells (CFU-GMs)**

29th Annual Meeting of The International Society for Experimental Hematology (2000.7)

平林容子, 児玉幸夫, 梅村隆志, 川崎 靖, 金子豊蔵, 菅野 純, 黒川雄二, 井上 達: **Thioredoxin/ADF 遺伝子改変マウス由来の造血前駆細胞における酸化的ストレス物質の造血毒性発現様式**

第 27 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2000.6)

Ono, A., Kanno, J. and Inoue, T.: **Molecular aspects of functional differences among estrogen receptor ligands**

11th International Congress of Endocrinology (2000.12)

Kaneko, T.: **Current researches at the MHW-Study of Dioxin exposure and related effects on endometriosis-**
The 1st Symposium of The NITR/KFDAKOREA and BSRC/NIHS/JAPAN (2000.10)

金子豊蔵: **GLP管理下の実験動物管理**
第2回中日医薬品安全性評価学術シンポジウム (2001.3)

松島裕子, 井上 達, 菅野 純: **17 β -estradiolの思春期前ラット投与における子宮肥大について-内分泌かく乱作用を照準とした経世代試験改良のための考察-**
第3回日本内分泌かく乱化学物質学会 (2000.12)

相崎健一, 菅野 仁*¹, 井川洋二*², 三輪史朗*³, 相澤信*¹: **解糖系異常により誘発される赤芽球系前駆細胞のアポトーシス**
第20回血液幹細胞シンポジウム (2000.11)

*¹ 日本大学医学部

*² 理化学研究所

*³ 沖中記念成人病研究所

Aisaki, K., Aizawa, S.*¹, Fujii, H.*², Ikawa, Y.*³, Miwa, S.*⁴, Nakagawa, S.*¹ and Kanno, H.*¹: **Inhibition of glycolysis as well as mutations of pyruvate kinase gene causes apoptosis of erythroid progenitor cells both in vivo and vitro**
The American Society of Hematology 42th Annual Meeting (2000.12)

*¹ 日本大学医学部

*² 日本女子医大

*³ 理化学研究所

*⁴ 沖中記念成人病研究所

Kanno, J., Kato, H.*¹, Iwata, T.*² and Inoue, T.: **Uterotrophic effect of dietary Genistein/Daidzein—Modification of NIH-07 open formula—**
RH Workshop・Hormone and Endocrine Disruptors in Food and Water: Possible Impact on Human Health (2000.5)
* Nihon Bioresearch Center Inc.

Kanno, J., Kato, H.*¹, Iwata, T.*² and Inoue, T.: **A Modified NIH-07 open Formula Diet Containing Undetectable Genistein/Genistin and Daidzein/Daidzin Reduces Uterine Weights in Ovariectomized rats**
Gordon Research Conferences Environmental Endocrine Disruptors (2000.6)
* Nihon Bioresearch Center Inc.

Kanno, J.: **Endocrine Disruptors (EDCs); Towards risk assessment—Strategy for Testing**
第1回韓国・日本毒性関連所轄研究所会議 (2000.10)

菅野 純: **in vivo assay法とその問題点・子宮重量増加測定法とHershberger試験法**
第6回環境ホルモン学会講演会・内分泌攪乱化学物質の評価・試験法 (2000.10)

菅野 純: **子宮肥大試験を中心としたエストロゲン様化学物質のスクリーニング**
第3回内分泌攪乱化学物質に関する国際シンポジウム (2000.12)

菅野 純: **内分泌攪乱化学物質問題について**
第30回塩ビ食品衛生セミナー (2000.12)

Kanno, J.: **Dioxin effects in rodent models in vivo and in vitro**
Current Topics in Dioxin Research (2001.2)

Kanno, J.: **Endocrine disruption as a receptor-mediated toxicity**
The 45th NIBB International Conference, Recent Progress in Endocrine Disruptor Research (2001.3)

松永信人*¹, 菅野 純, 吉村功*²: **相乗性評価のための小動物実験の計画と解析**
応用統計学会・日本計量生物学会 (2001.4)

*¹ 協和発酵

*² 東京理科大学

菅野 純: **内分泌かく乱化学物質—受容体原生毒性としての考察**
第90回日本病理学会総会 (2001.4)

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, 大野泰雄, 内田英二*², 安原 一*², 佐藤哲男*¹: **公的資源: ヒト肝臓—わが国の現状と将来展望**
第13回日本動物実験代替法学会 (1999.11)

*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: **今後の新薬開発における薬物動態試験**
定量的オートラジオグラフ研究会 (2000.4)

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: **医薬品開発における手術材料の有用性と信頼性**
HAB協議会 (2000.5)

*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: **薬物相互作用検討ガイドランス (案)におけるヒト培養肝細胞の取り扱いとヒト由来の初代培養肝細胞を用いた薬物代謝試験およびそのバリデーションについて**
肝細胞研究会 (2000.6)

大野泰雄: **ICHガイドラインの果たした役割と問題点 5. TK, PKの安全性研究における役割**
第27回日本トキシコロジー学会セミナー II (2000.6)

鈴木 聡*¹, 新倉靖子*¹, 西村有希*², 倉田知光*², 伊藤洋二*³, 草野満夫*³, 佐藤哲男*¹, 大野泰雄, 安原 一*²: **医薬品開発における手術材料の有用性と信頼性**

第27回日本トキシコロジー学会 (2000.6)

*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

堺 俊治*1, 高橋道人*2, 三森国敏*3, 安原加壽雄, 川島邦夫*4, 馬屋原宏*5, 宮本庸平*6, 古川雅一*7, 河下 伸*8, 川口雅子*9, 中野雄司*10, 渡部一人*11, 池尾富弘*12, 川下浩人*13, 細川 暁*14, 渡邊隆夫*15, 浅野 哲*16, 小沢重成*17, 土屋毅幸*18, 松本智志*19, 林万津子*20, 山内研司*21, 三善隆広*22, 恒成一*23, 米良幸典*24, 川村信之*25, 工藤 哲*26, 福田 良*27, 村上善紀*28, 船橋 斉*29, 入村兼司*30, 大瀧芽久美*31, 岡原明彦*32, 伊藤今日子*1, 大野泰雄: 反復投与試験におけるラット雄性生殖器官への毒性の評価に関する共同研究 29) まとめ

第27回日本トキシコロジー学会 (2000.6)

*1 山之内製薬

*2 昭和大学

*3 東京農工大学

*4 化合物安全性研究所

*5 ラビトン

*6 東レ

*7 三井製薬

*8 ウェルファイド

*9 日研化学

*10 旭化成

*11 中外製薬

*12 田辺製薬

*13 ノバルティスファーマ

*14 エーザイ

*15 興和

*16 帝人

*17 キッセイ

*18 三菱東京製薬

*19 大塚製薬

*20 日本ロッシュ

*21 藤沢薬品工業

*22 富山化学

*23 日本ベーリンガーインゲルハイム

*24 ゼリア新薬工業

*25 アベンティスファーマ

*26 杏林製薬

*27 武田薬品

*28 日本ワイスレダリー

*29 大日本製薬

*30 大鵬製薬

*31 東京田辺製薬

*32 参天製薬

Misawa, Y.*, Watanabe, K.*, Sakurai, T.*, Fujii, E.*, Tsukamoto, K.*, Kato, A.*, Sugimoto, T.* and Ohno, Y.: **Influence of the administration period on testicular toxicity of a platinum complex compound in rats**

2000 Asia Tox. (2000.8)

*興和

大野泰雄: 薬物動態試験ガイドランスとその最近の動向
創薬放射線研究会 (2000.9)

Baba, T.*1, Touchi, A.*1, Yamaguchi, Y.*1, Ito, K.*2, Yamazoe, Y.*3, Sugiyama, Y.*4 and Ohno, Y.: **Is only unbound drug available for metabolism and enzyme inhibition?**

International Symposium on Serum Albumin and α 1-acid Glycoprotein (2000.10)

*1 塩野義製薬

*2 北里大学

*3 東北大学

*4 東京大学

戸内 明*1, 山口嘉隆*1, 馬場隆彦*1, 伊藤清美*2, 山添 康*3, 杉山雄一*4, 大野泰雄: 非結合型濃度だけで *in vitro* 代謝反応や酵素阻害を説明できるのか?

日本薬物動態学会 (2000.10)

*1 塩野義製薬

*2 北里大学

*3 東北大学

*4 東京大学

大野泰雄: 薬物相互作用ガイドランスについて 1, イントロダクション・国際対応の面から

日本薬物動態学会フォーラム (2000.10)

Baba, T.*1, Touchi, A.*1, Yamaguchi, Y.*1, Ito, K.*2, Yamazoe, Y.*3, Sugiyama, Y.*4 and Ohno, Y.: **Can *in vitro* metabolism and enzyme inhibition be explained by unbound drug concentration?**

North American ISSX meeting (2000.10)

*1 塩野義製薬

*2 北里大学

*3 東北大学

*4 東京大学

Ohno, Y.: **Do we need quality control of drug interaction studies?**
EUCEP (2000.11)

Ohno, Y.: **GLP regulation of Pharmacokinetic and Toxicokinetic Studies for Drug Development in Japan**

North American ISSX meeting (2000.10)

大野泰雄: 創薬とその開発過程における薬理学の役割, 医薬品の薬理作用と薬物動態の位置づけ

第74回日本薬理学会 (2001.3)

Inoue, K. and Koizumi, S.: **Mechanism of the inhibitory action of ATP in hippocampus**

The Purines 2000, International Symposium of Nucleosides and Nucreotides. Madrid (2000.7)

井上和秀, 津田 誠, 小泉修一: ATP 受容体と痛み

第21回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム (2000.8)

井上和秀: ATP 受容体・オーバービュー

第4回ATP研究会 (2000.8)

Inoue, K.: **Independent signaling pathways in ATP-evoked secretion of plasminogen and cytokines from microglia**

1st International Workshop on Nucleotides and their Receptors in the Immune System (2000.9)

井上和秀: ATP 受容体の脳内生理機能・オーバービュー
第43回日本神経化学会シンポジウム (2000.9)

井上和秀: ATP と痛み
第7回創薬を目指した生理活性物質研究会 (2000.10)

井上和秀, 重本由香里, 小泉修一, 津田 誠, 大沢圭子*, 高坂新一*: **ミクログリアでのATP誘発IL-6放出**

第74回日本薬理学会年会 (2001.3)

*国立精神神経センター

高坂新一*, 本田静世*, 佐々木洋*, 金沢裕子*, 大沢圭子*, 今井嘉紀*, 井上和秀: **ATPによるミクログリア遊走性の亢進**

第74回日本薬理学会年会 (2001.3)

*国立精神神経センター

Koizumi, S., Kita, A., Tsuda, M. and Inoue, K.: **Imaging of inhibition by ATP of glutamatergic synaptic activity in cultured hippocampal neurons with FM1-43**

Purine 2000 International Meeting (2001.7)

小泉修一, 重本由香里, 津田 誠, 井上和秀: **培養海馬アストロサイトにおいて内因性ATPにより惹起されるCa²⁺シグナルの性質**

第23回日本神経科学学会大会 (2000.9)

小泉修一, 井上和秀: **中枢神経系P2受容体の機能**
第43回日本神経化学会大会 (シンポジウム) (2000.10)

Koizumi, S., Lipp, P.*, Berridge, M.J.*, Bootman, M.D.* and Inoue, K.: **Regulation of ryanodine receptor opening by luminal Ca²⁺ underlies quantal Ca²⁺ release in PC12 cells**

Society for Neuroscience 29th Annual Meeting (2000.11)

* The Babraham Institute, Cambridge, U.K.

小泉修一, 井上和秀: **アストログリアのATP誘発Ca²⁺動態**
第74回日本薬理学会年会 (2001.3)

小泉修一, 津田 誠, 重本由香里, 小濱とも子, 井上和秀: **ラット後根神経節細胞のP2Y受容体の解析**

第74回日本薬理学会年会 (2001.3)

津田 誠, 井上和秀: **α , β -methylene ATP誘発mechanical allodyniaの末梢および脊髄における発症機序の解析**

第74回日本薬理学会年会 (2001.3)

Nakazawa, K., Ohno, Y., North, R.A.* and Surprenant, A.*: **Amino acid substitutions which alter the calcium permeability of P2X2 receptors**

Purines 2000: Biochemical, Pharmacological and Clinical Per-

spectives (2000.7)

* The University of Sheffield

Sato, K., Nakazawa, K., Matsuki, N.* and Ohno, Y.: **The effect of estrogen and the related compounds on the neuronal survival in the organotypic hippocampal culture**

The 30th Annual Meeting of Society for Neuroscience (2000.11)

*東京大学薬学部

中澤憲一, 大野泰雄: **アフリカツメガエル卵母細胞発現系の毒性評価への応用**

第14回日本動物実験代替法学会 (2000.11)

佐藤 薫, 中澤憲一, 松木則夫*, 大野泰雄: **エストロゲンおよびその類縁物質のCA3-苔上線維シナプスに対する作用**

第74回日本薬理学会年会 (2001.3)

*東京大学薬学部

中澤憲一, 大野泰雄: **EGFP連結型P2X2受容体の作製と発現**
第74回日本薬理学会年会 (2001.3)

小澤正吾: **第II相薬物代謝酵素の遺伝子多型と疾病感受性・薬物感受性との関連**

第27回日本トキシコロジー学会ワークショップ (2000.6)

石田誠一, Nevins, J.R.*: **誘導される遺伝子群から見たE2Fの細胞周期における役割**

第59回日本癌学会総会 (2000.10)

* Duke University Medical Center, USA.

Ui, A.*, Sato, Y.*, Onoda, F.*, Miyajima, A., Seki, M.* and Enomoto, T.*: **Sgs1 acts together with Top3 in DNA repair and suppression of hyper recombination**

第23回日本分子生物学会年会 (2000.12)

*東北大学

嶋田 薫*, 松浦友美*, 大野泰雄, 簾内桃子, 馬場隆彦*, 戸内 明*, 泉 高司*, 繁原英治*, 吉村義信*, 青山英嗣*, 岡崎 治*, 大川原 聡*, 石谷祥彦*, 中川俊人*, 有馬德行*, 藤崎 浩*: **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・有効性評価法の確立に関する研究(1) 凍結ヒト肝細胞を用いた薬物代謝評価法の検討**

日本薬物動態学会 (2000.10)

*日本製薬工業協会

吉村義信*, 青山英嗣*, 大野泰雄, 簾内桃子, 馬場隆彦*, 桐田史朗*, 三浦慎一*, 繁原英治*, 嶋田 薫*, 村瀬茂夫*, 岡崎 治*, 大川原 聡*, 石谷祥彦*, 中川俊人*, 有馬德行*, 藤崎 浩*: **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・有効性評価法の確立に関する研究(2) 非凍結ヒト肝細胞を用いた薬物代謝酵素の誘導評価法の検討**

日本薬物動態学会 (2000.10)

*日本製薬工業協会

紅林秀雄, 別井弘始, 川原信夫, 佐竹元吉, 大野泰雄: **ビスフェノールAのラットにおける代謝物の検討**

第74回日本薬理学会年会 (2001.3)

第74回日本薬理学会年会 (2001.3)

第74回日本薬理学会年会 (2001.3)

第74回日本薬理学会年会 (2001.3)

第74回日本薬理学会年会 (2001.3)

第74回日本薬理学会年会 (2001.3)

第74回日本薬理学会年会 (2001.3)

第74回日本薬理学会年会 (2001.3)

第74回日本薬理学会年会 (2001.3)

第 3 回日本内分泌攪乱化学物質学会 (2000.12)

紅林秀雄, 大野泰雄: ゴム老化防止剤 2-mercaptobenzimidazole(MBI)のヒト肝ミクロソーム酵素系での代謝と阻害作用
日本薬学会第 121 年会 (2001.3)

満長克祥*, 二階堂保*, 宇佐見 誠, 大野泰雄: BIACORE バイオセンサーによる化学物質とエストロゲン受容体との結合の測定
日本薬学会第 121 年会 (2001.3)

* 東邦大学

中島幹夫*, 佐々木眞敬*, 小林洋四郎*, 宇佐見 誠, 大野泰雄: インジウムにより誘発されるラット尾部奇形発現機序に関する検討
第 40 回日本先天異常学会学術集会 (2000.7)

*旭化成工業株式会社ライフサイエンス総合研究所

宇佐見 誠, 大野泰雄: ラット培養胚の発育に及ぼすウサギ補体成分 C3 の効果に関する研究
第 40 回日本先天異常学会学術集会 (2000.7)

西川秋佳, 古川文夫, 広瀬雅雄: タバコ煙によるラット MeIQx 誘発がんの促進と CYP1A2 の誘導
第 89 回日本病理学会総会 (2000.4)

古川文夫, 西川秋佳, 阿部 寛*, 高橋道人, 須田耕一*, 広瀬雅雄: 合成ソマトスタチンの自然発症肺炎ラットに対する病理組織学的検討
第 89 回日本病理学会総会 (2000.4)

*順天堂大学

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 および代謝物 2,6-dimethylaniline 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 129 回日本獣医学会 (2000.4)

*吉富製薬

高木久宜, 三森国敏, 小野寺博志, 安原加壽雄, 田村 啓, 那須昌弘*, 広瀬雅雄: 補骨子抽出物の精巢毒性発現機序に関する研究
第 27 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2000.6)

*パナファーム・ラボラトリーズ

小野寺博志, 三森国敏, 高木久宜, 安原加壽雄, 田村啓, 広瀬雅雄, 玉置憲一*, 野村達次*: p53(+/-)C57BL/6 および p53(+/-)CBA マウスにおける phenolphthalein の発がん感受性
第 27 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2000.6)

*実験動物中央研究所

宮内 慎, 西川秋佳, 古川文夫, 中村英明, 孫 和永, 内田浩二*, 広瀬雅雄: 四塩化炭素投与によるアクロレイン修飾蛋白の経時変化と N-acetylcysteine の影響
第 27 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2000.6)

*名古屋大学

中村英明, 西川秋佳, 古川文夫, 宮内 慎, 孫 和永, 広瀬雅雄: LEG ラットの肝及び腎傷害に対する抗酸化物質の影響
第 27 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2000.6)

安原加壽雄, 三森国敏, 糀谷高敏, 小野寺博志, 高木久宜, 田村 啓, 広瀬雅雄: rasH2 マウスにおける t-Butylhydroquinone の単独投与ないし亜硝酸との併用投与による前胃粘膜への影響
第 27 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2000.6)

田村 啓, 三森国敏, 安原加壽雄, 小野寺博志, 高木久宜, 那須昌弘*, 広瀬雅雄: DHPN 単回投与ラットにおける甲状腺および精巢毒性の初期変化
第 27 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2000.6)

*パナファーム・ラボラトリーズ

中村英明, 古川文夫, 西川秋佳, 宮内 慎, 今沢孝喜, 広瀬雅雄: Tocotrienol の F344 ラットを用いた 13 週間亜慢性毒性試験
第 6 回日本食品化学学会総会 (2000.6)

仁保直子, 田村 啓, 豊田和弘, 畝山智香子, 高橋則行, 渋谷 淳, 広瀬雅雄: キチンのラットにおける 13 週亜慢性毒性試験
第 6 回日本食品化学学会総会 (2000.5)

宮内 慎, 古川文夫, 西川秋佳, 中村英明, 今沢孝喜, 広瀬雅雄: オレンジ色素の F344 ラットを用いた 13 週間亜慢性毒性試験
第 6 回日本食品化学学会総会 (2000.6)

*第 6 回日本食品化学学会総会 (2000.6)

古川文夫, 西川秋佳, 広瀬雅雄: ラット自然発生 aberrant crypt foci の生物学的意義に関する検討
第 11 回日本消化器癌発生学会総会 (2000.9)

西川秋佳, 古川文夫, 鈴木孝昌, 小原有弘, 林 真, 広瀬雅雄: p53 ヘテロ欠損マウスを用いた MeIQx の発がん分子機構の解析
第 11 回日本消化器癌発生学会総会 (2000.9)

小出彰宏*, 森 幸雄*, 西川秋佳, 古川文夫, 広瀬雅雄: 喫煙(GS)の環境発癌物質の代謝活性化に対する影響
第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

*岐阜薬科大学

西川秋佳, 佐井君江, 古川文夫, 孫 和永, 木苗直秀*, 井上 達, 黒川雄二, 広瀬雅雄: 水道水汚染物質 MX によるギャップ結合細胞間連絡阻害
第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

*静岡県立大学

高橋則行, 渋谷 淳, 畝山智香子, 豊田和弘, 仁保直子, 榊富直哉, 西川秋佳, 広瀬雅雄: ラット肝二段階発がんモデルを用いたフェノバタールプロモーション初期に特異的に発現する遺伝子の検索
第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

渋谷 淳, 高橋則行, 畝山智香子, 豊田和弘, 仁保直子, 榎富直哉, 広瀬雅雄: ペルオキシゾーム増生剤投与によりラット肝臓に特異的に誘導される NOS2-immunoreactive な 80KD タンパク質の発現について

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

池田尚子*, 西川秋佳, 孫 和永, 中村英明, 宮内 慎, 今沢孝喜, 木村修一*, 広瀬雅雄: 大豆過剰摂取とヨード欠乏との相乗的甲状腺発がん促進効果

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

*昭和女子大学

鈴木周五*, 朝元誠人*, 今井田克己*, 高橋 智*, 広瀬雅雄, 白井智之*: ラット中期肝発がんモデルにおける harman, norharman および NaNO₂ と MeIQx との相互作用

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

*名古屋市立大学

孫 和永, 西川秋佳, 池田尚子*, 今沢孝喜, 中村英明, 古川文夫, 広瀬雅雄: 卵巣摘出ラットを用いた DHPN 甲状腺腫瘍誘発モデルにおける内分泌攪乱物質の影響

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

*昭和女子大学

今沢孝喜, 西川秋佳, 池田尚子*, 中沢英子*, 曾根秀子*, 古川文夫, 中村英明, 広瀬雅雄: LEC ラット肝細胞における銅の蓄積とメタロチオネインの分布に関する電顕的検討

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

*1 昭和女子大学

*2 日立サイエンスシステムズ

*3 国立環境研究所

安原加壽雄, 三森国敏, 糀谷高敏, 小野寺博志, 高木久宜, 田村 啓, 瀧澤 保, 野村達次*, 広瀬雅雄: p53 ヘテロ欠陥マウスにおける 2,6-dimethylaniline(DNA) の発癌感受性

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

*実験動物中央研究所

小野寺博志, 三森国敏, 高木久宜, 安原加壽雄, 田村 啓, 瀧澤 保, 広瀬雅雄: N-Ethyl-N-nitrosourea(ENU) 投与 CBA マウスにおける ethinylestradiol(EE) の発がん性

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

宮内 慎, 西川秋佳, 古川文夫, 中村英明, 孫 和永, 山岸 恵, 広瀬雅雄: 抗酸化剤と亜硝酸の併用投与による MNNG 誘発ラット胃発癌に及ぼす影響

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

三森国敏, 小野寺博志, 高木久宜, 安原加壽雄, 田村 啓, 瀧澤 保, 広瀬雅雄: ラット甲状腺増殖性病変に対する内分泌攪乱物質 (EDC) の発癌修飾作用

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

高木久宜, 三森国敏, 小野寺博志, 安原加壽雄, 田村 啓, 瀧澤 保, 広瀬雅雄: ラット乳腺二段階発癌モデルを用いた内分泌攪乱化学物質の乳腺発癌修飾作用

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

畝山智香子, 渋谷 淳, 豊田和弘, 高橋則行, 仁保直子, 榎富直哉, 広瀬雅雄: メタカーン固定パラフィン包埋切片からの多目的な遺伝子発現解析 (第二報)

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

山岸 恵, 中村英明, 宮内 慎, 孫 和永, 古川文夫, 西川秋佳, 広瀬雅雄: IP6, Myoinositol の MeQx 肝発がんおよび雌ラット多臓器発がんに対する修飾作用

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

古川文夫, 西川秋佳, 宮内 慎, 中村英明, 孫 和永, 村上 明*, 高橋保男*, 広瀬雅雄: Auraptene のハムスター BOP 降発癌イニシエーション期における効果

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

*1 近畿大学

*2 和歌山県農産物加工研究所

高木功子*, 玉野静光*, 萩原秋裕*, 今井田克己*, 中西 巧*, 広瀬雅雄, 白井智之*: アミンと亜硝酸とアスコルビン酸による発がん修飾効果

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

*1 大雄会医学研究所

*2 名古屋市立大学

中村英明, 西川秋佳, 古川文夫, 宮内 慎, 孫 和永, 山岸 恵, 村上 明*, 高橋保男*, 広瀬雅雄: 1'-Acetoxychavicol acetate 及び auraptene による MNNG 誘発ラット腺胃発癌の抑制

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

*1 近畿大学

*2 和歌山県農産物加工研究所

李 仁善*, 韓 貞*, 輩 玉錫*, 古川文夫, 西川秋佳, 広瀬雅雄: 韓国産茸 *Polyozellus multiplex* による胃発がん予防効果の検討

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

*韓国啓明大学

吉野裕子*, 河部真弓*, 佐野真士*, 宮下嘉代子*, 市原敏夫*, 宮崎 淳*, 奥山治美*, 広瀬雅雄, 白井智之*: 中期多臓器発癌性試験法による菜種油とサンフラワー油の全身諸臓器発癌修飾作用の比較

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

*1 大雄会医科学研究所

*2 名古屋市立大学

渋谷 淳, 高橋則行, 畝山智香子, 小林恒雄, 仁保直子, 榎富直哉, 西川秋佳, 広瀬雅雄: ラット肝二段階発がんモデルを用いたフェノバルビタールプロモーション時期に発現する遺伝子の検索

第 130 回日本獣医学会学術集会 (2000.10)

田村 啓, 三森国敏, 安原加壽雄, 小野寺博志, 高木久宜, 瀧澤 保, 広瀬雅雄: ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入

(rasH2) マウスにおける urethane 誘発肺発がんに対する eu-
genol の修飾作用

第59回日本癌学会総会 (2000.10)

奈良間 功*¹, 今井田克己*², 岩田 聖*³, 中江 大*⁴, 西川
秋佳, 原田孝則*⁵: ラットにおける肝増殖性病変の分類, 用
語および診断基準の統一化

第1回日本毒性病理学会教育セミナー (2000.11)

*¹ 摂南大学

*² 名古屋市立大学

*³ 食品農薬薬品安全性評価センター

*⁴ 奈良県立医科大学

*⁵ 残留農薬研究所

西川秋佳: 食品添加物の安全性試験に関する国際的な動向
日本食品化学会第11回食品化学シンポジウム (2000.11)

田村 啓, 三森国敏*¹, 小野寺博志, 那須昌弘*², 高木久宜,
安原加壽雄, 上田 誠, 鈴木勝士*³, 広瀬雅雄: ラット甲状腺
二段階発癌モデルにおける麩酸のイニシエーション期投
与の影響

第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

*¹ 東京農工大学

*² パナファーム・ラボラトリーズ

*³ 日本獣医畜産大学

高木久宜, 三森国敏*¹, 小野寺博志, 森安眞津子*², 那須昌
弘*², 安原加壽雄, 田村 啓, 広瀬雅雄: 卵巣摘出ラットに
おける甲状腺発癌に対する Estradiol benzoate ないし内分泌
攪乱物質の修飾作用

第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

*¹ 東京農工大学

*² パナファーム・ラボラトリーズ

渋谷 淳, 阿部直子*, 畠山智香子, 中川恵子, 榎富直哉, 仁
保直子, 高橋則行, 小林恒雄, 広瀬雅雄: メタカーン固定材
料を用いた遺伝子産物の定量的発現解析及び遺伝子配列解
析について

第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

*旭テクノグラス

榎富直哉, 渋谷 淳, 畠山智香子, 中川恵子, 阿部直子*, 仁
保直子, 高橋則行, 小林恒雄, 広瀬雅雄: エストラジオール
周産期曝露による新生仔視床下部における遺伝子発現の変
化及び性成熟後の内分泌関連器官の影響について

第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

*旭テクノグラス

中村英明, 西川秋佳, 古川文夫, 豊田和弘*¹, 宮内 真, 孫
和永, 山岸 恵, 江下希美*², 広瀬雅雄: Catechol及びBHA
のカニューレを用いた経十二指腸投与によるラット前胃及
び腺胃の増殖活性への影響

第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

*¹ 日本タバコ産業

*² ボゾリサーチセンター

小林恒雄, 渋谷 淳, 高橋則行, 畠山智香子, 榎富直哉, 仁
保直子, 広瀬雅雄: Peroxisome proliferator 特異的にラット肝
臓で発現する iNOS-immunoreactive 80 kDa peptide について
第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

古川文夫, 西川秋佳, 孫 和永, 宮内 真, 中村英明, 広瀬
雅雄: ハムスター BOP 中期腺発がんモデルの検討
第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

小野寺博志, 三森国敏*, 高木久宜, 田村 啓, 安原加壽雄,
上田 誠, 広瀬雅雄: ENU と ethinylestradiol 投与による
p53(+/-)CBA マウスと長期飼育 CBA マウスでの子宮発癌感
受性の違い

第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

*東京農工大学

上田 誠, 三森国敏*¹, 小野寺博志, 高木久宜, 安原加壽雄,
瀧澤 保, 広瀬雅雄: ENU 誘発子宮発癌 rasH2 マウスモデ
ルにおける nonylphenol および ethinylestradiol 投与の影響
第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

*¹ 東京農工大学

瀧澤 保, 三森国敏*, 田村 啓, 安原加壽雄, 小野寺博志,
高木久宜, 上田 誠, 広瀬雅雄: rasH2 マウスにおける ENU
により誘発された前胃腫瘍に対する t-butylhydroquinone と
亜硝酸ナトリウム併用投与の影響

第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

*東京農工大学

安原加壽雄, 三森国敏*¹, 糀谷高敏, 小野寺博志, 高木久宜,
瀧澤 保, 林 裕造*², 広瀬雅雄: rasH2 マウスにおける NNK
誘発肺発癌に対する cinnamaldehyde の抑制作用
第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

*¹ 東京農工大学

*² 北里大学

山岸 恵, 西川秋佳, 孫 和永, 岡崎和志, 今沢孝喜, 古川
文夫, 広瀬雅雄: 水道水消毒副生成物MXの甲状腺発がん
に及ぼす影響

第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

Son, H-Y., Nisikawa, A., Yamagishi, M., Okazaki, K., Imazawa,
T., Furukawa, F. and Hirose, M.: Synergistic effects of caffeine
with iodine deficiency on the development of thyroid prolifera-
tive lesions in rats

第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

糀谷高敏, 三森国敏*, 安原加壽雄, 小野寺博志, 高木久宜,
田村 啓, 広瀬雅雄: 短期ラット二段階鼻腔発癌モデル確立
のためのイニシエーターの検討

第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

*東京農工大学

高橋則行, 渋谷 淳, 小林恒雄, 榎富直哉, 仁保直子, 広瀬
雅雄: ラット肝中期発がん性試験法でのプロモーション過
程に発現が変動する遺伝子の解析について

第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

豊沢かおる*¹, 三森国敏*², 安原加壽雄, 糀谷高敏, 松岡信男*¹, 広瀬雅雄: **Ethyl nitrosourea(ENU)により rasH2 マウスに誘発された腫瘍の導入遺伝子の過剰発現**

第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

*¹ 大日本製薬

*² 東京農工大学

仁保直子, 渋谷 淳, 畝山智香子, 榊富直哉, 中川恵子, 高橋則行, 小林恒雄, 関田節子, 広瀬雅雄: **モノクロタリン誘発マウス肺傷害モデルに対する小柴胡湯と IFN- α の修飾作用の検討**

第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

畝山智香子, 渋谷 淳, 中川恵子, 武吉正博*¹, 榊富直哉, 仁保直子, 高橋則行, 小林恒雄, 岡崎修三*², 一鬼 勉*³, 広瀬雅雄: **4-nonylphenol および methoxychlor のラット28日間反復経口投与による α 2u-globulin の肝での発現及び腎蓄積量の解析**

第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

*¹ 化学物質評価研究機構

*² ボゾリサーチセンター

*³ パナファーム・ラボラトリーズ

今沢孝喜, 小野寺博志, 小野景義, 樋口行人*¹, 池田尚子*², 西川秋佳, 佐竹元吉, 広瀬雅雄: **ゲンタマイシン誘発腎毒性に対する七物降下湯の抑制効果**

第17回日本毒性病理学会 (2001.1)

*¹ 東亜大学

*² 昭和女子大学

Imazawa, T., Nishikawa, A., Toyoda, K.*¹, Furukawa, F., Uneyama, C., Ikeda, T.*², Takahashi, M. and Hirose, M.: **Alteration of cell proliferation, apoptosis and p53 protein in the exocrine pancreas of rats treated with 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide**

40th Annual Meeting of Society of Toxicology (2001.3)

*¹ Japan Tobacco Inc.

*² Showa Woman's University

Son, H-Y., Nishikawa, A., Furukawa, F., Hirose, M.: **Organ-dependent modifying effects of oltipraz and 4-phenylbutyl isothiocyanate on N-nitrosobis (2-oxopropyl) -amine (BOP) initiated tumorigenesis in hamsters.**

40th Annual Meeting of Society of Toxicology (2001.3)

Takizawa, T., Mitsumori, K.*¹, Takagi, H., Onodera, H., Yasuhara, K. and Hirose, M.: **Mechanistic studies of testicular toxicity of Psoralea corylifolia extract in rats**

40th Annual Meeting of Society of Toxicology (2001.3)

*¹ Tokyo University of Agriculture and Technology

Shibutani, M., Uneyama, C., Masutomi, N., Abe, N.*¹, Takahashi, N., Nakagawa, K., Hirose, M.: **Dose-response study of perinatally exposed ethinylestradiol on the expression of ERE-containing genes in the SDN-POA of neonatal rats.**

40th Annual Meeting of Society of Toxicology (2001. 3)

* Asahi Techno Glass Co.

Uneyama, C., Shibutani, M., Nakagawa, K., Masutomi, N., Takahashi, M., Hirose, M.: **Methacarn, a fixation tool for multi-purpose gene expression analysis from paraffin-embedded tissues.**

40th Annual Meeting of Society of Toxicology (2001. 3)

Nishikawa, A., Ikeda, T.*¹, Son, H-Y., Imazawa, T., Kimura, S. and Masao Hirose: **Synergistic promotion effects of excess soybean and deficient iodine on DHPN-induced thyroid tumorigenesis in rats.**

92nd Annual Meeting of American Association for Cancer Research (2001.3)

*¹ Showa Woman's University

林 真: **In vitro 染色体異常試験結果の定量的評価**

第14回日本動物実験代替法学会大会 (2000.11)

浜田修一*¹, 並木千晶*¹, 茎田憲一*¹, 山崎賢一*², 中西 聡*², 中島一男*², 芹川忠夫*², 林 真: **ラットを用いた小核試験法の検討**

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

*¹ エスエス製薬(株)

*² 京都大学医学部

林 真: **今、私の考える環境変異原とは; 21世紀に向けて一正しく怖がるために一**

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

高井明徳*¹, 石川 卓*², 上野紘一*³, 中室克彦*⁴, 奥野智史*⁴, 上野 仁*⁴, 渡部由美*¹, 北野雅昭*⁵, 祖父尼俊雄*⁶, 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ー3**

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

*¹ 大阪信愛短大

*² 三重大学生物資源学部

*³ 近畿大学農学部

*⁴ 摂南大学薬学部

*⁵ 大阪市環境科学研究所

*⁶ オリnpas光学工業(株)

浜田修一*¹, 茎田憲一*¹, 中島一男*², 芹川忠夫*², 林 真: **ラット小核試験における加齢の影響系**

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

*¹ エスエス製薬

*² 京都大学医学部

Nishikawa, T.*¹, Haresaku, M.*¹, Fukushima, A.*¹, Nakamura,*¹, Adachi, K.*¹, and Hayashi, M.: **Study of a skin in vivo micro-nucleus test**

32nd Annual Meeting of USEMS (2001.3)

*¹ Lion Corporation

後藤佐智子*¹, Gordon A.*¹, 森本茂子*¹, 泉 雅子*¹, 本間正

充, 渡辺正巳^{*2}, 谷田貝文夫^{*1}: ほ乳類細胞における二重鎖切断修復機構へのp53蛋白の寄与

日本放射線影響学会第43回大会 (2000.8)

^{*1} 理化学研究所

^{*2} 長崎大学薬学部

本間正充: ほ乳類細胞および動物個体を用いる遺伝子突然変異試験

中国医薬品安全性評価管理センター日中友好プロジェクト遺伝毒理セミナー (2000.10)

Honma, M.: **Recombinational DNA repair and maintenance of genomic integrity mediated by p53.**

5th International Symposium on Predictive Oncology and Therapy (2000.10)

本間正充: p53の組換えを介した遺伝的安定化機構に関する研究

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

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: 早期老化症患者由来Bリンパ球細胞株の核誘発性と染色体不安定性

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

*エイジーン研究所

森本茂子*, 加藤武司*, 泉 雅子*, 福西暢尚*, 本間正充, 花岡文雄*, 谷田貝文夫*: 低線量中粒子照射によるヒト細胞での細胞応答

第23回日本分子生物学会年会 (2000.12)

*理化学研究所

本間正充: 遺伝毒性試験におけるマウスリンフォーマ試験の有用性—その特徴と実際—

第2回中日医薬品安全性評価学術シンポジウム (2001.3)

谷田貝文夫*, 森本茂子*, 加藤武司*, 後藤佐智子*, 本間正充: **Cellular response and genetic consequences after IR exposure.**

放射線障害の可視化に関する国際ワークショップ (2001.3)

*理化学研究所

大森 崇, 本間正充, 林 真, 吉村功*: マウスリンフォーマ試験のデータ解析法

応用統計学会・日本計量生物学会 2001年度合同年次大会 (2001.4)

*東京理科大学

Matsuoka, A., Tada, A., Nukaya, H., Terao, Y., Önfelt, A., Wachtmeister, C.A., and Wakabayashi, K.: **Cytogenetic activities of water pollutants PBTAs and their presumed mother compounds AZO DYES**

The 30th annual meeting of European Environmental Mutagen Society (2000.8)

^{*1} 国立がんセンター

^{*2} 静岡県立大学

^{*3} Wallenberg Laboratory, Stockholm University, Sweden

松岡厚子, 多田敦子^{*1}, 寺尾良保^{*2}, 糠谷東雄^{*2}, 若林敬二^{*1}: 河川水中の変異原物質PBTA類, アゾ色素およびPBTA誘導体の細胞遺伝学的研究

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

^{*1} 国立がんセンター

^{*2} 静岡県立大学

松岡厚子, 古田鮎美*, 尾崎正康*, 福原潔, 宮田直樹: 葡萄中天然抗酸化物質レスベラトロールの細胞遺伝学的研究

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

*ボゾリサーチセンター(株)

鈴木孝昌: 遺伝子解析技術の進歩と Toxicogenomics

ゲノム創薬フォーラム “Pharmacogenomics/SNP/DNA アレイ” (2000.4)

Suzuki, T., Kohara, A., Wang, X., Honma, M., Hayashi, M. **λCI gene is useful for sequence analysis in the transgenic mouse mutation assays**

2000 Environmental Mutagen Society Annual Meeting (2000.4)

鈴木孝昌: **Toxicogenomics の最近の話題**

JEMS・MMS研究会第37回定例会 (2000.6)

Suzuki, T., Kohara, A., Wang, X., Honma, M., Sofuni, T., Hayashi, M.: **Mutagenicity and mutation spectra of various antitumor agents in the MutaTM Mouse**

The 30th Annual Meeting of the European Environmental Mutagen Society (2000.8)

鈴木孝昌, 小原有弘, 西川秋佳, 古川文夫, 広瀬雅雄, 本間正充, 林 真: がん細胞における遺伝的不安定性とp53遺伝子-p53ヘテロノックアウトBig Blueマウスを使った検討—第59回日本癌学会総会 (2000.10)

小原有弘, 鈴木孝昌, 大和田智彦*, 本間正充, 林 真: ジニトロピレンによりマウスに誘発された突然変異の特徴

第59回日本癌学会総会 (2000.10)

*名古屋市立大学薬学部

川崎健太郎^{*1,2}, 鈴木孝昌, 上田正登^{*1}, 市橋正光^{*1}, 山崎洋^{*2,3}: ミトコンドリアDNAにおける太陽光線によって誘導されるCC-TT変異と人皮膚組織に関する検討

第59回日本癌学会総会 (2000.10)

^{*1} 神戸大学医学部

^{*2} WHO国際癌研究機構・多段階発癌研究部

^{*3} 関西学院大学理学部

鈴木孝昌, 本間正充, 小原有弘, 坂本浩子, 林 真: DNAマイクロアレイを用いた発現解析による遺伝子傷害性の検索に関する基礎的検討

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

小原有弘, 鈴木孝昌, 王 雪, 大和田智彦*, 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29回大会 (2000.11)

*名古屋市立大学薬学部

鈴木孝昌, 佐伯憲一*, 小原有弘, 宮田裕子*, 王 雪, 林真: 肝発がん物質キノリンはMuta™Mouse肝臓においてG:C to C:G transversionを特異的に誘発する

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

*名古屋市立大学薬学部

Ramadan Ali, 鈴木孝昌, 小原有弘, 本間正充, 林 真: Organ specific genotoxicity of ochratoxin A detected by single cell gel electrophoresis (Comet) assay and the micronucleus assay

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

渡海 寛*, 田村博信*, 近藤耕治*, 小原有弘, 鈴木孝昌: *gpt delta*トランスジェニックマウスの有用性に関する研究: diethylnitrosamine投与により誘発される*in vivo*遺伝子突然変異の解析

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

*1 日本新薬(株)

*2 塩野義製薬(株)

白鳥 孝*, 池田直弘*, 大澤浩一*, 小沢重成*, 島田 康*, 鈴木孝昌, 長岡貴子*, 萩原利行*, 島山茂樹*, 細谷聡子*, 吉田純一*, 島田弘康*: 幼若ラット肝細胞小核試験の検討 - 12機関による同一サンプル標本の観察 -

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

* JEMS・MMS研究会, 多臓器小核試験, 肝臓小核グループ

浅野哲秀*, 西川貴史*, 中川ゆづき*, 鈴木孝昌, 林 真: げっ歯類の皮膚組織を用いる小核試験法の開発と検証

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

*1 日東電工(株)

*2 ライオン(株)

*3 (財)食品薬品安全性センター

山田勉也*, 鈴木孝昌, 小原有弘, 竹本育世*, 水谷隆治*, 林真, 佐伯憲一*: 窒素置換によるBenzo[a]pyreneの*in vivo*変異原性の抑制

日本薬学会東海支部例会 (2000.12)

*名古屋市立大学薬学部

鈴木孝昌: 環境物質と癌の発生 - その因果関係を探る - 第64回日本皮膚科学会東京支部学術大会 (2001.2)

鈴木孝昌: *In vivo*での遺伝毒性試験: 小核試験およびトランスジェニックマウスを用いた遺伝毒性試験の手法と適用 第2回中日医薬品安全性評価学術シンポジウム (2001.3)

山田勉也*, 鈴木孝昌, 小原有弘, 竹本育世*, 水谷隆治*, 林真*, 佐伯憲一: 環境中に存在する含窒素芳香族化合物の*in vivo*変異原性

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*名古屋市立大学薬学部

能美健彦: 今, 私の考える環境変異原とは; 21世紀に向けて - 私の考えるこれからの環境変異原研究 -

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

増村健一, 国谷健介*, 星野真紀子*, 古川文夫, 西川秋佳, 能美健彦: DMN投与後の発現時間および加齢による突然変異の誘発

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

*1 昭和薬科大学

堀口美恵子*, 増村健一, 能美健彦: *gpt delta*マウスで検出された塩基配列変化の特徴について

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

*1 大妻女子大学

国谷健介*, 増村健一, 黒部利博*, 福岡正道*, 谷田貝文夫*, 日下部守明*, 能美健彦: トランスジェニックマウス*gpt delta*を用いた重粒子線等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29回大会 (2000.11)

*1 昭和薬科大学

*2 早稲田大学

*3 理化学研究所

松井恵子, 金秀良, 山田雅巳, 能美健彦: ベンツピレン誘発フレームシフト突然変異に対する大腸菌DNAポリメラーゼIV(DinB)の促進効果

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

竹入 章*, 田中健司*, 塩田明文*, 上田乙也*, 鈴木宏志*, 三島雅之*, 原 洋明*, 井上 誠*, 増村健一, 能美健彦: トランスジェニックマウス*gpt delta*の骨髄においてmitomycin Cにより誘発された突然変異の解析

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

*1 中外製薬

須井 哉*, 原 巧*, 川上久美子*, 能美健彦, 澁谷徹*: マウス精子における突然変異の生成機構(その2)

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

*1 食品薬品安全センター

落合雅子*, 飯塚祐子*, 上田乙也*, 鈴木宏志*, 能美健彦, 杉村 隆*, 中釜 齊*: *scid*変異の*in vivo*突然変異への影響 - *gpt delta*トランスジェニックマウスを用いた解析

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

*1 国立がんセンター研究所

*2 中外製薬

兵庫淳志*, 宇野芳文*, 大澤浩一*, 増村健一: *gpt delta*トランスジェニックマウスの有用性に関する研究: *N*-propyl-*N*-nitrosourea投与により誘発される変異の解析

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

*1 三共

*2 三菱東京製薬

*3 大正製薬

田村博信*, 兵庫淳志*, 中島 圓*, 矢嶋信浩*, 能美健彦:

***gpt delta* トランスジェニックマウスの有用性に関する研究:
JEMS/MMS 共同研究**

日本環境変異原学会第29回大会 (2000.11)

*1 日本新薬

*2 三共

*3 食品農医薬品安全性評価センター

*4 雪印乳業

新村和也*, 山口 悟*, 齊藤貴之*, 金 秀良, 能美健彦,
横田 淳*: アデニン:8-ヒドロキシグアニン塩基対に対
する MYH 蛋白質のアデニン除去能の検討

第23回日本分子生物学会年会 (2000.12)

*1 国立がんセンター研究所

山田雅巳, 金 秀良, 松井恵子, ピーター・グルーズ, 能美
健彦: 大腸菌 *dinB* の突然変異体の *in vivo* および *in vitro* で
の性状解析

第23回日本分子生物学会年会 (2000.12)

金 秀良, 松井恵子, 山田雅巳, Petr Gruz, 能美健彦: 大腸
菌 DNA polymerase IV(DinB)による自然突然変異, 誘発突然
変異の解析

第23回日本分子生物学会年会 (2000.12)

Petr Gruz, Masatomi Shimizu, Masami Yamada, Ikuko Hayashi*,
Kosuke Morikawa*, Takehiko Nohmi: Purification and charac-
terization of the archeal DinB homologue

第23回日本分子生物学会年会 (2000.12)

*1 生物工学研究所

能美健彦: 大腸菌 DNA ポリメラーゼ IV(DinB)の性質につ
いて

DNA ポリメラーゼβ研究会 (2000.6)

Kim, Su-Ryang, Matsui, K., Yamada, M., Gruz, P. and Nohmi, T.:
Untargeted and targeted mutagenesis by DNA polymerase IV
(DinB)

Gordon Research Conference, Mutagenesis (2001.8)

Nohmi, T.: Molecular analysis of *in vivo* mutations using
transgenic mice *gpt delta*

Pacificchem 2000 (2000.12)

Kim, Su-Ryang, Matsui, K., Yamada, M., Gruz, P. and Nohmi, T.:
Targeted and untargeted mutagenesis by *E. coli* DNA polymerase
IV

International Workshop on Radiation Damage 2001: Repair, Mu-
tagenesis and Visualization (2001.3)

Masumura, K., Matsui, K., Yamada, M., Ishida, K.*, Watanabe,
M.*, Wakabayashi, K.* and Nohmi, T.: Characterization of Mu-
tations induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-
b]pyridine (PhIP) in the colon of *gpt delta* transgenic mouse

2001 Annual Meeting of Environmental Mutagen Society (2001.3)

*国立がんセンター研究所

Hyogo, A.*¹, Tamura, H.*², Nakajima, M.*³, N. Yajima, N.*⁴ and
Nohmi, T.: A collaborative validation study of the mutagenic as-
say using *gpt delta* transgenic mouse

40th Annual Meeting of Society of Toxicology (2001.3)

*1 三共

*2 日本新薬

*3 食品農医薬品安全性評価センター

*4 雪印乳業

Tanabe, H., Minegishi, D., Masui, T., Takada, Y., Kurematsu, M.
and Mizusawa, H.: Identification of cultured cell lines by STR-
PCR methods

World Congress on In Vitro Biology 2000 (2000.6)

Masui, T., Iwashita, S.*, Takada, Y., Okado, K., Sofuni, T.,
Hayashi, M. and Mizusawa, H.: Epithelial topoinhibition induc-
ible-1 (*eti-1*) gene isolated from normal human epithelial cells
induce apoptosis

World Congress on In Vitro Biology 2000 (2000.6)

*三菱化学生命科学研究所

増井 徹, 水沢 博: 厚生省細胞バンクにおけるヒト組織・
細胞の公的研究資源化への取り組み—ワークショップ: ヒ
ト組織・細胞の研究資源としての取り扱い

日本組織培養学会第73回大会 (2000.9)

増井 徹, 高田容子, 林 真, 水沢 博: RCC1 リピート
をもつ増殖停止関連遺伝子 *Eti-1* の糖修飾と細胞内局在

日本組織培養学会第73回大会 (2000.9)

増井 徹, 高田容子, 林 真, 水沢 博: 増殖停止関連
遺伝子 *Eti-1* と *delta Eti-1* の細胞内分布

第59回日本癌学会総会 (2000.10)

増井 徹: 「ガイドライン」—シンポジウム: 組織・細胞移
植から再生医療—医療として定着させるには

第8回組織移植医療研究会 (2000.11)

緒方英博*, 浜村政夫*, 一鬼 勉*, 鎌田栄一, 長谷川隆一:
雄ラットに見られる腎臓硝子滴変化の免疫組織化学的解析
とその評価への適用

第27回日本トキシコロジー学会学術年会 (2000.6)

*パナファーム

広瀬明彦, 西川秋佳, 木苗直秀*, 長谷川隆一: 飲料水中の
強力変異原性物質 “MX(3-Chloro-4-(dichloromethyl)-5-hy-
droxy-2(5H)-furanone)” の毒性評価

第27回日本トキシコロジー学会学術年会 (2000.6)

*静岡県立大学

五十嵐良明, 鎌田栄一: ホルムアルデヒドの吸入暴露による
マウスの化学物質に対するアレルギー反応

第27回日本トキシコロジー学会学術年会 (2000.6)

宮崎玉樹, 四方田千佳子, 岡田敏史: 酸性多糖とドキシサイ
クリンによる複合体形成とその薬物放出特性

第50回日本薬学会近畿支部大会 (2000.10)

四方田千佳子, 田頭洋子, 岡田敏史: 医薬品分析に置ける試験所間比較による技能試験—平成11年度の指定検査機関(地衛研を含む58機関)における実施結果—

第37回全国衛生化学技術協議会年会 (2000.10)

四方田千佳子: 平成11年度医薬品分析の技能試験の結果と平成12年度実施計画

日本薬剤師会技術講習会 (2000.11)

宮崎玉樹, 四方田千佳子, 岡田敏史: 高分子ヒアルロン酸とドキシサイクリンからなる含水ゲルの薬物放出挙動

日本薬剤学会第16年会 (2001.3)

四方田千佳子, 田頭洋子, 岡田敏史: ヒアルロン酸架橋ゲルと医薬品による規則的複合体形成と放出挙動

日本薬剤学会第16年会 (2001.3)

斎藤博幸, 谷本 剛, 岡田敏史, 奥平桂一郎*, 半田哲郎*: **Titration Calorimetry**によるアポEの脂質膜結合機構の解析

第42回日本脂質生化学研究会研究集会 (2000.6)

*京都大学大学院薬学研究科

田中将史*¹, 斎藤博幸, 岡村恵美子*², 木村智大*², 中原 勝*², 半田哲郎*¹: アポリポ蛋白質A-Iによる脂質膜認識機構

第42回日本脂質生化学研究会研究集会 (2000.6)

*¹ 京都大学大学院薬学研究科

*² 京都大学化学研究所

Handa, T.*, Saito, H., Okuhira, K.*, and Tanaka, M.*: **Distinct Apolipoprotein Bindings to PC Monolayers of Emulsions and PC Bilayers of Vesicles**

International Conference on Colloid and Surface Sciences (2000.11)

* Graduate School of Pharmaceutical Science, Kyoto University

田中将史*¹, 斎藤博幸, 岡村恵美子*², 木村智大*², 中原 勝*², 半田哲郎*¹: アポリポ蛋白質A-Iのトリグリセライド(TG)-rich リポ蛋白質粒子表面への結合

第22回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム (2000.11)

*¹ 京都大学大学院薬学研究科

*² 京都大学化学研究所

Koide, T., Fuchino, H., Sekita, S., Satake, M.: **New active compounds for UTA from several medicinal plants growing in Peru and Brazil**

International Congress of Traditional Medicine (2001.1)

江頭昌志*, Gorbenko Galyna*, 田中将史*, 斎藤博幸, 中野 実*, 半田哲郎*: アポA-Iモデルペプチドと脂質2分子膜の相互作用—コレステロールの効果

日本薬学会第121年会 (2001.3)

*京都大学大学院薬学研究科

Hiroyuki Saito, Sissel Lund-Katz¹, Karl H. Weisgraber², and Michael C. Phillips¹: **Role of Amino- and Carboxyl-Terminal**

Domains in Apolipoprotein E-Lipid Interaction

Experimental Biology 2001 (2001. 3)

¹ The Children's Hospital of Philadelphia

² Gladstone Institute of Cardiovascular Disease

大石なみき*, 森久保聡一*, 高村佳弘*, 中村精吾*, 都筑昌哉*, 赤木好男*, 前川京子, 谷本 剛: ヒト糖尿病白内障と赤血球アルドース還元酵素との関係

第7回日本糖尿病眼学会総会 (2001.3)

*福井医科大学

Hiroyuki Saito, Sissel Lund-Katz¹, Karl H. Weisgraber², and Michael C. Phillips¹: **Role of Amino- and Carboxyl-Terminal Domains and Polymorphism in the Lipid- and Heparin-Binding Properties of Human Apolipoprotein E**

2nd Annual Conference on Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology (2001. 5)

¹ The Children's Hospital of Philadelphia

² Gladstone Institute of Cardiovascular Disease

吉井公彦, 開原亜樹子, 津村ゆかり, 中村優美子, 石光 進, 外海泰秀: 小麦中マラチオンの酵素的分解産物

第50回日本薬学会近畿支部総会・大会 (2000.10)

津村ゆかり, 石光 進, 開原亜樹子, 吉井公彦, 中村優美子, 外海泰秀: 市販弁当(いわゆるコンビニ弁当)から検出されたフタル酸エステル類及びその混入源の究明

第50回日本薬学会近畿支部総会・大会 (2000.10)

中村優美子, 津村ゆかり, 開原亜樹子, 吉井公彦, 石光 進, 外海泰秀: ケルセチン及びルチンのラットにおける代謝並びにステロイド排泄等に及ぼす影響

第50回日本薬学会近畿支部総会・大会 (2000.10)

岡野有見子*, 赤澤麻衣子*, 藤田笑実*, 藤本貞毅*, 石光 進, 外海泰秀: 食用タール色素の光分解におよぼす脂質の影響

第50回日本薬学会近畿支部総会・大会 (2000.10)

*京都薬科大学

天倉吉章, 海野有紀子, 辻 澄子, 外海泰秀: ペリ一類中ポリフェノール類のジャム加工による変化

第50回日本薬学会近畿支部総会・大会 (2000.10)

辻 澄子, 海野有紀子, 天倉吉章, 外海泰秀: 食用青色1号アルミニウムレーキの不適事例について

第37回全国衛生化学技術協議会年会 (2000.10)

天倉吉章, 海野有紀子, 辻 澄子, 外海泰秀: 天然酸化防止剤ユーカリ葉抽出物の成分分析

日本食品衛生学会第80回学術講演会 (2000.11.9)

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: HPLCによる農産物中ハロスルフロンメチルの分析法の検討

日本薬学会第121年会 (2001.3)

辻 澄子, 海野有紀子, 中村優美子, 外海泰秀: 食用青色 1 号(プリリアントブルー FCF)のアルカリ分解により生成する副成色素について

日本食品衛生学会第 81 回学術講演会 (2001.5)

海野有紀子, 辻 澄子, 中村優美子, 外海泰秀: 食用赤色 40 号及び黄色 5 号アルミニウムレーキ中の副成色素などの HPLC 定量用試験液調製法の検討

日本食品衛生学会第 81 回学術講演会 (2001.5)

開原亜樹子, 吉井公彦, 津村ゆかり, 石光 進, 外海泰秀: SFE および LC/MS を用いた穀類・青果物中 18 種農薬の迅速一斉分析法

日本食品衛生学会第 81 回学術講演会 (2001.5)

津村ゆかり, 石光 進, 開原亜樹子, 吉井公彦, 外海泰秀: 各種食品中のフタル酸エステル等プラスチック可塑剤の分析

日本食品衛生学会第 81 回学術講演会 (2001.5)

村井敏美: Interleukin-1(IL-1)によるヒトメラノーマ細胞の細胞周期停止の分子メカニズムについて

第 59 回日本癌学会総会 (2000.10)

村井敏美: エンドトキシン試験法

第 14 回日本動物実験代替法学会 (2000.11)

村井敏美, 中川ゆかり, 前田秀子: 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

第 14 回日本動物実験代替法学会 (2000.11)

村井敏美, 中川ゆかり: ヒト単球株化細胞を用いた *in vitro* 発熱性物質試験法の開発—試験細胞株の開発とその評価—

第 74 回日本細菌学会総会 (2001.4)

中川ゆかり, 前田秀子, 高岡 文*, 村井敏美: 培養細胞を用いた *in vitro* 発熱性物質試験法の開発—ヒト単球株化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—

第 24 回防菌防黴学会年次大会 (2000.5)

*和光純薬工業(株)大阪研究所

中川ゆかり, 村井敏美: ヒト単球株化細胞を用いた *in vitro* 発熱性物質試験法の開発—endotoxin と他の発熱性物質の相乗作用—

第 74 回日本細菌学会総会 (2001.4)

配島由二, 村井敏美, 中川ゆかり, 長谷川千恵, 矢上 健, 中村晃忠, 平田陸正*: 天然医用材料由来創傷被覆剤のエンドトキシン汚染調査

日本薬学会第 121 年会 (2001.3)

*岩手医科大学

江馬 眞, 原園 景: ラットの妊娠初期に投与した dibutyltin dichloride の胚致死作用

第 27 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2000.6)

江馬 眞, 宮脇英美子: ジブチルフタレートの子ラットにおける雄胎児の性分化に及ぼす影響

第 40 回日本先天異常学会 (2000.7)

Emm, M: Developmental and reproductive toxicity of tributyltin and its metabolite, dibutyltin, in rats

6th Scientific Meeting of the International Federation of Teratology Society (IFTS), Satellite Meeting, Hiroshima (2000. 7)

Emm, M: Two-generation reproduction study of bisphenol A in rats

Endocrine Disruptors Low Dose Peer Review, US EPA and NIEHS, NIH, NTP (2000.10)

Emm, M: Endocrine disruptors: towards risk assessment low dose effects

第 1 回国立衛研安全性生物試験研究センターと韓国FDAとの合同シンポジウム (2000.10)

Emm, M: Establishment of TDI for dioxin in Japan toxicity data used as the basis for TDI

第 1 回国立衛研安全性生物試験研究センターと韓国FDAとの合同シンポジウム (2000.10)

江馬 眞: ビスフェノールAの子ラットにおける 2 世代繁殖試験

第 3 回内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウム (2000.12)

Emm, M, Miyawaki, E: Decreased anogenital distance (AGD) and undescended testes in fetuses of rats given monobutyl phthalate (MBP) during pregnancy

Society of toxicology, the 40th Annual Meeting (2001.3)

青柳光敏*, 姉帯正樹*, 林 隆章*, 柴田敏郎, 畠山好雄: 木香の調製法と化学的品質評価—部位, 根径, 収穫期別試料の品質評価—

日本生薬学会北海道支部第 24 回年会 (2000.6)

*北海道立衛生研究所

柴田敏郎: カワラヨモギについて

第 10 回薬用植物栽培技術フォーラム (2000.7)

熊谷健夫, 柴田敏郎, 畠山好雄: ハナトリカブトの種いも重量が生育, 収量に及ぼす影響について

日本生薬学会第 47 回年会 (2000.9)

青柳光敏*, 姉帯正樹*, 林 隆章*, 柴田敏郎, 畠山好雄: 川芎の湯通し条件と化学的品質評価

日本生薬学会北海道支部第 25 回年会 (2001.5)

*北海道立衛生研究所

細川敬三, 菱田敦之, 柴田敏郎, 川原一仁*, 中村郁郎*, 西原昌宏*, 山村三郎*: 葉緑体 rpl16 遺伝子領域の塩基配列解析に基づく *Scutellaria* 属植物の識別

日本生薬学会第 47 回年会 (2000.9)

*1(株)日野薬品

*2千葉大学大学院自然科学研究科

*3(財)岩手生物工学研究センター

福田達男*1, 伊吹直登*1, 渡辺裕文*2, 細川敬三, 菱田敦之, 柴田敏郎: タクシャの基原植物サジオモダカとその類縁植物について

日本生薬学会第47回年会 (2000.9)

*1 東京都薬用植物園

*2 農林水産省蚕糸昆虫技術研究所

細川敬三, 柴田敏郎, 中村郁郎*1, 西原昌宏*2, 山村三郎*2: 葉緑体 rpl16 遺伝子領域の塩基配列解析に基づく *Papaver* 属植物の識別

日本園芸学会平成12年度秋季大会 (2000.9)

*1 千葉大学大学院自然科学研究科

*2 (財)岩手生物工学研究センター

田中章江*, 下村講一郎, 石丸幹二*: ヒマラヤヤマボウシ (*Cornus capitata* cv. 'Mountain Moon') 不定根のタンニン生産能(1)

第18回日本植物細胞分子生物学会大会・シンポジウム

(2000.7)

*佐賀大学農学部

東野 薫, 吉松嘉代, 石丸幹二*1, 矢崎一史*2, 下村講一郎: シコニン誘導体を生産するムラサキ培養シュートに関する研究

第18回日本植物細胞分子生物学会大会・シンポジウム

(2000.7)

*1 佐賀大学農学部

*2 京都大学大学院生命科学研究科

田中章江*1, 石丸幹二*1, 藤岡稔大*2, 藤井寛子*2, 三橋國英*2, 田中 隆*3, 下村講一郎: ヒマラヤヤマボウシ不定根の成分

日本生薬学会第47回年会 (2000.9)

*1 佐賀大学農学部

*2 福岡大学薬学部

*3 長崎大学薬学部

吉松嘉代, 西 孝三郎, 畠山好雄, 下村講一郎: けしがら濃縮物製法に関する基礎的研究 (1)筑波栽培ケシ植物体のアヘナルカロイド

日本生薬学会第47回年会 (2000.9)

Tanaka, N.*, Ishimaru, K.* and Shimomura, K.: Antioxidative and radical scavenging activities of adventitious roots in *Cornus capitata* 'Mountain Moon'

The Asia Pacific Conference on Plant Tissue Culture & Agribiotechnology, Singapore (2000. 11)

*佐賀大学農学部

Touno, K., Yoshimatsu, K., Yazaki, K.* and Shimomura, K.: Unusual shikonin derivative formation on *in vitro* shoot stem of *Lithospermum erythrorhizon*

The Asia Pacific Conference on Plant Tissue Culture & Agribiotechnology, Singapore (2000. 11)

*京都大学大学院生命科学研究科

Yoshimatsu, K., Shu, W.* and Shimomura, K.: Cryopreservation of medicinal plant somatic embryos; *Panax ginseng*, *Coptis japonica* and *Santalum album*

The Asia Pacific Conference on Plant Tissue Culture & Agribiotechnology, Singapore (2000. 11)

* Singapore Polytechnic

深見裕之*1, 朝倉富子*2, 平野 啓*1, 阿部啓子*1, 下村講一郎, 山川 隆*1: ペラドンナ毛状根におけるサリチル酸メルトランスフェラーゼ遺伝子の単離と解析

日本農芸化学会2001年度大会 (2001. 3)

*1 東京大学大学院農学生命科学研究科

*2 跡見短期大学家政

田中章江*, 石丸幹二*, 下村講一郎: 各種植物培養根を用いたタンニン酸のエラグ酸への変換

日本薬学会第121年会 (2000. 3)

*佐賀大学農学部

東野 薫, 吉松嘉代, 畠山好雄, 矢崎一史*, 下村講一郎: 培養ムラサキシュ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エチレンの影響—

日本薬学会第121年会 (2000. 3)

*京都大学大学院生命科学研究科

別井史枝*1, 田中章江*2, 加藤美恵子*1, 藤伊 正*1, 下村講一郎: *Raphanus sativus* L. cv. *peking koushin* (北京紅芯ダイコン) 不定根培養のアントシアニン生産

日本薬学会第121年会 (2000. 3)

*1 東洋大学生命科学部

*2 佐賀大学農学部

Da-Woon 鄭*1, 成 忠基*1, 今泉信之*2, 田中宥司*3, 吉松嘉代, 下村講一郎: Isolation of growth-stimulating factors from *Hyoscyamus niger* adventitious roots using mRNA differential display

日本薬学会第121年会 (2000. 3)

*1 韓国全南大学薬学部

*2 (株)ジャパン・ターフグラス

*3 農業生物資源研究所

高上馬希重, 飯田 修, 関田節子, 佐竹元吉, 牧野由紀子*: 大麻 *Cannabis sativa* L. における ISSR 解析

日本DNA多型学会第9回学術集会 (2000.12)

*関東信越地区麻薬取締官事務所

高上馬希重, 飯田 修, 牧野由紀子*, 関田節子, 佐竹元吉: 大麻 (*Cannabis sativa* L.) の cannabinoid に関する AFLP マーカーの探索

日本薬学会第121回年会 (2001.3)

*関東信越地区麻薬取締官事務所

飯田 修, 高上馬希重, 栗原孝吾, 山田和也: 伊豆半島で見出された耐塩性ミシマサイコ (*Bupleurum falcatum* L.) について

日本薬学会第121回年会 (2001.3)

香月茂樹, 鏑木絢一, 野崎トモ子, 飯田 修, 高上馬希重, 栗原孝吾, 山田和也, 黒柳正典*: 「薬用植物資源のジーンバンク化に向けて」日本国内で保存されている *Curcuma* 属植物の特性評価 (形質とゲノム情報) について

日本薬学会第121回年会 (2001.3)

* 広島県立大学

高上馬希重, 飯田 修, 牧野由紀子*, 関田節子, 佐竹元吉: *Cannabis sativa* L. における多様性とその識別について

日本育種学会第99回年会 (2001.4)

* 関東信越地区麻薬取締官事務所

西部三省*, 野口由香里*, 韓 英梅*, 酒井英二, 田中俊弘**, 高野昭人***: 漢薬・絡石藤の基原とフラボノイド指標成分

日本生薬学会第47回年会 (2000.9)

* 北海道医療大・薬

** 岐阜薬大

*** 昭和薬大

高井善孝*, 有本恵子*, 岩田善子*, 小川 徹*, 黄 啓榮*, 金谷友成*, 酒井英二, 嶋田康男*, 高木 昭*, 谷山登志男*, 中島健一*, 野口 衛*, 東 昭夫*, 久田陽一*, 俣野豊*, 守安正恭*, 山本 豊*, 横倉胤夫*: 生薬品質集談会報告第31報 ハッカについて

第29回生薬分析シンポジウム (2000.12)

* 生薬品質集談会

酒井英二, 川村智子*, 横江美里*, 野呂征男*, 田中俊弘**: 車前草の生薬学的研究 遮光条件下で栽培したオオバコの生育および成分

日本薬学会第121回年会 (2001.3)

* 名城大学・薬

** 岐阜薬大

中根孝久, 関田節子, 佐竹元吉, 細川敬三, 畠山好雄, 柴田敏郎, 飯田 修, 香月茂樹: マオウ科 *Ephedraceae* 植物のエフェドリン含量—国内栽培試験種及び国外野生種—

日本生薬学会第47回年会 (2000.9)

大根谷章浩*¹, 石井里枝*², 香月茂樹, 北中 進*¹: アカメガシワ (*Mallotus japonicus*) の抗アレルギー成分について

日本薬学会第121回年会 (2001.3)

*¹ 日本大学薬学部

*² 埼玉県衛生研究所

関澤 純, 江馬 真: 環境ホルモン物質としてのリスク評価の検討

第3回内分泌攪乱化学物質学会研究発表会 (2000.12)

安達玲子, 松井幸子*, 楠井 薫, 山口照英, 笠原 忠*, 早川堯夫, 鈴木和博: 食細胞のコフィリンの活性制御におけるホスホリパーゼCの役割

第73回日本生化学会大会 (2000.10)

* 共立薬科大学

渡辺秀実*, 浜野美紀子*, 安達玲子, 楠井 薫, 笠原 忠*, 鈴木和博: 白血球細胞の分化に対する内分泌攪乱物質の影響

第73回日本生化学会大会 (2000.10)

* 共立薬科大学

渡辺秀実*, 安達玲子, 楠井 薫, 笠原 忠*, 鈴木和博: 白血球細胞の分化に対する内分泌攪乱化学物質の影響

第30回日本免疫学会総会・学術集会 (2000.11)

* 共立薬科大学

会議名：ICH5準備会議，ICH5本会議，ICH6準備会議

出席者：薬品部 小嶋茂雄（①～③のいずれにも参加），
吉岡澄江（①，②に参加）

開催場所，時期：①ICH5準備会議：ブリュッセル（ベルギー），2000年7月15日～22日

②ICH5準備会議およびICH5本会議：サンディエゴ（米国），2000年11月5日～13日

③ICH6準備会議：ロンドン（英国），
2001年3月31日～4月5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：ICH5本会議における品質セッションの司会（②；小嶋），原薬および製剤の不純物ガイドラインの改定（Q3A/B-R）（①～③；小嶋が参加），安定性試験ガイドラインの改定（Q1A-R）（①，②；吉岡が参加）

1. ICH5本会議における品質セッションの司会

1997年7月にブリュッセルで開催されたICH4から3年が経ち，品質の分野で残された課題の調和が進み，主要な課題についてはほぼ調和が終わろうとしている。この3年間に調和が達成されたものとしては，化学合成医薬品ならびにバイオテクノロジー応用医薬品の規格および試験方法のガイドライン（Q6A，Q6B）の2つの重要なガイドライン，原薬GMPに関するガイドライン（Q7A），安定性試験ガイドラインの改定（Q1A-R）などを挙げることができる。また，Q6Aの調和と関連して，日米欧3薬局方の11試験法（含量均一性試験法，溶出試験法，微生物限度試験法など）の調和が進展した。

本会議の品質セッションでは，安定性，不純物，規格，薬局方ならびに原薬GMPに関する話題（各ガイドラインの内容，そのインパクト，今後の方向性など）について多くのスピーカーから報告があり，フロアからの質問を受けてディスカッションが行われた。

2. 原薬および製剤の不純物ガイドラインの改定（Q3A/B-R）

これらのガイドラインについては，1999年10月のワシントンでの専門家会議においてステップ2に達し，各極での内示を経て，最終合意に向けての検討が2000年7月のブリュッセルでの専門家会議から開始されたが，ステップ2に達する際にも火種となった rounding issue を巡る意見の対立が再燃し，2001年5月の時点でも最終的な決着をみていない。

すなわち，ステップ2案に対して，FDAから，0.1%を閾値として新しい数値の丸め方のルールを適用すると，0.1499...%（0.1%の150%）まで許容することになってしまい，許容の幅が広すぎるので認めがたいとの意見が出された。2000年7月のブリュッセルでの行政側による非公式会議では，このFDAの意見を考慮して，0.1%を0.10%に変更することにより，0.10499...%（0.1%の105%）まで許容することにしようという修正案がラポター（EU）から示され，この修正案を基に企業側との協議に臨むことで合意をみた。ところが，2000年11月のサンディエゴでの専門家会議では，この修正案に対して3極の企業側がいずれも受け入れ難いとの意見を表明したため，Q3A/Bの改定は暗礁に乗り上げた形になってしまった。そこで，臨時の会議を2001年4月にロンドンで開催して，事態の打開が図られた。この

ロンドンの専門家会議では，FDAから，0.1%を閾値として新しい数値の丸め方のルールを適用することにして，0.1%に丸められた分析値が統計的にみて0.15%を超えていないこと（すなわち，分析値+2σが0.15%未満であること）の保証を求めることにしたいとの新しい案が提示された。

この提案を盛り込んだ案がラポターから提示されており，2001年5月に千葉で開催される専門家会議で検討される予定であるが，この案については，日常業務の中に位置づけるにはあまりに複雑で，実行の難しい内容をもつため，3極の業界側がいずれも受け入れ難いとの意見を表明しており，合意の見通しは立っていない。

3. 安定性試験ガイドラインの改定（Q1A-R）

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，記載の不整合な点の解消の5項目に関する改定案（Q1A-R）については，1999年10月のワシントンでの専門家会議においてステップ2案がまとまり，各極での内示を経て，2000年11月のサンディエゴでの専門家会議で最終合意に達した。

ブラケットティング&マトキシリング（Q1D）については，2000年11月のサンディエゴでの専門家会議においてステップ2に達した。また，安定性試験のデータの統計処理とその扱い（Q1E）については，ステップ2を目指して検討中の段階である。

会議名：生物薬品2000年会議：“バイオ医薬品の開発及び供給の促進に向けての世界的方策：製品と製法の同等性・同質性評価”ほか

出席者：生物薬品部 早川堯夫

開催場所，時期：ワシントンDC（米国），2000年6月3日～6月11日

参加者内訳，人数：米国を中心に，日，欧，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：米国薬局方，米国食品医薬品庁生物薬品評価研究センター（FDA：CBER），及び国際生物薬品学会（IABS）では，本年が2000年という節目の年であるということで，生物薬品2000年会議：“バイオ医薬品の開発及び供給の促進に向けての世界的方策：製品と製法の同等性・同質性評価”を開催した。その中で，米国FDA，欧州連合，日本においてバイオ応用医薬品等の品質・安全性確保及び評価に関する職務に携わっている各代表者が一堂に会して，それぞれの立場や見解に基づいた講演を行い，討議をするというセッションが本会議の重要な柱として企画された。筆者は日本からの講演者として参加し，“バイオ医薬品における製品と製法の同等性・同質性評価”に関し，わが国の国際調和に向けてのアプローチ，考え方やこれまでのわが国で得られた研究成果，経験などを紹介することにより，本課題に関しての各国の取り組み方についての相互理解を深めること，ひいては国際調和に向けての動きに寄与することができた。

一方，米国薬局方，欧州薬局方及び日本薬局方では，数年来3極薬局方の一般試験法等の国際調和を推進してきており，バイオ医薬品に関しても進捗が図られている。今回，米国薬局方の本部所在地であるワシントンDCを訪問する機会を捉え，米国薬局方関係者に直接会い，バイオ医

薬品の一般試験法の国際調和に関する諸問題について討議、意見交換等を行った。これは、薬局方国際調和の推進に貢献するものと思われる。

会議名：欧州におけるバイオテクノロジー応用医薬品等の品質・安全性の確保方策について最近の動向を調査研究

出席者：生物薬品部 早川堯夫

開催場所、時期：ブラッセル（ベルギー）等、2000年7月15日～7月26日

参加者内訳：ベルギー社会保健省衛生科学研究所生物薬品関係者等10数名

会議内容：バイオテクノロジー技術を応用した新規生物薬品等には、従来の医薬品や医療用具にはない画期的な作用機序による治療効果が期待され、医療上の必要性が高い。その一方で、新技術の利用に起因する安全性に関する危険性も否定できない。また、製品の種類や学問・技術の急速な進歩に対応して、特性・品質解析、製造プロセス評価、製造管理、品質規格等、品質確保のための方策を検討していくべき点も多い。そこで、これら製品について、科学的に妥当性のある品質・安全性確保基準や製造管理技術・品質確保技術の確立、検証及び評価方法を策定するための研究を展開する必要がある。また、外国で開発された製品についても迅速に必要とされる患者のもとに提供できるように品質・安全性確保基準等を国際的水準に整合したものとする必要がある。今回、欧州の本分野を代表する研究機関及び研究者を訪問し、タンパク質性バイオ医薬品、遺伝子治療薬などの品質、安全性確保問題、生物薬品のウイルス安全性問題等に対する方策を調査研究し、また、わが国のアプローチ、考え方やこれまでのわが国で得られた研究成果、経験などを紹介することにより、欧州の水準に照らしたその位置づけ、妥当性を確認した。また、欧州の専門家との情報及び技術交流並びに将来展望に関する議論とおして、本分野における最新の知見をわが国での施策に反映させることや、今後のあり方の検討に生かす有用な知見が得られた。

会議名：第3回IBC国際会議「十分に特性解析された生物薬品の同等性/同質性評価のあり方とその試験法」

出席者：生物薬品部 早川堯夫、山口照英

開催場所、時期：ワシントンD.C.、米国、2000年9月16～23日

参加者内訳、人数：米、日、欧及び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のバイオ医薬品特性解析の専門家、約300人

会議内容：本会議では、バイオ医薬品の品質及び安全性確保基準、製造管理技術及び品質確保技術にかかわる問題のうち、異なる製造工程から生産されるタンパク性医薬品の同等性/同質性評価のあり方について、米・欧の専門家が一堂に会し最新の状況を調査するとともに、当該問題について意見交換をすることを目的としていた。初日には、「一般試験法について」及び「複合分子からなる医薬品の臨床的同等性を比較するための科学的アプローチと規制の合理性」の両シンポジウムが行われた。2日目以降は、全体会議として、「製造管理技術の変更に対するバイオテクノロ

ジー規制の展開」、「国際的な規制のあり方について：カナダ、欧、日本の最新の情報について」、「バイオテクノロジー応用医薬品の製造方法の変更に関するケーススタディ」、「新しい分析技術と試験方法について」について活発な議論が行われた。また最終日には、「組換えタンパク質と糖タンパク質の分析法と問題点」及び「プロセスコントロールのための統計学と試験法の評価」に関するサテライト会議が行われた。これらの討議を通じて、異なる製造工程から生産されるタンパク性医薬品の同等性/同質性評価のあり方について、欧米と日本との考え方の一致点や相違点が明確になった。今後、わが国においてタンパク性医薬品の同等性/同質性評価を、外国の技術水準に留意した科学的に妥当性のある品質・安全性確保基準や製造管理技術・品質確保技術のもとで行う上できわめて有意義であった。早川は、「国際的な規制のあり方について：カナダ、欧、日本の最新の情報について」のセッションにおいて、日本における「異なる製造工程から生産されるタンパク性医薬品の同等性/同質性評価」の考え方について講演した。

会議名：ICH5及びICH5準備専門家会議

出席者：生物薬品部 早川堯夫

開催場所、時期：サンディエゴ（米国）、2000年11月4日～13日

参加者内訳、人数：日・米・欧三極その他の政府及び製薬関係者約1500名

会議内容：日・米・欧の規制当局は、医薬品に対する技術要求の国際調和活動（ICH）を推進してきており、その集大成である2年毎の大会の第5回目（ICH5）が開催された。このICH5において、バイオ応用医薬品等の品質・安全性確保に関わる工程評価のあり方やバイオ医薬品の特性解析、規格及び試験方法に関する演題につき講演した。併せて、医薬品の品質確保に関わるパネル討論会のパネリストとしても参加した。また、ICH5に先立つ準備会合の一つとして、医薬品承認審査に必要な添付資料の世界共通化を目指したコモンテクニカルドキュメント（CTD）に関する国際調和文書作成のための専門家会議が開催され、筆者は厚生省のバイオ医薬品品質分野の専門家代表として参加した。本大会では、世界中からの参加者に対し、バイオ応用医薬品等の品質・安全性確保に関わる工程評価のあり方やバイオ医薬品の特性解析、規格及び試験方法に関して国際調和に至るアプローチ、考え方を紹介することにより理解を深め、認識を広めることに寄与した。また、各分野の専門家との情報及び技術交流並びに将来展望に関する議論とおして、生物薬品の品質・安全性確保及び評価に関する最新の知見を得た。さらに専門家会議においては、CTDに関する国際調和文書を完成した。この作業は当該分野の国際調和及び国際貢献に寄与することきわめて大であり、同時にわが国における生物薬品の品質・安全性確保及び評価上にも多大な意義があった。

会議名：トランスジェニック動物/クローン動物を利用した医薬品の製造施設の調査及び米国規制当局との意見交換

出席者：生物薬品部 川西 徹

開催場所、時期：ワシントン（米国）2000年12月1日、フラミンガム（米国）2000年12月4日～12月5日

日, エジンバラ (英国) 2000年12月7日
～12月8日

参加者内訳, 人数: 日本1名, 米国FDA7名, 米国企業関係者5名, 英国企業関係者3名

会議内容: 生物薬品の高効率の製造方法として注目されているトランスジェニック動物/クローン動物等の動物工場を利用して製造された医薬品の品質評価について, 米国規制当局との意見交換, および米国, 英国の代表的企業の製造施設の視察, 専門家との意見交換を行った. 米国FDAはトランスジェニック動物応用医薬品の評価法について1995年にPoint-to-Considerを公表しているが, クローン動物応用医薬品の評価においても同様の原則を適用できると考えていること, さらにはトランスジェニック植物による医薬品生産等の新たな医薬品製造方法に対する規制当局の対応が必要になりつつある現状について意見交換を行った. 米国のGenzyme Transgenics社および英国のPPL Therapeutics社の医薬品製造施設においては, ヤギ, ヒツジによる生産現場の視察を行い, 獣医学的な見地からの動物管理の実態, ウィルス汚染のチェック体制, 最終生産物における家畜動物とヒトとの種差の影響等について意見交換を行った.

会議名: 第23回FAO/WHO合同食品規格計画分析サンプリング部会

出席者: 食品部 松田りえ子

開催場所, 時期: ブダペスト (ハンガリー), 2001年2月24日～3月4日

参加者内訳: 45カ国, 18国際機関の代表者

会議内容: サンプリング一般ガイドライン原案について議論し, 指摘に基づいて再起草することとなった. 分析方法承認基準の適用を検討し, 各国から賛意が示されたが, II類及びIII類分析方法の統合については意見が分かれたため, III類分析方法に分析方法承認基準を適用し, 紛争処理にはII類を用いることとなった. IUPACの分析測定における回収率の利用ガイドラインを, 回収率補正の義務を除外した上で受け入れた. 測定限界に関して, LVL (lowest validated level) の導入が検討されたが, 否定的発言が多く, 今回は検討せず必要に応じて再度検討とされた. 測定の不確かさについてのEURACHEM/CITACガイドに関する経過報告があり, さらに検討することとなった. また, 測定の不確かさ, 回収率及びサンプリングとの関連に関する討議文書を作成することとなった. IUPAC/ISO/AOACが作成した, 単一試験所内分析方法妥当性確認のガイドライン案について, 単独分析法にも適用する提案があり, 複数の代表がこの提案に賛成した. タイトルを変更した文書を再起草し, 次回検討することに合意した. 技能試験の結果を用いた分析法の妥当性確認の方法に関する文書を作成することとなった. 放射線照射食品に関する分析方法5種類が提出され, シクロブタノン法はIII類分析方法, その他はII類分析方法として承認された. その他の個別食品部会が提出した分析法は, 妥当性確認のデータが提出されなかった分析法を除いて承認された. 分析関係国際機関間会議報告があり, 分析用語の統一, 分析の品質保証体制等の活動について報告があった. 次回の部会で, 遺伝子組み替え食品のサンプリング及び分析法等を議題とすることとした.

会議名: 第33回FAO/WHO合同食品規格計画食品添加物汚染物

質部会及び特別作業部会

出席者: 食品添加物部 石綿 肇

開催場所, 時期: ハーグ (オランダ), 2001年3月9日～16日

参加者内訳, 人数: 48カ国, 40国際機関・団体から約260名
会議内容: 始めに他部会からの連絡事項の報告, JECFA会議報告などがあった. ad hoc working groupにおける食品添加物の試験法, 規格の変更については, 小さな変更はその場で採決され, 大きな変更はJECFAへ申し送りとなった. 本会議では, 食品添加物関係として, Codex食品規格における食品添加物の使用基準の変更, 一般基準に関するWGの勧告, 規格の改正, 国際番号システムの改訂, 加工助剤の扱いに関する意見の公募等について討議された. 硫酸アルミニウムアンモニウム等7品目について食品用途別使用最高濃度を設定しCACでの採択を求める事となった (Step 8). また, 現在Step 3の食品用途別使用最高濃度はCAC採択を求める (Step 5). 照射食品関係では, Codex食品照射一般基準について改定について検討された (Step 5). 汚染物関係では, マイコトキシン, 鉛, カドミウム, ダイオキシン, クロロプロパノールなどが議題にあがった. 今後の課題として, サンプリング法, 活性化塩素などについて議案があがった.

会議名: 第55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 (規格部会) 病理部 西川秋佳 (毒性部会)

開催場所, 時期: ジュネーブ (スイス), 2000年6月6～15日

参加者内訳, 人数: WHO及びFAO側の委員, 顧問, 事務局など45名

会議内容: 安全性評価の対象となったのは, 食品添加物のカラメルII, コチニール色素, アスパルテーム-アセスルファミン塩, トレハロース, フルフラール, 香料のケイ皮アルコール類, フルフリルアルコール類, フェノール誘導体, 汚染物のカドミウム及びビスズなどであった. 一方, 添加物規格では, トレハロース, D-タガトースなどの規格が新規に設定され, 酵素8品目, キラヤ抽出物, スモークフレーバーなどが見直された. また, 乳化剤43品目の重金属試験が削除され, 鉛の規格が設定された.

会議名: 第8回IPCS国際簡潔評価文書(CICAD)最終検討会議 (FRB)

出席者: 化学物質情報部 関沢 純, 総合評価室 広瀬明彦

開催場所, 時期: ジュネーブ (スイス), 2001年1月8日～12日

参加者内訳: 米国5, 英3, カナダ・独・日本各2, ベルギー・オランダ・エジプト・スウェーデン・ポーランド各1, オプザーバー2, 事務局4名の計26名

会議内容: Acrylonitrile, Arsine, Chlorinated naphthalene, Diethyleneglycol dimethyl ether, Formaldehyde, Methyl-& Ethylcyanoacrylate, N-Nitrosodimethylamine, Polychlorinated biphenylのCICAD原案へ寄せられたコメントへの原案作成担当者による対応の適切さと, その物質のリスク評価上の問題点に関して検討した. 全般的な問題として, コメント提

供者への謝辞とフィードバックのあり方、背景となった各国の評価資料入手先のIPCSウェブ上での明示、既出版CICADのアップデート必要性の判断基準の設定などが議論された。最後にCICAD計画が国際的なリスク評価の推進に果たしている大きな寄与につき、IFCS(化学物質安全政府間会議)、およびIPCSのPAC(計画諮問会議)で重要性が明確に認知されるようにすべきであるとの指摘があった。

会議名: 環境中ホルモン活性物質についての米国環境保護庁および食品医薬品庁との協議

出席者: 化学物質情報部 関沢 純

開催場所, 時期: ワシントンDC(米国), 2000年12月3日-6日

参加者内訳: 米国環境保護庁研究開発局および汚染予防・毒物課, 米国食品医薬品庁医薬品評価研究センターおよび動物用医薬品センター計4名

会議内容: 米国環境保護庁では環境中の複合化学物質汚染による次世代影響リスクについて関澤らがはじめた研究プロジェクトの趣旨と研究成果を説明し, 米国の関連政策と背景文書の説明を受けた。特に内分泌攪乱化学物質に対する研究面およびモニタリングの進捗状況, 本来強い生理活性を持つ医薬品や健康関連化学物質の下水や環境水への流入と影響について, 研究開発局国立曝露研究所の研究および米国毒性試験計画の生殖影響評価チームの報告および, 低濃度曝露を中心とするリスク評価上の問題点について, 詳細な内容について検討を行った。米国食品医薬品庁でも1969年の「米国環境政策法」との関係で食品医薬品庁が医薬品の環境放出による影響評価のために医薬品登録申請者に要求してきた内容の1997年改正について説明を受け, 米国では強い生理活性を有する医薬品や, 健康関連化学物質や動物用医薬品について, わが国でまだ検討が進んでいない環境影響評価のデータを要求していること, また影響の実際についてリスクを評価するためのプロジェクトを多岐にわたって開始しており, 今後われわれの研究班と積極的な協力をを行うことを約束した。

会議名: 第7回IPCS国際簡潔評価文書(CICAD)最終検討会議(FRB)

出席者: 化学物質情報部 関沢 純, 病理部 西川 秋佳
開催場所, 時期: ヘルシンキ(フィンランド), 2000年6月26-29日

参加者内訳: メンバー20名(米国7, 日, 英, 独, カナダ, フィンランド各2, スウェーデン, エジプト, オーストラリア各1), 事務局3名, オブザーバー1名(欧州化学物質・生態毒性センター)

会議内容: Beryllium and beryllium compounds, Barium and barium compounds, Elemental mercury and inorganic mercury compounds, Butadiene, Vanadium pentoxide and other inorganic vanadium compounds, Dimethyl formamidのCICAD原案を最終検討し必要な改訂を加えた上でCICAD原案が承認した。CICAD原案への国際的ピアレビューシステムは良く機能しており短期間(2-3ヶ月)に各物質について数百のコメントが毎回集まるが, 原案作成者が回答を準備する期間は2週間ほどしかなく相当困難がある。中にはCICADがリスク評価文書であって包括的なレビューでないことを理解しないコメ

ント, 工業界からの一定の主張にたった膨大なコメントなどがあり, 信頼性と効率性を確保した対応のあり方について協議した。リスク評価における不確実性要因の問題がきわめて重要なので, 必要に応じこの点についての議論を本文中の評価のセクションに記述することになった。

会議名: IPCS健康リスク評価における不確実性と変動ワークショップ

出席者: 化学物質情報部 関澤 純, 薬理部大野泰雄, 総合評価室 長谷川隆一

開催場所, 時期: ベルリン(ドイツ), 2000年5月9-11日
参加者内訳, 人数: 欧米各国の化学物質リスク評価の担当者・専門家41名

会議内容: 本ワークショップは健康リスク評価の国際的なハーモニゼーション計画の一環として, 1年間の準備を基にIPCSの企画グループ(関澤はメンバー)が開いた。これまで所与のものとして適用されてきた100倍の安全係数を見直し, より科学的データに基づいた不確実性(安全性)係数使用の可能性とその条件を検討することが目標である。会議参加者は, キネティクス・ダイナミクスの分野を専門とする各国の健康リスク評価の専門家とリスク評価担当者から選ばれた。全体会議での導入と質疑応答の後, 4つのグループに分かれて共通の事例を素材に検討を行い, 結果をレポートした。

会議名: IPCS国際化学物質安全性カード(ICSC)原案検討会議

出席者: 化学物質情報部 山本 都

開催場所, 時期: ブダペスト(ハンガリー), 2000年4月10日~14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。本検討会議は, 各国の担当者や化学・毒性の専門家が集まって原案を詳細に検討しICSC完成版とするものである。2グループに分かれ, それぞれ毒性データや化学データ等について数十物質のカード原案を検討した。日本は, 塩化ベンザル, ストリキニーネ, フッ化水素など6物質の原案作成を分担した。

会議名: 化学物質の安全性に関する政府間フォーラム(IFCS)-アジア地域グループ会議

出席者: 化学物質情報部 山本 都

開催場所, 時期: ソウル(大韓民国), 2000年8月2日~4日

参加者内訳, 人数: 日本, 韓国, タイ, インドネシア, インド, パキスタン, イランなどの行政担当者及び専門家約20名

会議内容: 2000年10月にブラジルで開催されるIFCS(化学物質の安全性に関する政府間フォーラム)IIIに向けて, アジア各国の化学物質管理に関する活動を総括し, 今後のアジア地域としての行動計画をとりまとめる予備会議である。日本からは, 厚生省生活衛生局生活化学安全対策室をはじめ, 通産省, 環境庁の担当部局, 及び国立衛研が出席した。日本としての活動の一環として, 国立衛研が中心に

なって進めているGINC（化学物質に関するグローバル情報交換ネットワーク）プロジェクトについてプレゼンテーションを行った。

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：バルセロナ(スペイン), 2000年10月2日～6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。今回の会議では, ICSCコンパイラズガイド大幅改訂のための検討作業が中心となった。日本は, 亜塩素酸ナトリウム, 1,3-ジクロロベンゼン, ビス2-クロロエチルエーテルなど4物質の原案作成を分担した。

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：ハノーバー(ドイツ), 2001年3月12日～16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：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。またICSCコンパイラズガイド改訂の最終検討を行った。日本は, アレスリン, パーメスリン, フェンバレート, デルタメスリンなどピレスロイド化合物14物質の原案作成を分担した。

会議名：第1回韓国食品医薬品安全庁国立毒性研究所・国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター・合同シンポジウム

The first NITR/KFDA and BSRC/NIHS Symposium

開催場所、時期：韓国ソウル市(韓国食品医薬品安全庁国立毒性研究所), 2000年10月20日～21日
(主催：韓国食品医薬品安全庁)

参加者内訳、人数：韓国食品医薬品安全庁国立毒性研究所約50名及び国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター9名(黒川, 井上: 当報告者, 大野, 広瀬, 林菅野, 長谷川, 江馬, 金子)

会議の内容：1999年, 韓国食品医薬品安全庁顧問Insu Lee博士から, 業務・研究内容が極めて類似している韓国食品医薬品安全庁と国立医薬品食品衛生研究所の毒性学専門家の会合の提案を得, 安全性評価においての情報交換を行うこととなった。シンポジウムの経過・内容: 10日20日(韓国国立毒性研究所のKwang-Sup Kill所長より挨拶。今回, 特に内分泌かく乱化学物質及びダイオキシンに関する研究情報の交換を計画。シンポジウム, セッション1では, 両研究所の機構・研究・業務内容等の紹介。国立毒性研究所からは, 毒性部, 薬理部, 病理部, 実験動物施設の代表から, 安全性生物試験研究センターからは, センター長, 毒性部

長, 薬理部長, 病理部長, 変異遺伝部長, 総合評価室長から説明。セッション2では, 内分泌かく乱化学物質を取り上げた。ついで2日目は, 韓国食品医薬品安全庁のYang長官を表敬訪問。その後, セッション3ではダイオキシンを取り上げた。最後のセッション4では, 参加者の専門別に4つのグループを作り, 韓国側の興味のある問題点について討議を行った。

会議名：経済開発協力機構・内分泌かく乱化学物質の試験評価特別委員会(EDTA): 第4回内分泌かく乱化学物質(EDCs)の試験法とスクリーニングに関するバリデーションの運営に関する専門家会議
(Task Force on Endocrine Disrupters Testing and Assessment(EDTA): The 4th Meeting of the Validation Management Group on Screening and Testing for Endocrine Disrupters)

出席者：毒性部 井上 達

開催場所、時期：経済開発協力機構本部, 第6階会議室(2 rue Andre Pascal), 2000年5月17日
(主催：経済開発協力機構(OECD))

参加者内訳、人数：47名(17カ国, 2団体: 内事務局5名)本邦より, 10名。青山, 井口, 井上*, 久保, 松尾*, 高月, 内田, 山田, 山崎安野。(*登録者)

会議の内容：Status Report and Outcome of the EDTA4

1. EDTAの第4回会議は, 17May2000に, 頭記にて開催された。Dr Robin Fielder(UK)を座長として, 関係各国(上記)および, WWFと欧州連合が参加した。Herman Koetterがあいさつに立ち, この間, EDCs問題については, 試験法の開発などをめぐって大きく進展したことならびにこの方向性と視点について, 会議として強力に支持してゆくことを確認した。

2. Wild lifeに関する環境毒性影響領域における作業については, 特別委員会にて通観して, そこでの魚類について, その状況報告と, 東京会議(2000年3月, 東京)のフォローアップとして必要な今後の進めるべき試験法についての考え方(動物種など)について, Marie-Chantal Huetが報告, 了承。Marie-Chantal Huetは, 他の鳥類, 両棲類, 無脊椎動物など3種についてもそれぞれ資料に沿って報告。これに対してこの特別委員会としては, これらにそって進めるためValidation Management Group (VMG-Eco)を発足させ, とくに魚類について(魚類以外についてもいざい可能な限りそうした組織を形成していくものとして)積極的な推進をはかるべきという結論に達した。尚, このVMG-Ecoは, the VMG(mammalian)と, 化学物質の選択とか, 供給などの他, バリデーションに関連する一般事項について, 当然の事ながら相互に協力して進める。

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)
主 催：国際化学物質安全計画(IPCS), 経済開発協力機構(OECD)
後 援：英国環境・輸送・国土庁(Department of the Environment, Transport, and Regions)

出席者：毒性部 井上 達
 開催地：英国環境・輸送・国土庁ビルディング
 (at Great Minster House)
 開催日：2000年9月18日～20日
 参加者内訳、人数：30人
 会議の内容：WHO/UNEPモノグラフ「内分泌かく乱化学物質」の出版に関する編集委員会

次の点について2日半にわたって討議を行った：

(I) 内部ピアレビューとして、各編集委員が、これまでの作業担当章と入れ替わって、Leading reviewerとして、改善コメントを発表した。(各担当者は、別添プログラムの通り)

(II) Authorsに送る最終の手直し。

(III) 今後の日程の検討。

モノグラフの概要

第2章：はじめに／背景：

第3章：内分泌系の解説：(この章を担当)

第4章：野生生物：

第5章：ヒト健康影響：

第6章：暴露データ：

今後の日程：

2000 Early December：Revisions into secretariat from steering committee.

2000 Mid December：Secretariat integrates documents.

2001 Early January：Steering Group check the documents (electronically)

(2001 January -April：Technical Editing)

2001 End of February：Send to Authors for 3 mos. until April.

Author's dead line (by the end of March)

Review author's comments (by Ch. Reads)

2001 End of February：Scientific Peer Review for 3 mos. until April.

Send documents to PR electronically.

2001 Early May：Incorporate Agreed Peer Review Comments. (by Steering Group) May -June 2001.

2001 August：Sent out for Public Comments.

(electronically, website)

2001 sep-Oct：Review Public comments.

(by Steering Group)

2001 December：Final Documents Roll Out.

(final review meeting by S.G.) ± workshop.

会議名：内分泌かく乱化学物質関連文献査読会議
 (Endocrine Disruptors Low Dose Peer Review)
 (<http://www.niehs.nih.gov/oc/news/ntprepro.htm>)

出席者：毒性部 井上 達、菅野 純、大阪支所 江馬 真

開催場所、時期：シェラトンインペリアルホテルコンベンションセンター(米国ノースカロライナ州リサーチトライアングルパーク)、
 2000年10月10日～12日(主催：米国国立環境衛生研究所)

参加者内訳、人数：約300名。本邦からピアレビュー者として菅野純毒性部室長、データ報告者として江馬真支所生物試験部室長が招待された。(当報告者井上達は、公式オ

ブザーバー)

会議の内容：内分泌かく乱物質低用量ピアレビューの目的は内分泌攪乱作用が疑われる化学物質の低用量での影響を取り扱った報文をレビューし、これまで使用されてきた生殖・発達毒性試験のプロトコールが妥当なものであるかどうかを検討すること。

概要：本ピアレビューは2000年初めにEPAがNTP(National Toxicology Program)に依頼したもので、ここで報告するピアレビューに先立ち、選別された論文の統計手法の妥当性がまず検討された。会議での低用量とは、生物学的な変化が生じる環境中での暴露濃度あるいは通常EPAが使用する毒性試験の濃度よりも低い濃度とした。試験法の妥当性を検討するとともに、内分泌系活性物質の低用量での用量-反応曲線の形状を検証すること、などを検討課題とした。会議は選別された約60の試験について各試験責任者からの発表と質疑応答で始まり、これに含まれなかったが重要と見られる試験の概要(background information)を次に紹介。統計および用量-反応モデリングサブパネル報告に移ったあと、1日目(10月10日)の終わりからピアレビューの終了(12日)まで、サブパネル(ビスフェノールA等)に分かれて討論し、最終日にそれらの報告を聞き、質疑を行った。

会議名：OECD内分泌攪乱化学物質に関する専門家会議

出席者：毒性部 菅野 純

開催場所、時期：パリ(フランス)、2001年3月26日～27日

参加者内訳、人数：各国のEDTA / VMGメンバーを含めた27人の専門家、また3人の専門家が電話により参加

会議内容：OECDにおいてはEDTA(Task Force on Endocrine Disruptors Testing and Assessment)/VMG(Validation Management Group)を核に、EDC対応試験法の開発を進めてきた。既に日本を含めたリードラボラトリーのイニシアティブにより、現在における最高レベルの、しかも研究機関間誤差、研究機関内誤差を最小限にとどめるよう慎重に検討されたプロトコールが提案されvalidationの段階にある。今回の用務はこのvalidationを中心議題とし、今後のテストガイドライン化に向けてのVMGの方向性を定めることになった。

当初より、当研究所がリードラボラトリーとして活動している、げっ歯類子宮肥大試験のvalidationに関しては、実施ラボラトリー間の結果のバラツキ、試験を本来の「げっ歯類」を対象としたものとしてテストガイドライン化すること、その際に補強すべきマウスデータを検討し、合意を得ること、等が話し合われた後、ratのvalidationによって本試験が適正で信頼にたるとの確認のもと、テストガイドラインの推進を上部組織であるEDTA/WNTに上程することで合意した。

会議名：日独環境保護協定「ダイオキシン問題に関する専門家会合」

主催者：ドイツ環境省、駐ベルリン日本大使館

開催場所：連邦環境省および連邦環境庁(ドイツ、ベルリン)

開催日：2000.9.18-19

参加者：ドイツ連邦環境省(Mr. Andreas Gallas)、ドイツ連邦

環境庁(Gunter Neumeier, Bernt Johnke, Dr. Dieter Gottlob, Gerlinde Knetsch, Prof. Werner Schenkel), その他 (Jurgen Vehlou, Dr Mathar, Oliver Gohlke), 環境庁 (今田長英, 川上毅, 森田昌敏, 鈴木規之), 厚生省 (室石泰弘, 馬場泰弘, 酒井伸一 (京大), 大野泰雄), 日本大使館 (深川書記官, 加藤専門調査官)

会議の内容: 18日の会議はGallas氏の挨拶の後, Neumeier氏よりドイツにおけるダイオキシン汚染の削減のための法的対応とその成果について説明された。要約すると, 1989年頃よりPCB, PCT, VC, PCPの禁止, 焼却施設排気中ダイオキシンレベルの基準設定(参照値或いは勧告値は0.1ng TEQ/m³以下), 汚泥中レベルの設定(100ng TEQ/kg乾燥重量), 牛乳および乳製品中レベルの設定(目標値:<0.9, 警戒値:3.0, 禁止値:5.0TEQ/kg fat), 土壌中レベルの設定(特殊用途の回避:5-40, 特定の農業等への使用の制限:>40 ngTEQ/kg乾燥土壌重量)等の処置により, 1989年以降空气中のダイオキシンが50%, 乳製品や肉類が60-70%, 魚が60%, ヒトの一日摂取量が60-70% (0.7pg/kg), 母乳が45% (13pg/g fat)低下したと説明された。また, 今田ダイオキシン対策官および室石課長補佐は日本におけるダイオキシン対策の現状について説明し, 我が国における焼却施設からのダイオキシン排出を2002年までに89%削減する計画であり, 99年までに総排出量が1997年の7,300-7,550g TEQ/年から2,620-2,820に低下したことを報告した。この後, 焼却施設におけるダイオキシン生成機構とその削減技術についてJohnke氏, 酒井助教授, 鈴木総合研究官が説明した。19日の会議ではドイツ環境省のSchenkel局長が挨拶した後, BgVVのMathar博士がドイツにおける食物, 飼料, および母乳汚染の詳細について説明した。即ち, ドイツにおいては肉類から15.2pg I-TEQ (30%), 牛乳および乳製品から19.7pg I-TEQ (39%), 魚から5.8pg I-TEQ(11%) 摂取している。環境研の森田総括研究官は日本におけるダイオキシン汚染問題について説明した。要約すると, 大都市の空気には0.35ng TEQ/m³ (1998), 血中ダイオキシンレベルの平均は大阪で約35-37, 埼玉で約36pg-TEQ/g fatで焼却場周囲と対象域とで有意な差が認められないことを説明した。報告者の大野は厚生省と環境庁が合同で設定したダイオキシンの一日許容摂取量(TDI)の毒性学および薬物動態学的根拠について説明した。最後にドイツ環境庁のKnetsch氏がダイオキシンに関するデータベースについて説明した。

会議名: ICH-5準備会議 (M3/S5bグループ)

開催場所: ベルギー, ブリュッセル

開催日: 2000, 7, 17-21

参加者: 大野泰雄

会議の内容: 雄性生殖臓器への毒性を検出するために必要な反復投与毒性試験の期間に関して我々の行ったバリデーションの結果に基づきICHのガイダンス(ICH-S5bおよびICH-M3)の修正のために欧米の専門家と協議した。その結果をSteering Committeeに報告し, 両ガイダンスの変更が基本的に認められ, ガイダンス変更案の細部の表現について, 更に検討することとなった。その内容の詳細についてはICH-5会議報告に示した。

会議名: ICH-5 (M3/S5bグループ)

開催場所: 米国, サンジェゴ

開催日: 2000, 11, 8-12

参加者: 大野泰雄, ほか厚生省関係者が約30名, 日本から約300人程度参加。全体では約1500人。

会議の内容: ICH全体の会議の内容については略す。安全性分野では報告者がICH-S5bおよびICH-M3ガイダンスの変更について説明した。その内容は以下のとおり。1) ヒトにはじめて投与する前に必要な反復投与毒性試験の期間が合意されていなかった。その理由は, わが国では事前に男性生殖能に対する影響を検討が必要であるが, 欧米ではそれを必要としないこと, また, 4週間試験における精巣の注意深い観察により男性生殖能に対する影響の有無の検討が可能であるが, 2週間試験で可能であるか否かについての情報が乏しいことによる。2) ホルモナイゼーションを進めるためには男性生殖臓器への影響評価において2週間の反復投与毒性試験が4週間試験結果と同等であることを示すことがある。そこで, 3) 国立医薬品食品衛生研究所と製薬協傘下の27社(延べ約160人)の毒性専門家の協力により, 4週間試験で男性生殖臓器に対する毒性を現す24種の医薬品および一般化学物質を用い, 30種類のプロトコルでバリデーショを行った。その結果, 4) a)ほとんどの薬物では2週間試験でも4週間試験と同様に男性生殖臓器重量を低下させる, b)臓器重量に影響が見られないものでも, 多くが通常病理組織学的観察では毒性的変化が認められる。しかし, c) cyclophosphamideとpyrimethamineについては精子のステージ分析を含む詳細な観察によってのみ変化が認められる。d) 2週間試験で変化の認められなかったものがtheophyllineとreserpineの二種あったが, これらでは4週間試験でも変化が認められなかった。これらの結果から, 5) 男性生殖臓器への毒性の有無を検出するうえで, 2週間試験は4週間試験と同等の能力を有する。6) これに基づいて提案されたICH-S5b, ICH-M3のガイダンスの変更がSteering Committeeで認められた。この発表について精子のstage分析の必要性について質問を受け, 男性生殖臓器への毒性が陰性であることを示すためには, また, 繁殖性試験を行わないでヒトに投与するためには必要であると回答した。

その他, Step 4に達した安全性薬理に関するガイドラインの骨格, GLP適応の範囲について前代謝生化学部長である藤森氏より報告された。

会議名: FAO/WHO合同残留農薬会議 (JMPR)

出席者: 病理部 広瀬雅雄

開催場所: スイス (ジュネーブ)

時期: 平成12年9月20-29日 (参加は26日まで)

参加者内訳、人数: WHO memberとしてはイギリス, アメリカ, スウェーデン, チェコスロバキア, イタリア, エジプト, オーストラリアから8名, Chairman: Dr. A. Moretto (Italy), Rapporteur: Dr. B.G. Priestly (Australia), Temporally advisorとしてイギリス, アメリカ, オランダ, スイス, 日本, フランス, オーストラリア, ドイツから9名

会議内容:

1. Chloropham (新規), Deltamethrin, Dodine, Fenitrothion, Imazalil, Thiodicarb (CCPR Periodic Review Program),

Carbaryl, DDT, Fipronil (Other evaluations) について作成された資料を討議しADIを設定, および該当するものについては acute reference dose (ARfD)の設定も行った。

2. Temporally advisor の中立性が疑われる事態が発生したため, 中立性を保つための討議が行われ, 基本的にJMPRでの評価は公平に行われており, 今後JMPRの参加者に関するより正確な役割を明らかにするなど, 合計8項目の事項について合意された。

3. Genotoxicity testsの要約, Conclusions on potential carcinogenic risk to human, および Toxicological Evaluationの書式を統一することが決定された。

4. Acute reference Dose について Test Guideline およびGuidance が提案され, その設定にあたりAcute oral lethality or LD50 data, Developmental effects, 反復毒性試験の初期に認められる臨床症状や生化学的変化, 急性神経毒性などの結果が必要であることが合意された。

会議名: マレーシア化学物質リスク管理プロジェクト
遺伝毒性分野の技術指導およびセミナー

出席者: 変異遺伝部 林 真

開催場所, 時期: SIRIM, シャーラム, マレーシア,
2001年2月11日~17日

参加者内訳, 人数: 技術指導に関してはSIRIM側4名,
セミナーは日本から4名, マレーシア
からの参加は講師を含めて約100名

会議内容: JICA鉱工業開発協力第2課が進めているマレーシア化学物質リスク管理プロジェクトの一環として遺伝毒性試験の立ち上げが第2期より組み込まれた。本来は2000年度で終了の予定であったが, 途中から当初の目的であった「細菌を用いる復帰突然変異試験」に加え, 「ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験」の技術移転が追加となり, 終了も2001年度末に延長された。今回は細菌を用いる復帰突然変異試験の技術移転がほぼ終了したので, その成果を確認すると共に染色体異常試験技術移転の検討, および同時期に開催されたJICAとマレーシア側共同主催によるセミナーに参加し, 講演を行うことを目的とした。

本プロジェクトのマレーシア側受け入れ先は最近環境省より独立法人化したSIRIMであり, 遺伝毒性試験の技術移転のために研究室の整備も行われ, ほぼ十分な環境を確保していた。なお, 今回の訪問期間中に開催されたセミナーは「有害物質のリスクマネジメントと環境毒性」に関するものであり, 日本からは報告者を含め4名が化審法の解説を踏まえて講演を行った。

会議名: 日中友好「国家医薬品安全性評価管理センター」
プロジェクト第一回遺伝毒性セミナー

出席者: 変異遺伝部 本間正充

開催場所, 時期: 北京市中国薬品生物製品検定所,
2000年10月18日(休)

参加者内訳, 人数: 中国薬品生物製品検定所約20名,
北京市内の大学, 研究所約40名,
北京市以外の大学・研究所約20名,
計約80名

会議内容: 日本国際協力事業団(JICA)の支援による日中友好「国家医薬品安全性評価管理センター」プロジェクトの一つとしての第1回遺伝毒性セミナーを開催した。セミ

ナーでは日本側1名, 中国側6名の演者により, 遺伝毒性における各専門分野が口演, 討論された。日本側は遺伝毒性分野での日本のGLPガイドライン, ICHガイドライン等を紹介し, その中で遺伝子突然変異試験の重要性を解説した。特に, In vitro遺伝子突然変異試験の中で最も検出力が高いとされている, チミジンキナーゼ遺伝子をターゲットした常染色体劣性型の遺伝子突然変異試験の有用性について, 最新の分子生物学的, 細胞生物学データを含めて紹介した。中国側からはMLA試験, 単細胞電気泳動法(コメット法), HPRT遺伝子突然変異試験, トランスジェニックマウスによる遺伝子突然変異試験などについて中国の研究の状況や, 安全性試験法としての利用について紹介された。最後に本プロジェクトの成功に向けて, 遺伝毒性に関わる研究・技術者が今後もセミナー, シンポジウム, ワークショップ等のイベントに積極的に参加・協力することが確認された。

会議名: 日中友好「国家医薬品安全性評価管理センター」
プロジェクト第二回医薬品安全性評価学術シンポジウム「GLP管理下における遺伝毒性試験と新技術」

出席者: 変異遺伝部 林 真, 本間正充, 鈴木孝昌

開催場所, 時期: 北京市北京瀟湘大厦, 2001年3月7日(休)
参加者内訳, 人数: 中国薬品生物製品検定所約20名, 北京市内の大学, 研究所約30名, 北京市以外の大学・研究所約45名, 日本人研究者5名, 計約100名

会議内容: 日本国際協力事業団(JICA)の支援による日中友好「国家医薬品安全性評価管理センター」プロジェクトの一つとして, 第二回医薬品安全性評価学術シンポジウム「GLP管理下における遺伝毒性試験と新技術」を開催した。開会に先駆けて, 中国国家薬品监督管理局, 中国薬品生物製品検定所, JICA中国事務所, 日本大使館よりご挨拶をいただき, シンポジウムが開始された。シンポジウムは2日間に渡って開催され, 日本側からは5人, 中国側から4人のシンポジストが各専門分野について講演した。シンポジウム後半は中国の各研究所の研究者4名がそれぞれの研究について研究発表を行った。シンポジウムの最後に, 中国薬品生物製品検定所, 日本側専門家代表, 中国国家薬品监督管理局より挨拶をいただき, シンポジウムが閉幕した。医薬品の安全性を保証するためには科学的根拠に基づいた最新の試験技術と, その試験データの信頼性を高めるためには厳格なGLP管理が必要である。本プロジェクトの成功にはこの両者のバランスを取りながら, 技術指導や, 人材育成を進めていくことが重要であることが確認された。

会議名: 第9回OECD 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12年5月29日-30日

参加者内訳, 人数: OECD加盟国の約40名

会議内容:

・米国からパーフルオロオクタン硫酸(PFOS)は40年前より製造使用されており, 現時点でヒトの健康に影響を及ぼしていないと推定されるものの, その毒性の強さ, 残留性,

ヒトの血液から検出されていることから、その製造会社である3Mから製造中止の決定がなされたことについて報告があった。続いて、3Mからその詳細および現在進行中の試験、今後の計画について説明があった。今後のOECD加盟国の対応・協力について発表があり、日本も何らかの形で協力することとなった。目標としては、本年9-10月に非公式会合を行い、最新フォーマットでSIARとRobust summaryを作成して評価することとされた。

- ・前回のタスクフォース以後の活動報告ならびに米国からカテゴリーアプローチ、SARアプローチガイダンスの進捗状況について説明があった。また、事務局からHPVリストのなかに、欧州連合あるいは米国で評価不要とされている物質のリストを作り、評価対象から外すことが提案されたが、基準が不明確であるなどの意見から、今後EDGを通して意見交換されることとなった。

- ・本会合の前に行われたIOMCについて、IPCSのYounesから説明があった。

- ・ICCA Initiativeについて、SIAM 11, 12において50の化学物質を新しい形のpilot studyとして行うことがすでにJMで決定されている。この各過程における進捗状況を把握するために、担当国と企業の役割分担等の実行内容を質問状の形 (Checklist) で行い、SIAR提出時に同時に提出することが同意された。SIAM 11に提出できそうな物質数が各国から発表され、日本としては3物質程度が可能であること、Peer Reviewシステムを設置したことを紹介した。

- ・IUCLIDについて、Expert Panelの活動と進捗状況の説明があり、Robust summaryを含めて検討中である旨が紹介された。次回会合は7月初旬。

- ・既存化学物質、新規化学物質および農薬の毒性等の情報整理に関して、同一Formatを用いることが5年後を目標に模索されている。また、IUCLIDの利用も検討されている。

- ・情報シートとして、事務局よりオーストラリアおよび日本が作成したSIARおよび Robust summary のサンプルをInternetに載せること、EDG、HPVリスト、SIDS Table、ExichemはすでにInternetで見ることが出来ること、ICCA tracking systemとの結合も今後検討されることが説明された。

- ・各種毒性の程度を分類するためのOECDガイダンスが成立しているが、これをSIARに盛り込む手法について今後検討されることになっており、スウェーデンと欧州連合がこれに協力することになっている。

- ・SIAM 10における成果について、18物質の文書が同意され、うち16文書についてはPost SIDS作業となったこと、EDGが有効に活用されたことが報告された。Post SIDSについてはHPV Tableでその内容が明確化され、その進捗状況の情報についても得られるよう計画されている。SIAM 11は来年1月24-26日に予定されているが、提出文書数に関しては本年初夏までに連絡すること、時間節約のため大半の議論はEDGで行われるよう事務局より要請があった。

会議名：米国環境保護局訪問OECD PFOS非公式評価会合

出席者：総合評価研究室 長谷川隆一

開催場所：ワシントンDC およびアーリントン(米国)

時期：平成12年10月25日-27日

参加者内訳：OECD非公式会合は米国、カナダ、英国、日本および3Mからの専門家40名

会議内容：米国環境保護局公式訪問ではChemical Control Div. HeadのCharles M Auer, Risk Assessment Div.のRebecca S CoolとFlora Chowから新規化学物質の登録制度の説明を受け、日本との体制の相違について討議した。最大の相違点はUSでは申請時に毒性データを含む実験データの提出が不要なことである。申請後に当局はQSARやCategory分析を行い、必要に応じて試験の要求を行う。HPVについては、Div. HeadのOscar Hernandez, HPV ChiefのRichard Hefter, Science Support ChiefのTom McClintockから特にUS InitiativeによるUS HPV 2,800物質の点検と予定について説明を受けた。最後に、既存化学物質について、Mary F DominiakからOccupational Safety and Health Administration (OSHA)およびConsumer Product Safety Commission (CPSC)との共同作業で活動している旨の説明を受けた。

PFOS (perfluorooctyl sulfonates) 非公式評価会合では、情報を非公式に初期評価すること、および11月に行われるJM (Joint Meeting) に提出・討議する活動を確立することである。PFOSには約90種の誘導体が各種の製品に使用されているが、生態系や体内で代謝され最終的にすべてがPFOSになると考えられている。また、ポリマーとなった製品については殆ど分解されない。製造会社の3Mは2000年末で大半のPFOS類の生産を中止し、2002年末ですべてのPFOS類の生産を中止する段階的の処置を取ることを紹介し、これらの製品についてはOECD加盟国のみならず非加盟国にも十分な理解を得る必要があること、次回のJMにこれらの情報を報告する際に協力すること、生産や使用に関する情報をさらに収集すること、正確なモニタリングデータを収集すること、分析法を含めて暴露ルートの解明に当たることなどが指示された。3Mではマーケットバスケット法などを用いてヒトでの暴露状況を継続的に調査する。カナダ政府はPFOS類の使用形態を含め詳細な暴露情報を収集する計画であることを、日本政府からPFOSは生分解性のないことおよび蓄積性は比較的低いとの予備試験結果を紹介した。一方、PFOSの毒性作用機構として、cholesterolを含めた脂肪代謝阻害およびエネルギー代謝阻害が考えられているが、詳細は不明で現在も研究が継続中であることが3Mから述べられた。PFOSは生体内で代謝を受けず、排泄半減期はヒトでは300日程度である。カナダ政府からPFOSの毒性評価が3Mの資料だけに基ついて行われていること、最終評価が血清PFOS濃度に基づいて行われていることに疑問が出され、カナダ政府としては独自で評価方法を検討することが述べられた。ラット世代試験で2世代目新生児の体重減少をどう考えるかとの問題提起があり、日本政府としてはその上の用量で死亡が見られていることから有害影響と考えるべきであるとの意見を述べた。

日本政府としては今後、通産省が蓄積性・労働暴露などの研究計画を、環境庁が環境モニタリング計画のあることを発表した。最後に3Mは本会議で述べられたコメントに基づいてSIARを修正すること、本会議の内容については議長が1-2ページにまとめ、JMではRoom Documentとして提出することが述べられた。

会議名：第11回OECD 高生産量化学物質初期評価会議

出席者：総合評価研究室 長谷川隆一

開催場所：オランダ (米国)

時期：平成13年1月23日-26日

参加者内訳、人数：OECD加盟国の約80名

会議内容：再審議として8物質、新規審議として18物質、カテゴリとして5物質およびPost SIDSとして2物質が審議された。再審議物質についてはEDGに掲載されたコメントに回答する形で、新規物質については簡単にSIAPの内容を紹介したのち、同様にEDGに掲載されたコメントに回答する形で審議が行われた。その結果、8物質については、追加の対応は必要なしとされたが、21物質については追加試験または作業が必要との合意がなされた。日本政府としては再審議として3物質、新規審議として1物質を提出し、再審議1物質、新規1物質は合意されたが、再審議2物質については健康影響部分のみが終了した。追加作業として主に物質についての再試験を行った後、再提出する予定である。

今回初めてICCAが作成した11物質の初期評価文書が提出・審議された。日本からは3評価文書が3企業により作成され、政府各担当部署（健康影響部分については厚生省が担当）による事前評価および政府全体としての最終評価行われた後、当室からOECD事務局に提出された。3文書とともに合意が得られた。

【再審議物質】108-44-1:m-Toluidine（日本）、108-88-3:Toluene（デンマーク/EU）、120-61-6:Dimethyl terephthalate（イタリア+米国）、127-19-5:N,N-Dimethylacetamide（イタリア）、79-41-4:Methacrylic acid（ドイツ/EU）、80-62-6:Methyl methacrylate（ドイツ/EU）、4979-32-2:N,N-Dicyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide（日本）、5392-40-5:Citral（日本）

【新規審議物質】57-55-6:1,2-Propylene glycol（米国/ICCA）、110-98-5:2-Propanol,1,1'-oxydi-（米国/ICCA）、25265-71-8:Dipropylene glycol（米国/ICCA）、60-00-4:E.D.T.A.（ドイツ/EU）、64-02-8:Tetrasodium E.D.T.A.（ドイツ/EU）、71-43-2: Benzene（ドイツ/EU）、77-92-9: Citric acid（スイス/ICCA）、95-49-8: Toluene, o-chloro-（ドイツ/ICCA）、106-88-8: Butane, 1,2-epoxy-（ドイツ/ICCA）、107-22-2: Glyoxal（フランス）、107-98-2: 1-Methoxy-2-propanol（米国/ICCA）、108-65-6: 1-Methoxy-2-propanol acetate（日本/ICCA）、119-47-1: 6,6'-Di-tert-butyl-4,4'-dimethyl-2,2'-methylene-（日本/ICCA）、760-23-6: 3,4-Dichloro-1-butene（日本+ドイツ/ICCA）、1634-04-4: Methyl t-butyl ether（フィンランド/EU）、4457-71-0: 3-Methyl-1,5-pentandiol（日本）、7664-93-9: Sulfuric acid（フランス/ICCA）、32534-81-9: Pentabromo diphenyl ether（イギリス/EU）

【カテゴリ】111-66-0: 1-Octene（米国）、112-41-4: 1-dodecene（米国）、592-41-6: 1-Hexene（米国）、872-05-9: 1-Decene（米国+フィンランド）、1120-36-1: 1-Tetradecene（米国）

【Post SIDS物質】112-18-5: N,N-Dimethyldodecylamine（ドイツ）、120-82-1: 1,2,4-Trichlorobenzene（デンマーク）

今後の予定について、6月にSIAMを開催したい旨事務局から提案があり、現時点で12-14物質くらいの提出が可能なることから、SIAM 12として開催される見込みとなった。その結果、SIAM 12の議事案を2月28日までに作成し、3月31日までに資料をWebsiteに載せ、6月27-29日にパリで開催予定となった。また、SIAM 13は11月5-7日に開催予定とされた。

会議名：第2回IUCLID開発専門家パネル

出席者：総合評価研究室 広瀬明彦

開催場所：パリ（フランス）

時期：平成12年7月10日-12日

参加者内訳、人数：OECD加盟国の約30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。今回は前回のExpert Panel for IUCLID 会議の討議内容を受け、Robust SummaryやCategoryによるSIAMレポートの作成に関して、サンプルデータを用いて、運用の実際的な問題点について討議がなされた。

1. 最新版のIUCLIDシステムVersion3.1.1における新機能の紹介

ECのECB (Environmental Chemical Bureau) からソフト開発を委託されているTechnidata社によりIUCLIDシステムVersion3.1.1の紹介が行われた。出力方法がMS-WORDのファイル形式へはきだせるようになったことと、CategoryによるSIAM (Dossier) レポート作成に際して各化学物質の登録やデータの関連づけの方法についてデモが行われた。

2. Robust Summary作成時における問題点の検証

実際にIUCLIDシステムでRobust Summary作成する際に問題となる点について、会場にIUCLIDの入ったPCを用意し、Robust Summary reportのサンプルを各出席者が入力し、問題点の検証を実地で行った。その結果、概ねデータは入力できるが、一部にそのままでは入力できない箇所（たとえば、選択肢が無く直接入力が必要なものや、入力できる項目が一カ所しかないため、コメント入力欄の中のFree Textの部分に入力しなければならないもの）などがあることが判明した。しかし、これらの問題点については、特に決定的な障害ではなく、入力方法を変えることによってある程度解決できる問題であることが確認された。

3. IUCLIDシステム上でのCategory (Template) 作成時における問題点の検証

米国EPA側から、テストバージョンのIUCLIDシステム上でのCategory (Template) 作成時における問題点（主に物質同士のデータ関連づけの整合性について）が指摘されたが、現時点で若干の制限はあるもののTechnidata社の説明による適切な操作手順の説明により、解決されるものであることが明らかにされた。また、米国EPAのHPVチャレンジプログラムでは、一連物質群の特性（毒性）データに関して、データの有無や数値をテーブル形式で表し、どのデータが今後必要であるかについての判定材料にすることになっているが、この方法をどのようにIUCLIDシステムに取り入れるかについて議論された。その結果、直接テーブルをIUCLIDシステムから作り出すことはできないが、IUCLIDの検索機能を使えば、容易にテーブル作成用の情報が得られることが示された。

4. 今後の計画

今後、IUCLIDシステムを実際に使用していくうちに、更なる問題点が発生してくる可能性があるが、これに関しては、本会議のメンバーで作る電子会議システムをOECDのホームページに作成し、技術的な解決法に関する場を設け

ることとした。

会議名：第2回化粧品国際調和協力会議

(CHIC: Cosmetic Harmonization and International Cooperation)

出席者：医薬品医療機器審査センター 審査第3部 中村高敏

開催場所：米国(ワシントン)

開催時期：平成12年5月8日～10日

参加者内訳：厚生省審査管理課課長補佐(当時)坂本純氏及び中村

参加人数：2名

会議内容：第2回CHICは米国FDAにおいて開催され、EUから1名、カナダから3名(保健省：ヘルスカナダ)及び日本から2名が参加した。我が国からは、平成13年3月末より欧米と同様のネガティブリストとポジティブリストによる化粧品の成分規制を我が国も導入する予定であること等、今後の化粧品規制について紹介を行った。

EUにおける化粧品に関する動物実験の今後の規制動向(2001年12月1日から最終製品の動物実験不可、2004年12月1日から成分の動物実験不可等)、EUにおいて検討中の香料のアレルギー性に関する情報、INCI及び化粧品の成分名に関する各国の動向、米国等における企業秘密成分(非開示成分)に関する情報等を収集し、危害情報の交換等について意見交換を行った。

4極間の情報及び意見交換(次回会合の開催場所等の詳細も含め)を今後も継続することで合意した。

調査名：マレーシア国食品衛生プログラム強化プロジェクト短期調査

出席者：食品試験部 外海泰秀

開催場所、時期：クアラルンプール、平成12年12月3日から16日まで

参加者内訳、人数：桑崎俊昭、宮川昭二、外海泰秀、甫立八州、多田善彦、山田史子、東野英昭(7名)

調査内容：今回の短期調査の目的はマレーシア政府からプロジェクト方式の技術協力が要請されている食品安全プログラムの強化について、技術協力の大枠を決めるため、マレーシアの食品衛生事情について調査すると共に、PCM手法によりプロジェクトの目的、期待される成果等についてPDM(案)としてとりまとめ、その結果について両国間で協議し、署名交換を行うことであった。現在、マレーシアは発展途上国と先進国の中間に位置しており、食品衛生に関する行政組織や関係法令の整備は進んでいるため、本プロジェクトの実施期間は3ヶ年とすることで合意した。本プロジェクトの主眼は残留農薬や残留動物用医薬品等の試験検査能力の強化及び輸入食品の安全性確保を図るための輸

入届け出等のシステム化、ネットワーク化である。これらについては焦点を絞り、かつ明確な指標の設定を行った上で技術協力を実施することにより、3ヶ年という短期間であっても所期の目的が達成できるものと考えた。

会議名：IPCSの第6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：シドニー(オーストラリア)、1999年5月25～28日

参加者内訳、人数：メンバー19名(米6、英、豪各3、日、独は各2、カナダ、中国、スウェーデン、各1)、事務局4名、オブザーバー5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HCFC-123(2,2-Dichloro-1,1,1-trifluoroethane)、Crystalline silica, Chloral hydrate, Benzoic acid and sodium benzoate, Beryllium and its compoundsについて最終検討し、CICAD原案が承認されることになった。2000-2001年のCICAD計画について提案され、このうちPCBについては情報量が多いことと、討論中の問題があるなどの理由により運営会議で検討することになった。最終検討会議の役割、ピアレビューおよびCICAD原案作成者へのガイダンス、最終出版物としてのCICADの販売などについても討議された。

会議名：IPCS・欧州連合同統的リスク評価企画グループ会議

出席者：化学物質情報部 関澤 純、環境衛生化学部 安藤 正典

開催場所、時期：イスプラ(イタリア)、2001年4月22日～24日

参加者内訳：米国、ベルギー、イタリア、オランダ、日本、カナダ、英国、デンマーク、スウェーデン、スペイン、ハンガリー、アルゼンチンから27名、事務局2名：計29名

会議内容：IPCSは欧州連合、OECD、米国環境保護庁と協力して、内分泌かく乱化学物質などで問題とされた化学物質への曝露による健康リスクの評価と環境生物へのリスクを統合的に評価する必要性と実際の問題点の検討を進めてきた。今回は統合的リスク評価の原則と事例(ダイオキシン様化合物、トリブチルスズとトリフェニルスズ：関澤が報告案作成を担当、有機燐化合物、紫外線)について、健康影響と環境影響評価の専門家およびリスク評価と管理の専門家を広範に集め国際ワークショップを開いて具体的に検討を行った。この会議の成果を出版するとともに関連学会でセッションを持ち積極的に討議を進めることとした。

第423回(平成12年4月11日)

1. Titration Calorimetryによる脂質-アポリポタンパク質相互作用の解析

薬品試験部 齋藤博幸

2. 甲状腺発癌物質の下垂体摘出ラットにおける甲状腺増殖性病変への影響

病理部 田村啓
三森国敏

3. ペルオキシゾーム増殖活性を指標とした環境汚染化学物質の評価法

環境衛生化学部 西村哲治

第424回(平成12年6月13日)

1. p53ノックアウト(ヘテロ欠損)CBAマウスの肝発癌物質に対する発癌感受性

病理部 高木久宜
三森国敏

2. 2-mercaptomethylbenzimidazoleラットにおける28日間反復投与毒性試験

毒性部 斉藤実

3. 生薬部の紹介

生薬部 佐竹元吉

第425回(平成12年7月11日)

1. 遺伝子置換によるbasic-helix-Loop-helix転写因子Mesp1, Mesp2の機能解析

毒性部 高木篤也

2. 転写因子Mesp1は、マウス心臓前駆細胞自身に発現し、心臓形成に必要である

毒性部 北嶋聡

3. マウス胚体筋形成における転写因子Mesp2とNotcシグナリングの関係

毒性部 高橋雄

4. 生物薬品部の紹介

生物薬品部 早川堯夫

第426回(平成12年10月10日)

1. 内分泌かく乱物質の甲状腺発がんおよび影響

病理部 孫和永
西川秋佳

2. ホルムアルビヒトの吸入暴露によるマウスの化学物質に対するアレルギー反応性の増強

療品部 五十嵐良明

3. マウス繊維芽細胞における細胞周期特異的に発現する遺伝子と転写因子E2Fの関係-DNAchipを用いた遺伝子発現解析例

病理部 石田誠一

4. 有機化学部の紹介

有機化学部 宮田直樹

第427回(平成12年12月5日)

1. 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およびp53癌抑制遺伝子ヘテロ欠損マウスにおけるdimethylanilineの発癌感受性薬剤反応性の個人差に関連する遺伝子多型について

病理部 安原加嘉雄

2. タンパク質凍結乾燥製剤の分子運動性と保存安定性

薬品部 吉岡澄江

3. 食品部の紹介

食品部 豊田正武

第428回(平成13年2月13日)

1. DNAマクロアレイを用いた発現-解析による遺伝子障害性の検索に関する基礎的検討

変異遺伝部 鈴木孝昌

2. トランスジェニックマウスを用いたクロスリンク型DNA付加体を形成する化合物の突然変異スペクトルの解析

変異遺伝部 小原有弘

3. p53欠損gpt deltaトランスジェニックマウスを用いた重粒子線等により誘発される突然変異の解析

変異遺伝部 国谷健介

4. 化学物質情報部の紹介

化学物質情報部 神沼二真

第429回(平成13年3月13日)

1. 北海道薬用植物栽培試験場の紹介

北海道試験場 柴田敏郎

2. 筑波薬用植物栽培試験場栽培研究室について(研究内容の紹介: DNA塩基配列にもとづく薬用植物の鑑別)

筑波試験場 菱田敦之
細川敬三

3. 筑波薬用植物栽培試験場種生理研究室での植物バイオ

筑波試験場 下村講一郎
吉松嘉代

4. 伊豆試験場の紹介

伊豆試験場 飯田修

5. 和歌山薬用植物栽培試験場と地域社会との関わり

和歌山試験場 酒井英二

6. 種子島薬用植物栽培試験場の紹介

種子島試験場 香月茂樹

支 所 例 会

第170回 (平成12年6月27日)

1. 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
食品試験部 津村 ゆかり
2. 医療用ラテックス製品から溶出する発熱性物質の同定
生物試験部 村井 敏美
3. 大阪支所ネットワークの現状と将来への展望
生物試験部 天野 博夫

第171回 (平成12年9月26日)

1. 粘度検出器、光散乱検出器の併用による高分子医薬品分析
薬品試験部 四方田 千佳子
2. ケルセチン及びビルチンのラットにおける代謝並びにステロイド排泄等に及ぼす影響
食品試験部 中村 優美子
3. 食用青色1号アルミニウムレーキの不適事例について
食品試験部 辻 澄子

第172回 (平成12年10月24日)

1. エルカトニン注射剤の品質評価試験について
薬品試験部 前川 京子
2. イチゴに含まれるラジカルスカベンジャーとしての低分子ポリフェノール
食品試験部 天倉 吉章
3. 4-tert-octylphenolをラット妊娠初期に経口投与したときの影響
生物試験部 原 園 景
4. Monobutyl phthalateのラット胎児の性分化に及ぼす影響
生物試験部 江馬 眞

第173回 (平成12年12月26日)

1. 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
食品試験部 石光 進

2. マラチオンの小麦胚中酵素による分解

食品試験部 吉井 公彦

3. 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

生物試験部 中川 ゆかり
前田 秀子

第174回 (平成13年1月23日)

1. 日本抗生物質医薬品基準の日本薬局方への統合について
薬品試験部 谷本 剛
2. マレーシア国食品衛生プログラム強化プロジェクト短期調査報告
食品試験部 外海 泰秀
3. 構造生物学と細胞内シグナル伝達
生物試験部 田中 寿一

第175回 (平成13年2月27日)

1. 日局「電気滴定法」及び「容量分析用標準液」の改正
支所長 岡田 敏史
2. ペルー産薬用植物の紹介
薬品試験部 小出 達夫
3. 高分子量ヒアルロン酸とドキシサイクリンによる複合体形成とその薬物放出特性
薬品試験部 宮崎 玉樹

特別講演

平成12年11月13日

「DNA解析技術開発の最先端と21世紀への展望」

徳島大学薬学部教授 馬場 嘉信

平成 12 年度に行った主な研究課題

Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 2000

特別研究 (厚生労働省)

1. 生物システムに作用する化学物質の機能と三次元構造
 相関の解明 (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
2. 遺伝子発現を指標とする化学物質の安全性評価法に関する研究 (支生)
 Studies on the methods of safety evaluation of chemicals based on the gene expression

国立機関原子力試験研究費 (文部科学省)

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ラ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)
 Development of radiolabelled recombinant antibodies which can traverse blood brain barrier
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的设计 (薬品)
 Controlled Release of Drug Delivery Systems by low level γ -Irradiation
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)
 Development of allergency test for chemicals using new peptide labeling method
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 (文部科学省)
(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. オーガニソースとしての中胚葉と器官形成クロックの研究 (毒性)
 Study of mesoderm as an organ resource and organogenic molecular clock
 (臓器・組織再生システムのための基盤技術の開発)
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)
5. 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)
 摩擦粉の生体適合性評価に関する研究
 Studies on the method evaluating for the frictionresistant and biocompatible materials
6. 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
7. 研究資材データベースの共有化・効率化に関する研究
 生物系研究資材データベース構築に関する研究 (変異)
 Study on establishing biological database for sharing and efficient operations.:
8. アトピー性皮膚炎に関連する真菌の検索及び真菌による発症要因の研究 (衛微)
 Studies on fungal detection in the environments of atopic dermatitis (AD) patients and factors caused by AD
9. 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)
 Studies for protecting the human skin in general life
 (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)
10. 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)
 Establishment of solid-state synthesis method useful for the preparation of biologically active compounds
 (重点基礎研究)
11. 遺伝子改変動物を用いた化学物質による障害発生機序検出系の樹立 (毒性)
 Biotechnology derived recombinant mice-establishment of bioassay detection system for elucidating mechanisms of chemical hazard
12. 生物活性予測を目的としたリガンドおよび受容体の構造と機能解析に関する研究 (有機)

13. 天然医薬資源の国内導入とその利用に関する研究（生薬、北植、筑植、伊植、和植、種植）

Studies on the conservation of important medicinal plants (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)

14. 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・プットスクリーニング法の開発(毒性)

Studies on establishment of novel methods for high throughput screening focused on mechanism of endocrine disruptors

15. 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-disruptors in utensils, containers and packages for foods and their migration into foods, and development of environmental risk assessment approach via food consumption.

16. 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

国立機関公害防止等試験研究費(環境省)

1. ダイオキ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(環境, 毒性, 薬理)

Human health and ecological risk assessment of endocrine-disrupting chemical in the aquatic environment

2. 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)

The risk assessment and exposure assessment of multiple chemicals in outdoor air and indoor air

3. 環境中の内分泌系攪乱環境汚染物質が生体防御系に与える影響に関する研究(代謝)

Studies on the effects of endocrine disruptors on immune system

4. 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

5. 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

6. 水域環境における内分泌かく乱化学物質の次世代への影響評価法確立に関する分子遺伝子学的研究(環境)

Molecular-genetic research on effect evaluation method establishment to next generation of endocrine disrupting chemicals in the aquatic environment

7. 感染症に及ぼす内分泌かく乱物質の影響に関する研究(衛微)

Influences of endocrine disrupting agents on infectious diseases

地球環境研究総合推進制度(環境省)

1. 地下水利用に伴う広域的ヒ素汚染による生態影響及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)

Studies for plan to maintain the global environment protection on the widely arsenic-affected groundwater

未来環境創造型基礎研究推進制度(環境省)

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

2. 環境中の複合化学物質による次世代影響リスクの評価とリスク対応支援に関する研究(情報, 機能, 支生)

Assessment and control of risks to progeny from exposure to complex chemicals in the environment

厚生科学研究費補助金(厚生労働省)

1. 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

2. 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

3. 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

4. 新開発食品等の安全性確保に関する研究(支食)

Study on the valuation of safety about newly developed food-stuffs

5. 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

6. 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

7. トリガータイプの家庭用エアゾル製品に関する研究(薬品)

Study of trigger-type household aerosol products

8. 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 product

9. 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

10. in vitro 試験法を用いた化粧品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(薬理, 環境)

- Studies on safety evaluation of cosmetics by in vitro methods and its international harmonization
11. 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, 評価)
A study of health effect of dioxin exposure including possible induction of endometriosis
 12. 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
 13. 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
 14. 医薬安全総合研究の企画と評価に関する研究 (副所長) 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
 15. 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
 16. 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 its materials.
 17. 生活安全総合研究の企画及び評価に関する研究 (所長) 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)
 18. ダイオキシン類の食品経路総摂取量調査研究 (食品)
Studies on the intake of dioxins from foods.
 19. 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
 20. 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
 21. 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
 22. 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)
Studies on the establishment of standards and specifications for food additives
 23. 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 disruptors in plastics used in human life
 24. 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
 25. 医薬品等の副作用又は医療用具の不具合情報の収集及び活用に関する研究 (情報)
Studies on the dissemination of adverse events of pharmaceuticals and medical devices
 26. 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 (情報支生)
Uncertainty analysis on health risks from exposure to environmental chemicals including endocrine disruptors
 27. 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
 28. 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 apoptosis in animal tissues and cells as an index of toxicity.
 29. 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
 30. 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, 衛微)
The development of the sensitive assay of prion proteins in materials derived from animal tissues
 31. 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
 32. 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
 33. 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
 34. 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
 35. 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, 情報, 支薬)
Development of network within provincial Institute of Health Sciences for
 36. 医療用具の適正使用に関する研究 (療品)
Study for appropriate usage of medical devices
 37. 医療用具滅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
 38. 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 harmonization in medical devices area
 39. 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
 40. 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, 支薬)

- Studies on levels of phthalates and phenols in foods and estimation of daily intake
41. 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
42. 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
43. 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
44. 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, 情報, 評価, 支生)
Studies on test methods for evaluation of health effects by endocrine disruptors
45. 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)
Durg interaction of thyroid toxic substances (Toxicokinetic studies)
46. 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
47. 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
48. 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
49. 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
50. 食品中内分泌かく乱物質等の発がん修飾作用に関する実験的研究 (病理)
Experimental study on the carcinogenicity of endocrine disrupting chemicals in food
51. 細胞・組織加工医薬品・医療用具の品質等の確保に関する基礎研究 (生物)
Fundamental studies on quality and safety of cellular and tissue-based products
52. 次世代遺伝子治療薬の開発基盤研究 (生物)
Fundamental Studie on the development of new generation gene therapy products
53. 医薬品等の品質規格に係る国際的動向を踏まえた評価に関する研究 (生物)
Studies on the evaluation of quality and safety assurance of therapeutic products based on the international trends
54. 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 (環境, 評価)
Research on toxicity, behavior and reduction of the chemical substance in water supply
55. 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 (環境)
Investigation and reaseach on exposure from tap water of the endochrine disrupting chemicals
56. ダイオキシン類等の試験・分析の信頼性確保に関する調査研究 (食品)
Studies on the reliability of the analytical methods of dioxins to ersure the reliability
57. 原子力施設の事故等緊急時における食品中の放射能の測定と安全性評価に関する研究 (食品)
Studies on analytical method and evaluation of radioactive contaminated foods in emergency
58. 食物アレルギーの実態及び誘発物質の解明に関する研究 (食品)
Studies on allergen and monitering of food allergy
59. バイオテクノロジー応用食品の安全性確保及び高機能食品の開発に関する研究 (食品)
Studies on the safety of the foods developed by biotechnology and development of highly functional foods
60. 照射食品の安全性について (食品, 毒性)
Study on safety of irradiated foods
61. 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 (有機)
Development of quantitative analysis system for the evaluation of toxicity caused by reactive oxygen species generated from chemicals
62. プリオン病の診断技術の開発に関する研究 (衛微)
Studies on the establishment of methodology for prion disease
63. ビル空気質と微生物汚染に関する研究
Studies on the air quality in building and the microbial contamination
64. 内分泌攪乱物質のヒトへの影響を指向した試験系の開発
Development of experimental systems for evaluation of the effects of endocrine disruptors on human
65. In vitro染色体異常試験の代替としてのIn vitro小核試験の評価 (変異)
Studies on evaluation of in vitro micronucleus assay as an alternative method to the chromosomal aberration test
66. ダイオキシン類の健康影響に関する総合的評価研究 (機能, センター長, 毒性, 薬理, 病理, 変異, 評価, 支生)
Comprehensive assessment study on health effects by dioxins
67. 医薬品製剤原料の品質確保に関する研究
Studies on the quality assurance of active pharmaceutical ingredients and drug excipients (支薬)
68. ダイオキシン類の健康影響に関する総合的評価研究 (支生)
Couprenhensive assessment study on health effects by dioxius
- 科学研究費補助金 (文部科学省)
(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
(特定 B)
3. 分子時計が刻む脊椎動物の分節パターン
Segmental patterning controlled by a molecular clock
(特定 C)
 4. ターゲティング能を有したアデノウイルスベクターシステムの開発 (生物)
Development of targeted adenovirus vector
(基盤 A)
 5. 脊椎動物の体節形成の分子機構に関する発生遺伝子学的解析 (毒性)
Genetical analysis of molecular mechanisms on vertebrate somitogenesis
(基盤 B)
 6. 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
 7. 新規遺伝子治療薬創製のための発現調節機能を備えた安全な外来遺伝子発現系の開発 (生物)
Development of regulatable gene expression system with safety for gene therapy
 8. 発がんプロモーター作用の研究: 特に細胞間意義と相互関連
Prompter activity on carcinogenesis: relationship between GJIC and apoptosis
(基盤 C)
 9. 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
 10. 単離心筋細胞を用いたエンゼリンA受容体脱感作機序の解明 (生薬)
Electrophysiological and pharmacological study on the mechanism for desensitization of ET_A 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. 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
 13. 環境化学物質によるマスト細胞からのケモカイン遊離機構の解析 (機能)
Study on the mechanism of chemokine release from mast cells by environmental chemicals
 14. アリールハイ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
Signal cross-talk between AhR and hemopoietic stem cell
(萌芽)
 15. 二次元電気泳動及びLC/MS/MSによる糖タンパク質糖鎖の構造と機能解析法の開発 (生物)
Application of two-dimensional gel electrophoresis and LC/MS/MS for the structural and unctional analysis of the carbohydrates in glycoproteins.
(奨励 A)
 16. C G H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.
 17. 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)
Oncogenesis gene search specific for promotion stage in carcinogenesis
 18. 安全で高効率長期遺伝子発現を可能とするアデノ-E B ハイブリッドベクターの開発 (生物)
Development of adeno-EB hybrid vector
 19. 一酸化炭素・ヒドロキシラジカル同時発生化合物の開発 (有機)
Synthesis of NO generating compounds with hydroxyl radical releasing ability
 20. 酵素反応がトリガーとなり活性化されるエンジイン類の分子設計と合成 (有機)
Molecular design and sythesis of a new class of triggered endiyne
 21. 新規ヒドロキシルラジカルドナーの開発 (有機)
Studies on a new type of hydroxyl radical donor
 22. G P I アンカー型糖蛋白質の品質管理における小胞体シャペロンの役割 (機能)
Role of chaperone proteins on quality control of GPI-anchored glycoproteins
 23. 住宅の断熱材の位置とカビ発生に関する研究
Studies on the location of housing insulator and the mold occurreuce
 24. アンタゴニスト利用によるエンドトキシンの機能的受容体分子の解明
Elucidation of the functional endotoxin receptor molecules by using antagoist structure of the lipidA
 25. 植物エストロゲンがヒトの健康増進に資する作用の機構に関する基礎的研究
Basic studies on mechanisms of action that is beneficial for human health by phytoestrogens
 26. サイレントシナプスの画像化法を用いた神経可塑性に関する研究
Visualization of silent synapses and its application for the study of neuronal plasticity
 27. モデルペプチドを用いたアポリポタンパク質脂質膜結合機構に関する研究 (支策)
Studies on the binding mechaism of apolipoproteins and lipid-menbrauc
- がん研究助成金 (厚生労働省)**
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(病理, 変異)
Studies on the relationship between mutagenicity and carcinogenicity in vivo
 4. 遺伝子改変動物の発がん特性研究
Characteristic of transgenic animal on carcinogenesis
 5. がんの化学予防効果の検索モデルの検討(病理)
Development of a hamster medium-term model for pancreatic cancer chemoprevention
- 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 food 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)(トウガラシ色素, アカネ色素, 塩化マグネシウムN-アセチルグルコサミン)(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 additives
 8. 食品添加物安全性再評価費・90日間投与試験(ラット)(モリン, デュナリエラカロテン, ミアナット色素)(病理, 毒性)
Ninety-days toxicity studies of natural food additives
 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. 容器包装等試験検査費(食添)
Studies on food containers and packages
 12. 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
 13. 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(レバミゾール)(病理)
Mechanistic study on toxicity/carcinogenicity of some drug residues contained in food products of animal origin (levamisole)
 14. 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)
 15. 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.
 16. 水質試験検査(水質管理調査・未規制物質基準化検討・水道水質分析に係る外部精度管理調査)(環境, 病理)
Standardization of analytical methods for drinking water
- 家庭用品等試験検査費(厚生労働省)**
1. 既存化学物質の安全性試験(生殖毒性試験)(支生)
Reproductive and developmental toxicity study of butyltin trichloride in rats
 2. 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: IPBC, GPIP, OBPA, BECDIP
 3. 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
 4. 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
 5. 第二種特定化学物質曝露量調査・人体暴露調査(トリフェニルスズ化合物, トリブチルスズ化合物)(食品)
Exposure survey of second class special chemical substances (triphenyltin, tributyltin compounds)
 6. 化学物質の毒性情報等提供システムの調査・検討
Studies on the dissemination system of chemical information
 7. 構造活性相関に関する調査
Studies on the structure activity relationships (SAR)
 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
13. 化学物質の毒性情報等提供システムの調査・検討 (情報)
Studies on the dissemination system of chemical information
- 厚生労働本省庁費 (厚生労働省医薬局)**
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
- 厚生労働本省医薬品等審査業務庁費 (厚生労働省医薬局)**
1. 化粧品成分の分析法に関する研究 (環境)
Study on the standards of cosmetics ingredients
2. 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
3. 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) (支薬)
Quality control of generic drugs (Reliability of quality assurance on provincial health sciences institute)
4. 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)
- 厚生労働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, 伊植, 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 (厚生労働省委託事業)**
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
- 内分泌かく乱化学物質の人体影響に関する調査研究費
1. “OECD Test Guideline 407 enhanced”案に基づくラットを用いた反復投与試験 (ジェニスタイン) (病理)
Validation study of proposed protocol for an “Enhanced OECD Test Guideline 407” using genistein
- 環境省庁環境保全調査費**
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. 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)
Analysis of function of ATP receptors in CNS and its application to medication
2. 生殖細胞系列の完全連続培養系の開発
3. 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
4. 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
5. 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.
6. 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
7. 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
8. 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
9. 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
10. 薬用植物の開発研究 (生薬)
Studies on development of medicinal plants
11. 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
12. 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. グリア・ニューロン・ネットワークにおけるATPの生理機能 (薬理)
Physiological function of ATP on glia-neuron-interaction
2. 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
3. 医薬品製剤におけるガラス状態のダイナミックスの解析に基づく安定性の温度依存性の解明 (薬品)
Temperature dependence of drug stability in glass pharmaceuticals determined by molecular mobility
4. Mutagenesis proteinの構造と機能に関する研究
Research on structure and function of mutagenesis proteins
- 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. 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
- 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. 高機能保持ヒト由来肝培養細胞株を用いた薬物の有効性, 安全性評価法の確立 (変異)
Establishment of evaluation methods for efficacy and safety of pharmaceuticals using highly functional cell lines derived from human livers
3. 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
4. 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
5. 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
6. 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
7. 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
8. 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
9. 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
10. 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
11. エンドトキシン作用の種特異性の機構解明と医薬品の有効性・安全性評価への応用に関する研究 (衛微)
Analysis of the mechanism of species-specific actions of endotoxins and its application to efficacy and safety evaluations of pharmaceuticals
12. ATP受容体を介した痛み情報伝達機序の解明と医療への応用
Elucidation of mechanisms underlying the P₂ receptor mediated nociceptive transmission and its practical application
13. 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
プロジェクト
14. 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 invitro cell culture assay system for detecting pyrogenic contamination in pharmaceutical
- 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. 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. 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

- tion of the methods (in design of nuclear receptor ligands)
- 3. 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
- 4. 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
- 5. 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
- 6. 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
- 7. 薬剤反応性遺伝子解析による疾病対策・創薬推進事業 (機能, 薬理, 環境, 代謝)
Pharmacogenetical studies on drug-responses and their medical application
- 8. 医薬品の安全性・有効性を評価する為のヒト型試験系の開発に資する基礎的研究—ヒト型主要組織適合抗原系構築マウスに関する研究 (毒性)
Construction of model mice which have humanized immune system

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 bioequivalence of oral drug products by in vivo tests

部名略称

薬品部	薬品
生物薬品部	生物
生薬部	生薬
療品部	療品
環境衛生化学部	環境
食品部	食品
食品添加物部	食添
有機化学部	有機
機能生化学部	機能
代謝生化学部	代謝
衛生微生物部	衛微
化学物質情報部	情報
毒性部	毒性
薬理部	薬理
病理部	病理
変異遺伝部	変異
総合評価研究室	評価
大阪支所薬品試験部	支薬
大阪支所食品試験部	支食
大阪支所生物試験部	支生
北海道薬用植物栽培試験場	北植
筑波薬用植物栽培試験場	筑植
伊豆薬用植物栽培試験場	伊植
和歌山薬用植物栽培試験場	和植
種子島薬用植物栽培試験場	種植

国家検定および検査等の処理状況

Survey of the Results of National Tests

平成12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 1 2 度 処 理 件 数			対前年度	
	東 京	大 阪	合 計	増 減 数	増 減 率
	件	件	件	件	%
国 家 検 定	(0) 0	(0) 0	(0) 0	-	-
国 家 検 査	(0) 0	(160) 3	(160) 3	△ 157	1.88
製 品 検 査	(0) 0	(260) 176	(260) 176	△ 84	67.69
特 別 審 査 試 験	(74) 85	(0) 0	(74) 85	11	114.90
特 別 行 政 試 験	(278) 276	(0) 0	(278) 276	△ 2	99.28
一 斉 取 締 試 験	(8) 91	(97) 88	(105) 179	74	170.48
輸 入 食 品 検 査	(0) 0	(0) 0	(0) 0	0	-
合 計	(360) 452	(517) 267	(877) 719	△ 158	

() 内数字は平成11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12年度国家検査品目別月別判定別件数
実績表 ……………302頁 | ○平成12年度特別審査試験月別件数実績表 ……………304頁 |
| ○平成12年度製品検査月別判定別件数実績表 ……………304頁 | ○平成12年度特別行政試験実績表 ……………304頁 |
| | ○平成12年度一斉取締試験判定別件数実績表 ……………305頁 |

平成12年度国家検査品目別

区 分		4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
		合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計
無晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0
ヒトインソフエンインスリン水性懸濁注射液	大阪	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0
ヒトインスリン注射液	大阪	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0
半合成ヒト二相性インソフエンインスリン水性懸濁注射液	大阪	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0
半合成ヒトインソフエンインスリン水性懸濁注射液	大阪	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0
生合成ヒト中性インスリン注射液	大阪	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	3	-	3	0	-	0
生合成ヒトインスリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0
ヒト結晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	0	-	0	0	-	0	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	0	-	0	0	-	0	0	-	0
生合成ヒト二相性インソフエンインスリン水性懸濁注射液	大阪	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0
生合成ヒトインソフエンインスリン水性懸濁注射液	大阪	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0
ヒト二相性インソフエンインスリン水性懸濁注射液	大阪	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0
計		0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	3	-	3	0	-	0

注) 平成12年9月11日付け医薬発第912号各都道府県知事あて厚生省医薬安全局長通知「インスリン製剤及びインターフェロン製剤に係る検査命令の取扱いについて」より国立医薬品食品衛生研究所の国家検査品目は全品目廃止となった。

月別判定別件数実績表

10月			11月			12月			1月			2月			3月			合計		
合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	3
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	3

平成12年度製品検査

区 分	4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計
大 阪	22	-	22	14	-	14	19	-	19	15	-	15	12	-	12	14	1	15
計	22	-	22	14	-	14	19	-	19	15	-	15	12	-	12	14	1	15

平成12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	8	4	-	7	-	14	12	8	1	1	8	1	64
生 物 薬 品 部	1	4	-	-	-	-	2	-	5	-	-	-	12
衛 生 微 生 物 部	-	-	-	-	-	1	6	-	1	-	1	-	9
	9	8	-	7	-	15	20	8	7	1	9	1	85

平成12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 局 監 視 指 導 ・ 麻 薬 対 策 課	国産生あへんのモルヒネ含有率試験について	175	薬品部 筑波試験場
		16	
		159	
	輸入生あへんのモルヒネ含有率試験について	101	薬品部
合 計		276	東 京 276件 大 阪 0件

月別判定別件数実績表

10月			11月			12月			1月			2月			3月			合計		
合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計
17	-	17	6	-	6	15	-	15	12	-	12	18	-	18	11	-	11	175	1	176
17	-	17	6	-	6	15	-	15	12	-	12	18	-	18	11	-	11	175	1	176

平成12年度一斉取締役試験判定別件数実績表

区分		合格	不合格	無判定	計
東大	京	91	0	0	91
	阪	87	0	1	88
合計		178	0	1	179

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。

別表

日本薬局方標準品

(平成13年4月1日現在)

番号	標準品名	包装単位	価格	使用目的
1	アルプロスタジル	10mg入り 1本	63,800 ^円	・アルプロスタジル, アルプロスタジル・アルファデクスとそれらの製剤の定量法
2	インスリン	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, 含量均一性試験および定量法

日本薬局方標準品

番号	標準品名	包装単位	価格	使用目的
			円	
21	ジゴキシシ	50mg入り 1本	18,900	・ジゴキシシの確認試験および定量法。同錠の溶出試験、含量均一性試験および定量法。同注射液の定量法 注射液の純度試験および定量法
22	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
23	ショ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
24	スウェルチアマリン	20mg入り 1本	34,100	・センブリ、センブリ末の定量法
25	セクレチン	100単位入り	38,400	・セクレチンの定量法
26	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
27	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
28	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
29	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
30	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
31	トロンピン	500単位入り 2本	43,900	・トロンピンの定量法
32	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
33	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
34	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
35	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
36	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
37	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
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

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	
42	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
43	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
44	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
45	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
46	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
47	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
48	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
49	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
50	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13年4月1日現在）

号	標準品名	包装単位	価格	使用目的
1	インドシアニングリーン	300mg入り 1本	18,100 ^円	・インドシアニング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 5カ ⁷ セカ	18,500	・酢酸レチノールおよびその製剤の定量法
9	シ克蘭デラート	300mg入り 1本	18,200	・シ克蘭デラートの定量法
10	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
11	センノシド	150mg入り 1本	25,600	・センノシドの定量
12	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
13	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
14	テオプロミン	100mg入り 1本	13,900	・ベントキシフィリンの純度試験
15	パルミチン酸レチノール	10,000単位入り 5カ ⁷ セカ	17,500	・パルミチン酸レチノールおよびその製剤の定量法
16	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
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	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
20	融点測定用 アトア ^ニ リト [、] アトア ^ニ ネジ ^ン 、カフェ ^ン 、 スル ^フ ア ^ニ ル ^ア ミト [、] スル ^フ ア ^ニ リ ^ジ ン、リ ^ニ ソ	各1g入り 6本	60,700	・融点測定用温度計、同装置の補正
21	酪酸ヒドロコルチゾン	100mg入り 1本	19,700	・酪酸ヒドロコルチゾンおよびその製剤の定量法
22	リゾチーム	500mg入り 1本	33,000	・リゾチーム製品の定量法
23	リン酸デキサメタゾンナトリウム	100mg入り 1本	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
24	リン酸ヒスタミン	50mg入り 1本	16,000	・ヒスタミン試験
25	リン酸プレドニゾロンナトリウム	100mg入り 1本	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13年4月1日現在)

番号	標準品名	包装単位	価格	使用目的
			円	
1	アシッドバイオレット6B	1g入り 1本	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	アゾルピンエキストラ	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ピ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	3,550	・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 フルオレセイン	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セインの確認試験
20	テトラブロムフルオレセイン	1g入り 1本	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セインの確認試験

国立医薬品食品衛生研究所標準品（色素試験用標準品）

号	標準品名	包装単位	価格	使用目的
21	トルイジンレッド	1g入り 1本	3,350 ^円	・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	リソールルピン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ピン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12年度国立医薬品食品衛生研究所標準品出納状況 (医薬品試験用標準品)

標準品名	前年度末 在庫数量	製造数量	売払数量	自家消費等 数量	年度末 在庫数量	備考
アルプロスタジル	0	70	34	0	36	
インスリン	9	41	8	1	41	
インドシアニングリーン	10	0	2	0	8	
ウリナスタチン	39	0	21	0	18	
ウロキナーゼ	16	0	7	0	9	
エストラジオール	29	150	126	0	53	
エストロン	18	50	34	0	34	
エルカトニン	50	100	54	0	96	
エルゴカルシフェロール	23	135	140	1	18	
塩化ベルベリン	10	172	163	0	19	
塩酸チアミン液	19	0	15	0	4	
エンドトキシン10000	17	2,430	1,825	64	558	
エンドトキシン100	152	1,037	1,018	4	167	
下垂体性性腺刺激ホルモン	17	97	78	0	36	
カリジノゲナーゼ	60	47	60	0	47	
含糖ペプシン	36	0	33	0	3	
甘草酸ジフルコルトロン	28	0	4	0	24	
ギトキシシ	41	0	14	0	27	
グリチルリチン酸	84	678	620	0	142	
血清性性腺刺激ホルモン	34	0	22	0	12	
高分子量ウロキナーゼ	3	100	103	0	0	
コハク酸トコフェロール	30	150	108	0	72	
コレカルシフェロール	27	235	159	0	103	
酢酸デキサメタゾン	21	0	4	2	15	
酢酸トコフェロール	149	800	921	1	28	
酢酸レチノール	15	25	14	0	26	
ジギタリス	15	0	0	0	15	
ジギトキシシ	18	75	46	0	47	
シクランデラート	16	0	1	0	15	
ジゴキシシ	5	150	104	0	51	
シュウ酸カルシウム一水和物	0	80	25	0	55	
ショ糖オクタ硫酸エステルカリウム	47	0	15	0	32	
G-ストロファンチン	24	0	0	0	24	
スウェルチアマリン	0	50	0	0	50	
セクレチン	38	0	10	0	28	
センノシド	8	50	4	0	54	
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	94	100	93	0	101	
低分子量ヘパリン	11	50	21	0	40	
テオプロミン	20	0	0	0	20	
デスラノシド	6	20	15	0	11	
トコフェロール	165	200	294	0	71	
トリアムシノロン	12	25	6	0	31	
トリアムシノロンアセトニド	9	44	14	0	39	
トロンピン	28	100	84	0	44	
ニコチン酸トコフェロール	0	50	16	0	34	
脳下垂体後葉	1	42	14	0	29	
バイカリン	22	50	53	0	19	
薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	32	0	7	0	25	
薄層クロマトグラフ用パルミチン酸レチノール	48	0	30	0	18	
パルミチン酸レチノール	22	50	52	0	20	
ヒアルロニダーゼ	16	50	14	0	52	
ヒトインスリン	99	0	47	0	52	
ヒト成長ホルモン	148	0	66	0	82	
フルオシノニド	30	0	3	0	27	
フルオシノロンアセトニド	19	50	30	0	39	

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	
フルオロメトロン	45	50	60	2	33	
フルドロキシコルチド	42	0	9	0	33	
プロピオン酸テストステロン	39	0	6	0	33	
プロピオン酸ベクロメタゾン	29	30	39	0	20	
ペオニフロリン	11	150	151	0	10	
ヘパリンナトリウム	38	200	138	0	100	
マレイン酸メチルエルゴメト リン	11	0	3	0	8	
メシル酸ジヒドロエルゴトキ シン	37	0	3	0	34	
メチルジゴキシン	3	0	3	0	0	
融点測定用	0	130	90	0	40	
[アセトアニリト [※] , アセトフ エネチシン [※] , カフェイン, スルファニルアミト [※] , スル ファピリシン [※] , ワニリン						
酪酸ヒドロコルチゾン	0	0	0	0	0	
ラナトシドC	24	0	12	0	12	
リゾチーム	162	150	223	0	89	
硫酸プロタミン	19	30	10	0	39	
リン酸デキサメタゾンナトリ ウム	0	70	24	0	46	
リン酸ヒスタミン	14	0	14	0	0	
リン酸ヒドロコルチゾンナト リウム	7	50	17	0	40	
リン酸プレドニゾロンナトリ ウム	34	0	2	0	32	
リン酸ベタメタゾンナトリウ ム	12	50	20	0	42	
計	2,466	8,463	7,475	75	3,379	

(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	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	63	0	0	0	63	
アシッドレッド	448	0	8	1	430	
アゾルビンエキストラ	67	0	1	0	66	
アマランス	389	0	8	2	379	
アルラレッドAC	286	0	5	1	280	
インジゴ	121	0	0	0	121	
インジゴカルミン	489	0	8	1	480	
エオシン	105	0	0	0	105	
エリスロシン	429	0	8	1	420	
オイルエローAB	208	0	0	0	208	
オイルエローOB	216	0	1	0	215	
オイルオレンジSS	218	0	0	0	218	
オイルレッドXO	192	0	0	0	192	
オレンジI	264	0	1	0	263	
オレンジII	143	0	0	0	143	
ギネアグリーンB	54	0	0	0	54	
サンセットエローFCF	434	0	7	1	426	
タートラジン	407	0	9	1	397	
テトラクロルテトラブROMフ ルオレセイン	141	0	0	0	141	
テトラブROMフルオレセイン	102	0	0	0	102	
トルイジンレッド	68	0	0	0	68	
ナフトールエローS	128	0	2	0	126	
ニューコクシン	437	0	6	1	430	
パーマネントオレンジ	19	0	1	0	18	
ハンサエロー	66	0	1	0	65	
ファストグリーンFCF	419	0	6	3	410	
ファストレッドS	188	0	0	0	188	
ブリリアントブルーFCF	374	0	9	3	362	
フルオレセイン	178	0	0	0	178	
フロキシソ	270	0	7	4	259	
ボンソーR	238	0	0	0	238	
ボンソーSX	138	0	0	0	138	
ボンソー3R	148	0	0	0	148	
リソールルピンBCA	348	0	0	0	348	
レーキレッドC	375	0	0	0	375	
レーキレッドCBA	112	0	0	0	112	
レーキレッドDBA	153	0	0	0	153	
ローズベンガル	404	0	7	3	394	
計	8,839	0	95	22	8,722	

国立医薬品食品衛生研究所報告第119号人名索引(アルファベット順)

A

Abe, Yukiko (阿部有希子) 188, 241, 242, 255
 Adachi, Reiko (安達玲子) 193, 194, 259, 278
 Aihara, Maki (相原真紀) 196, 197
 Aisaki, Ken-ichi (相崎健一) 256
 Akira Harazono (原園 景) 224, 225, 276, 290
 Akiyama, Hiroshi (穉山 浩) 184, 185, 186, 252, 253, 255, 259
 Akiyama, Takumi (秋山卓美) 187, 242, 255
 Amakura, Yoshiaki (天倉吉章) 70, 222, 223, 244, 275
 Amano, Hiroo (天野博夫) 291
 Ando Masanori (安藤正典) 180, 181, 182, 238, 241
 Aoyagi, Nobuo (青柳伸男) 170, 227, 241, 245
 Arimura, Takuro (有村卓朗) 243,
 Aso, Yukio (阿曾幸男) 170, 245, 246
 Azumi, Satoko (安住聡子) 194

B

Betsui, Fumie (別井史枝) 277

C

Chandra Sekaran 181, 254
 Chung Youn-son (鄭 然孫) 180, 182, 254

E

Ema, Makoto (江馬 眞) 244, 278, 291
 Emiko Miyawaki (宮脇英美子) 224, 276

F

Fuchino, hiroyuki (渕野裕之) 248, 249, 275
 Fukuoka, Masamichi (福岡正道) 202
 Furukawa, Fumio (古川文夫) 272, 273

G

Goda, Yukihiko (合田幸広) 184, 185, 186, 192, 193, 252, 253, 255, 259

H

Hachisuka, Akiko (蜂須賀暁子) 192
 Haishima, Yuji (鮎島由二) 177, 228, 246, 250
 Hajimu, Ishiwata (石綿 肇) 188, 230, 231, 241, 242, 255, 256, 281, 238, 239
 Hamada Mika (濱田美香) 241, 254
 Hamano, Mikiko (浜野美紀子) 259
 Hanajiri, Ruri (花尻瑠理) 170, 246

Hanioka Nobumitsu (埴岡伸光) 181, 182, 254, 255
 Hasegawa, Chie (長谷川千恵) 250
 Hasegawa, Ryuichi (長谷川隆一) 217, 218, 236, 243, 274, 282, 286, 287
 Hasegawa, Shikiko (長谷川式子) 260, 261
 Hatakeyama, Yoshio (畠山好雄) 225, 248, 276, 277, 278
 Hayakawa, Takao (早川堯夫) 1, 57, 65, 118, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 193, 227, 228, 238, 246, 247, 248, 259, 278, 279, 280, 290
 Hayashi, Makoto (林 眞) 40, 148, 204, 214, 217, 234, 235, 271, 272, 273, 286
 Hayashi, Yuzuru (林 譲) 177, 179, 251, 252
 Hirabayashi, Yoko (平林容子) 200, 263, 264
 Hiro Amano (天野博夫) 291
 Hiroko, Shimomura (下村裕子) 249, 250
 Hirose, Akihiko (広瀬明彦) 217, 218, 236, 243, 244, 274, 281, 288
 Hirose, Masao (広瀬雅雄) 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 240, 243, 268, 269, 270, 271, 272
 Hisao Kansui (寒水壽朗) 256
 Hishida, Atsuyuki (菱田敦之) 276, 277, 290
 Hong, Chih-chun (洪志 駿) 259
 Honma, Masamitsu (本間正充) 214, 235, 271, 272, 286
 Horiguchi, Mieko (堀口美恵子) 215, 235, 273
 Hoshino, Makiko (星野真紀子) 273
 Hosokawa, Keizo (細川敬三) 276, 277, 278, 290
 Hosono, Tetsuji (細野哲司) 174, 247
 Hyuga, Masashi (日向昌司) 57, 65, 172, 173, 246, 247
 Hyuga, Sumiko (日向須美子) 57, 65, 172, 173, 246

I

Ichikawa, Akira (市川 明) 250
 Ichikawa, Tomoko (市川朋子) 250
 Igarashi, Katsuhide (五十嵐勝秀) 264
 Iida, Osamu (飯田 修) 226, 248, 277, 278, 290
 Iijima, Hiroyo (飯嶋広代) 188
 Ikarashi, Atsuko (五十嵐敦子) 252
 Ikarashi, Yoshiaki (五十嵐良明) 178, 179, 180, 241, 250, 251, 290
 Ikebuchi, Hideharu (池淵秀治) 258
 Ikuo Nakanishi (中西郁夫) 189, 190, 231, 256, 257
 Imazawa, Takayoshi (今沢孝喜) 205, 206, 207, 209, 210, 212, 243, 268, 269, 270, 271
 Inoue, Kazuhide (井上 和秀) 201, 202, 233, 234, 239, 266, 267

- Inoue, Tohru (井上 達) 199, 200, 232, 239, 243, 262, 263, 264, 265, 283, 284
- Isama, Kazuo (伊佐間和郎) 61, 178, 251
- Ishibashi, Mumio (石橋無味雄) 170, 246
- Ishida, Seiichi (石田誠一) 203, 267, 290
- Ishii-Watabe, Akiko (石井(渡部)明子) 174, 176, 247
- Ishimitsu, Susumu (石光 進) 220, 221, 222, 244, 275, 276, 291
- Ishiwata, Hajimu (石綿 肇) 188, 230, 231, 238, 239, 241, 242, 255, 256, 281
- Itahashi, Yuka (板橋由佳) 250
- Itho, T (伊藤俊明) 214
- Ito, Satsuki (伊藤さつき) 57, 65, 246
- Iwata, Miho (岩田美保) 85, 89, 92, 96, 100, 104, 107, 110, 219, 220
- Izutsu, Kenichi (伊豆津健一) 170, 238, 245
- J**
- Jerome, Wagner (ジェローム・ワグナー) 216
- Jinno Hideto (神野透人) 181, 182, 254, 255
- K**
- Kaihara, Akiko (開原亜樹子) 220, 221, 222, 244, 275, 276
- Kamata, Eiichi (鎌田栄一) 180, 218, 243, 274
- Kaminuma, tuguchika (神沼二眞) 197, 198, 260, 261, 262, 290
- Kaneko, Tayozo (金子豊蔵) 199, 200, 239, 243, 264, 265
- Kaneyasu-Toyoda, Toshie (豊田(金安)淑江) 228, 246
- Kaniwa, Masa-aki (鹿庭正昭) 178, 179, 229, 241, 250, 251
- Kaniwa, Nahoko (鹿庭なほ子) 170, 238, 241, 245
- Kanno, Jun (菅野 純) 200, 201, 232, 239, 263, 264, 265, 284
- Katori, Noriko (香取典子) 170, 241, 245
- Katsuki, Shigeki (香月茂樹) 165, 166, 278, 290
- Kawahara, Nobuo (川原信夫) 176, 220, 248, 249
- Kawai, Hiroshi (河合 洋) 173, 246, 247
- Kawamura, Yoko (河村葉子) 188, 189, 231, 239, 242, 256, 281
- Kawanishi Toru (川西 徹) 1, 171, 227, 238, 280, 246, 247
- Kawasaki, Nana (川崎ナナ) 57, 65, 172, 173, 238, 246
- Kawasaki, Yasushi (川崎 靖) 199, 200, 243, 263, 264
- Kawasaki, Yoko (川崎洋子) 188, 241, 242, 256
- Kikuchi, Yutaka (菊池 裕) 260
- Kim, Su-Ryang (金 秀良) 216, 273, 274
- Kinoshita, Masumi (木下真澄) 193
- Kishi, Kaori (岸香 織) 256
- Kitabayashi, Aya (北林あや) 263
- Kitajima, Satoshi (北島 聡) 199, 200, 239, 263, 290
- Kiyoshi, Fukuhara (福原 潔) 184, 189, 190, 192, 256, 257, 258
- Kmakura, Hiroyuki (鎌倉浩之) 220, 249
- Ko Reika (高 玲華) 254, 255
- Kobayashi, Tetsu (小林 哲) 174
- Kodama, Yukio (児玉幸夫) 200, 264
- Kohara, Arihiro (小原有弘) 214, 272, 273, 290
- Kohjyouma, Mareshige (高上馬希重) 226, 248, 277, 278
- Koide, Tatsuo (小出達夫) 85, 89, 92, 96, 100, 104, 107, 110, 219, 220, 249, 275, 291
- Koizumi, Mutsuko (小泉睦子) 217, 236
- Koizumi, Naoya (小泉直也) 174, 247
- Koizumi, Schuichi (小泉修一) 202, 233, 234, 266, 267
- Kojima, Shigeo (小嶋茂雄) 116, 170, 227, 241, 245, 246, 279
- Komiyama, Naomi (小宮山直美) 261
- Kondo, Kazunari (近藤一成) 184, 252, 256
- Konuma, Hirotaka (小沼博隆) 195, 196, 232, 239, 259, 260
- Koyano, Kazurou (小谷野和郎) 260, 261, 262
- Kubota, Hiroki (久保田浩樹) 241
- Kumagai, Takeo (熊谷健夫) 276
- Kuniya, Kensuke (国谷健介) 273, 290
- Kurebayashi, Hideo (紅林秀雄) 47, 218, 202, 267, 268
- Kurematsu, Miharu (樽松美治) 274
- Kurihara, Kogo (栗原孝吾) 226, 248, 278
- Kurihara, Masaaki (栗原正明) 184, 189, 190, 191, 256, 257, 258
- Kurokwa, Yuji (黒川雄二) 199, 263, 264
- Kusui, Kaoru (楠井 薫) 193, 194, 259, 278
- L**
- Lee, I-Jung (李宜融) 226, 249
- Liu, Hong-Min (劉宏民) 187
- M**
- Maehara, Tamae (前原玉枝) 188, 189
- Maekawa, Kyoko (前川京子) 291
- Maeda, Hideko (前田秀子) 291
- Maitani, Tamio (米谷民雄) 186, 187, 230, 241, 242, 249, 255, 256
- Makoto Ema (江馬 眞) 217, 218, 224, 225, 276, 283, 284
- Masayuki, Tanno (丹野雅幸) 239, 257
- Mastumura Toshiro (松村年郎) 230, 238, 241, 254
- Masui, Tohru (増井 徹) 40, 216, 217, 236, 240, 274
- Masumura, Ken-ichi (増村健一) 215, 235, 273, 274
- Matsuda, Rieko (松田りえ子) 182, 183, 238, 241, 252, 281
- Matsui, Keiko (松井恵子) 215, 273, 274
- Matsui, Sachiko (松井幸子) 193, 259
- Matsuoka, Atsuko (松岡厚子) 272
- Matsushima, Yuko (松島裕子) 199, 239, 243, 265

Matsutani, Sachiko (松谷佐知子) 260
 Mitsumori, Kunitoshi (三森国敏) 290
 Minegishi, Daisuke (峯岸大輔) 216, 274
 Miyahara, Makoto (宮原 誠) 185, 186, 230, 238, 253, 255
 Miyahara, Michiko (宮原美知子) 195, 259, 260
 Miyajima (Tabata), (宮島(田畑)敦子) 202, 203, 204
 Atsuko
 Miyazaki, Tamaki (宮崎玉樹) 237, 275, 291
 Mizuguchi, Hiroyuki (水口裕之) 174, 175, 238, 228, 246, 247, 248
 Mizusawa, Hiroshi (水澤 博) 40, 216, 217, 236, 240, 274
 Momose, Maki (百瀬真希) 214
 Morihara, Motohiko (森原元彦) 170, 245
 Muhammad Shahidur Rahman
 Murai, Toshimi (村井敏美) 291
 Murayama, Mitsunori (村山三徳) 230, 241, 252
 Murayama, Norie (村山典恵) 202
 Muroi, Masashi (室井正志) 194
 Mutsuga, Motoh (六鹿元雄) 253

N

Nagaishi, Keiko (永石恵子) 193
 Nagano, Michiyo (長野美千代) 254,
 Nagaoka, Hamano, (長岡(浜野)恵) 186, 255
 Megumi
 Nakagawa, Keiko (中川恵子) 270, 271
 Nakagawa, Yukari (中川ゆかり) 291
 Nakahara, Yuji (中原雄二) 171, 241, 246
 Nakajima, Osamu (中島 治) 192
 Nakamura, Akitada (中村晃忠) 177, 178, 179, 250, 251
 Nakamura, Ryosuke (中村亮介) 258
 Nakamura, Takatoshi (中村高敏) 289
 Nakamura, Yumiko (中村優美子) 70, 74, 220, 221, 222, 244, 275, 276, 291
 Nakane Takahisa (中根孝久) 220, 248, 249, 278
 Nakano, Tatsuya (中野達也) 197, 198, 260, 261, 262
 Nakaoka, Ryusuke (中岡竜介) 251
 Nakata, Kotoko (中田琴子) 197, 260, 261, 262
 Nakazawa, KenIchi (中澤憲一) 202, 267
 Naoki, Miyata (宮田直樹) 184, 189, 190, 191, 192, 231, 239, 256, 257, 258
 Nemoto, Satoru (根本 了) 183, 238, 252
 Niimi, Shingo (新見伸吾) 174
 Nishikawa, Akiyoshi (西川秋佳) 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 214, 218, 240, 243, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 289, 290
 Nishimaki-Mogami, (最上(西巻)知子) 231
 Tomoko
 Nishimura Tetsuji (西村哲治) 181, 182, 254, 255, 290
 Nohmi, Takehiko (能美健彦) 215, 216, 235, 273, 274

O

Obama, Tomoko (小濱とも子) 267
 Ogawa, Yukio (小川幸男) 199, 243
 Ohnishi, Takahiro (大西貴弘) 259
 Ohno, Yasuo (大野泰雄) 143, 201, 202, 203, 204, 232, 284, 285, 265, 266, 267, 268, 283, 285
 Ohta, Miyako (太田美矢子) 57, 65, 172, 173, 246
 Ohta, Toshiko (太田利子) 196
 Ohtake, Chiyoko (大竹千代子) 260
 Okada, Satoshi (岡田敏史) 291
 Okada, Makiko (岡田真紀子) 261
 Okado, Kiyoshi (岡戸 清) 274
 Okazaki, Kazushi (岡崎和志) 270
 Okunuki, Haruyo (奥貫晴代) 192, 193, 252, 258, 259
 Ono, Atsushi (小野 敦) 232, 264
 Onodera, Hiroshi (小野博志) 193, 205, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 243, 268, 269, 270, 271
 Onose, Jun-ichi (小野瀬淳一) 193, 258
 Osada, Kazuhiro (長田和浩) 250
 Oshizawa, Tadashi (押沢 正) 228, 246
 Ozaki, Yukihiko (尾崎幸紘) 249
 Ozawa, Shogo (小澤正吾) 202, 203, 231, 234, 267

P

Park, Jeongung (朴 正雄) 250
 Petr, Gruz (ピーター・グルズ) 216, 274

R

Ramadan, Ali (ラマダソン・アリ) 273

S

Saeki, Mayumi (佐伯真弓) 254
 Saga, Yumiko (相賀裕美子) 199, 200, 232, 263, 264
 Saisho, Kazuhiro (最所和宏) 171, 241, 246
 Saito, Yoshiro (斎藤嘉朗) 254, 258
 Saito, Yuichi (齊藤祐一) 255
 Saito, Hiroyuki (齊藤博幸) 85, 89, 92, 96, 100, 104, 107, 110, 218, 219, 220, 237, 275, 290
 Saitoh, Minoru (斉藤 実) 199, 243, 290
 Sakai, Ayako (酒井綾子) 196,
 Sakai, Eiji (酒井英二) 278, 290
 Sakamoto, Hiroko (坂本浩子) 214, 272
 Sakamoto, Tomoaki (坂本知昭) 170, 246
 Sakemi, Kazue (酒見和枝) 47
 Sasaki, Haruyo (佐々木晴代) 193
 Sasaki, Kumiko (佐々木久美子) 182, 183, 238, 241, 252
 Satake, Motoyoshi (佐竹元吉) 176, 220, 226, 228, 238, 248, 249, 250, 275, 277,

- 278, 290
- Sato, Kaoru (佐藤 薫) 202, 267
- Sato, Kyoko (佐藤恭子) 187, 241, 242
- Sato, Michio (佐藤道夫) 251
- Sato, Yoji (佐藤陽治) 194, 259
- Sawada, Jun-ichi (澤田純一) 192, 193, 231, 252, 254, 258, 259
- Sayama, Kayo (左山佳代) 189
- Sekita Hiroshi (関田 寛) 241
- Sekita, Kiyoshi (関田清司) 199, 243
- Sekita, Setsuko (関田節子) 176, 220, 226, 228, 238, 248, 249, 250, 275, 277, 278
- Sekizawa, Jun (関澤 純) 198, 199, 239, 242, 243, 244, 262, 278, 281, 282, 289
- Shibata, toshiro (柴田敏郎) 160, 225, 237, 276, 277, 278, 290
- Shibayama, Rie (柴山理恵) 246, 247
- Shibutani, Makoto (渋谷 淳) 205, 209, 210, 212, 239, 243, 268, 269, 270, 271
- Shigemoto-Mogami, (重本(最上)由香里) 202, 267
- Yukari
- Shigeta, Teruko (重田輝子) 259
- Shimizu, Hiroshi (清水 広) 260
- Shimizu, Masatomi (清水雅富) 274
- Shimomura, Koichiro(下村講一郎) 52, 225, 226, 240, 277, 290
- Shintani, Hideharu (新谷英晴) 179, 229, 230, 238, 251, 252
- Shirota, Osamu (代田 修) 249
- Shoko Sueyoshi (末吉祥子) 257
- Sofuni, Toshio (祖父尼俊雄) 214, 216, 217
- Sugimoto, Naoki (杉本直樹) 176, 187, 242, 249, 255
- Sugita, Takiko (杉田たき子) 188, 242, 255, 256
- Sumide, Taizo (角出泰造) 177, 250
- Sunouchi, Momoko (簾内桃子) 202, 238, 267
- Suzuki, Kazuhiro (鈴木和博) 193, 194, 259, 278
- Suzuki, Sachiko (鈴木幸子) 243, 263
- Suzuki, Takayoshi (鈴木孝昌) 204, 215, 235, 272, 273, 286, 290
- T**
- Tadokoro, Satoshi (田所 聡) 272
- Tagashira, Yoko (田頭洋子) 244, 275
- Takada, Yoko (高田容子) 216, 217, 274
- Takagi, Atsuya (高木篤也) 199, 200, 239, 263, 264, 290
- Takagi, Hisanobu (高木久宜) 290
- Takagi, Hironori (高木広憲) 243
- Takagi, Kayoko (高木加代子) 258,
- Takahashi, Marii (高橋真理衣) 248, 249
- Takahashi, Noriyuki (高橋則行) 268, 269, 270, 271
- Takahashi, Yu (高橋雄) 199, 232, 263, 290
- Takai-Igarashi, (高井(五十嵐)貴子) 197, 260, 261
- Takako
- Takatori, Kohsuke (高鳥浩介) 196, 197, 232, 239
- Takatsuki, Satoshi (高附 巧) 183, 241, 252
- Takeda, Yuiko (武田由比子) 188, 241, 242
- Takekida, Kaoru (武木田薫) 260
- Taki, Meiko (瀧 明子) 260, 261
- Takizawa, Tamotsu (瀧沢 保) 211, 269, 270, 271
- Tamura, Kei (田村 啓) 291
- Tanabe, Hideyuki (田辺秀之) 40, 214, 216, 217, 274
- Tanaka-Kagawa (田中(香川)聡) 181, 182, 254, 255
- Toshiko
- Tanamoto, Ken-ichi (棚元憲一) 136, 137, 194, 259
- Tanimoto, tsuyoshi (谷本 剛) 85, 89, 92, 96, 100, 104, 107, 110, 218, 219, 220, 237, 275, 291
- Teshima, Reiko (手島玲子) 27, 186, 192, 193, 196, 231, 252, 258, 259
- Tohno, Kaoru (東野 薫) 277
- Tokunaga Hiroshi (徳永裕司) 180, 181, 254
- Tonogai, Yasuhide (外海泰秀) 70, 74, 183, 220, 221, 222, 223, 244, 275, 276, 291
- Toshikazu Tanaka (田中寿一) 291
- Toshimi Murai (村井敏美) 110, 177, 223, 250, 276
- Toyoda, Masatake (豊田正武) 129, 182, 183, 184, 185, 186, 230, 241, 252, 253, 255, 256, 259, 290
- Toyoshima, Satoshi (豊島 聡) 1
- Tsuchiya, Toshie (土屋利江) 61, 123, 176, 177, 179, 250, 251
- Tsuda, Makoto (津田 誠) 202, 233, 234, 266, 267
- Tsuji, Sumiko (辻 澄子) 70, 74, 222, 223, 244, 275, 276, 291
- Tsumura, Yukari (津村ゆかり) 220, 221, 222, 244, 275, 276, 291
- Tsutsumi, Tomoaki (堤 智昭) 183, 252
- U**
- Uchida, Eriko (内田恵理子) 171, 174, 176, 228, 238, 246, 247
- Uchida, Osayuki (内田雄幸) 199, 243, 263
- Uchino Tadashi (内野 正) 180, 181, 254
- Ueda, Makoto (上田 誠) 270
- Umemura, Takashi (梅村隆志) 199, 243, 263, 264
- Umino, Yukiko (海野有紀子) 70, 74, 223, 244, 275, 276
- Uneyama, Chikako (畝山智香子) 205, 206, 209, 210, 234, 243, 268, 269, 270, 271
- Usami, Makoto (宇佐見 誠) 47, 204, 268
- W**
- Wakui, Chiseko (和久井千世子) 189, 256
- Wang, Xue (王 雪) 214, 272, 273
- Watanabe, Hidemi (渡辺秀実) 259

Y

- Yagami, Takeshi (矢上 健) 177, 178, 228, 229, 250
Yamada, Kazuya (山田和也) 226, 248, 278
Yamada, Masami (山田雅巳) 215, 236, 273, 274
Yamada, Mitsuo (山田光男) 187
Yamada, Takashi (山田 隆) 187, 188, 189
Yamaguchi, Teruhide (山口照英) 1, 171, 172, 193, 227, 228,
246, 259 278, 280
Yamamoto, Michiko (山本美智子) 260, 261
Yamamoto, Miyako (山本 都) 197, 242, 261, 282, 283,
Yamazaki, Takeshi (山崎 壮) 241, 242, 255, 260
Yoko Yamakoshi (山越葉子) 190, 231, 256, 257
Yomota, Chikako (四方田千佳子) 237, 244, 275, 291
Yoshii, Kimihiko (吉井公彦) 220, 221, 222, 244, 275,
276, 291
Yoshimatsu, Kayo (吉松嘉代) 52, 226, 240, 277, 290
Yoshioka, Sumie (吉岡澄江) 170, 238, 245, 246, 279,
290
Yukari Nakagawa (中川ゆかり) 110, 177, 223, 250, 276
Yukawa, Masumi (湯川真澄) 261,
Yun Young Sook (尹永淑) 176, 249

国立医薬品食品衛生研究所報告第119号キーワード索引 (アルファベット順)

A

ab initio MO method 198
 Abies sachalinensis 176
 Aboriginal people 237
 acesulfame potassium 188, 231
 acetyl transfer 170
 achlorhydric elderly 170
 acibenzolar -S- methyl 183
 acid-base pair 177
 Actiin 213
 active oxygen species photosensitization 231
 additives 189
 adduct 206
 Adenocarcinoma 200
 Adenophora triphylla 212
 adenosine 233
 adenovirus vector 174, 175
 Adenovirus vector 228
 adopted monographs 237
 adrenal cortex 212
 aflatoxin 179, 185
 agricultural product 183
 Agrobacterium rhizogenes 52
 Al 186, 187
 alborosin 176
 alkylphenols 236
 allele-specific PCR 215
 allergen 178
 allergenicity 231
 allergic contact dermatitis 178, 229
 Alprostadil 104
 alternative technology 228
 alternative tests 233
 aluminum 183
 aluminum lake 70, 74
 Alzheimer's disease 172
 anogenital distance 224
 anthocyanin 184
 anti-allergic activity 186
 antibiotic products 237
 antimicrobial 178
 antimicrobial agent 178, 229
 antimicrobial product 229
 antioxidant 179
 Antioxidation Mechanism 190
 AOAC 230
 apolipoprotein A-I 219
 apolipoprotein E 219
 apolipoproteins 237
 apoptosis 207, 212
 apple 186

arctiin 209
 arsenic 180
 arsenic species in urine samples 181
 artificial dialyzer 179
 aryl-hydrocarbon receptor 232
 Aspergillus niger 197
 Aspergillus parasiticus 179
 Aspiration cytology 201
 astrocytes 233
 atomic charge 198
 ATP 201, 202, 233
 ATP receptors 234
 Atropa belladonna 226
 authorization 78, 82, 86, 89, 93, 97, 101, 104, 107
 average molecular weight 187
 azo color 222

B

Baicalin 220
 base excision repair 216
 beclomethasone dipropionate 86
 beef liver 185
 Benzene 200
 berberine hydrochloride 97
 berry 223
 betamethasone sodium phosphate 78
 beta-naphthoflavone 209
 bezafibrate 232
 Big Blue[®] 215
 bilayers 237
 bioavailability 227
 bioburden 229
 biodegradation 197
 bioequivalence 227
 biological activity 231
 biological indicator 179, 229
 biologicals 228
 biomolecules 198
 bio-polymer 237
 biotechnology-derived pharmaceuticals 57
 biotechnology-derived products 1
 bisphenol A 177, 179, 181, 183, 189, 231, 236
 blood products 179
 Bloom syndrome 217
 Bloom's syndrome 203
 BMMC 193
 bond dissociation enthalpy 184
 BOP 211, 212
 bromine 182
 building material 180

C

C3H/HeJ mice 194
Ca²⁺-ATPase inhibitors 193
calcium ion 179, 196
calcium signal 192, 193
calsequestrin 194
can for drink 189
Cannabis sativa L 226
capillary zone electrophoresis 187
Capsaicin sensitivity 202
capsaicinoid 188
carbohydrate-deficient Tfs 187
carbohydrates 173
carcinogenicis 180
Carcinogenicity 205, 206, 208
carcinogenicity test 209
cardiac glycoside 184
cardiac hypertrophy 194
carrageenan 187
catechin 184, 190
CD detector 218
Cd-induced nephrotoxicity 213
Cell cycle 200, 203
cell cycle machinery 223
cell cycle 203
cell differentiation 176
cell growth arrest 223
cell transformation 196
cell uptake 219
Cellular therapy 171
CFU 196
CFU-GM 200
chemical analysis 197
chemical risk 198
chemicals holding hormone-like action 232
Chemoprevention 209
chemotaxis 194, 202
China 235
Chiral 218
chloroplast DNA 226
cholangiocarcinogenesis 207
cholecalciferol 107
cholesterol 219
cholesteryl ester 219
chromosome 172
chronic nephropathy 213
Cigarette 176
Cigatin A 176
Cigatin B 176
cinnamaldehyde 211
Cladosporium 197
clone animal 172
clone animals 1
CNS 233

cobalt tiocyanate 188
co-culture 192
cofilin 193, 194
colony formation test 177
color value 184
coloring agent 229
comet assay 185, 186
conformational analysis 191
contamination of ground water 180
contractivity 201
control of drinking water quality 180
cooking 230
Co-PCBs 230
Copper 192
Corchorus olitorius 184
cosmetics 180
CP4-EPSPS 193
craniopharyngeal derivatives 209
crocus sativus lectin 173
crops 221
cross-reactivity 178, 229
crude drugs 228
cryopreservation 236
culture medium 179, 229
cyclodextrin gluca-notransferase 187
cytochrome P450 202
Cytochrome P450; 4-tert-Octylphenol 181
Cytochrome P450; EROD; MROD 181

D

D value 179
daily intake 182, 183, 230, 231
daminozide 182
dansyl chloride 171
decidual cell response 225
decidua-lization 224
degradation 174, 221
degradation products 229
degranulation 192
DEHA 220
DEHP 220
deletion 214, 215
dendritic cells 175
deprotection 178
derivatization 221
dessert jelly 187
determination 221
development 192
developmental toxicity 47
dexamethasone sodium phosphate 89
DHPN 209
di (2-ethyl-hexyl) phthalate 189, 188, 217
diabetic neuropathy; competitive RT-PCR 219
diagnosis 209
dibucaine hydrochloride 181

dibutyltin 225
 Dibutyltin dichloride 224
 diclazuril 230
 differentiation 228
 digestibility 178, 231
 dihydropyrimidine dehydrogenase 234
 diisononyl phthalate 188
dinB 216
 di-n-butyl phthalate 217
 dioxin 183, 230
 dhenyltin 224
 disinfectant by-product 218
 dissolution 227
 DNA damage 185, 192, 216
 DNA double strand break (DSB) 214
 DNA polymerase IV 216
 DNA polymerase β 236
 DNA recombination 204
 DNA repair 204
 DNA sequencing 217
 DNA-cleavage 231
 dopamine receptor 173
 dopamine transporter 174
 double-stranded peptide 191
 drinking water treatment 180
 DT40 217
 DTBHQ 205
 dwelling environments 197, 232

E

E2F 203
 early embryonic loss 224
 early pregnancy 225
 effectiveness 180
 efficacy 180
 ellagic acid 223
 emamectin 221
 Embryonic loss 224
 embryotoxicity 204
 Emericella nidulans 197
 emulsions 219, 237
 endocrine disrupter 179
 Endocrine disrupters 210
 endocrine disrupting chemicals 231, 232
 endocrine disruptor 177, 198
 endocrine disruptors 232
 endogenous amine 173
 endogenous DNA lesion 206
 endotoxin 110, 177
 endotoxin test 237
 Enhanced OECD Test Guideline 407 210
 environmental chemicals 27
 enzymatically hydrolyzed licorice 187
 enzymatically modified licorice 187
 enzymatically modified naringin 187

enzyme 221
 epidermis 214, 215
 epoxy resin 189
 ergocalciferol 101
 erythropoietin 173
 erythropoietin 65
Escherichia coli O157:H7 195
Escherichia coli O157:H7; O-antigenicity; verotoxin 195
Escherichia coli O26 195
 ESI-LC/MS 173
 esprocarb 182
 ESR method 186
 estrogenic activity 217, 236
 Estrogenic compounds 211
 ethical environment 236
 ethinylestradiol 212
 ethylene oxide gas sterilization 229
 experimental animal 234

F

F344 rat 206
 Familial adenomatous polyposis 201
 FasL 212
 Fe 186
 Fecal steroid excretion 223
 fish 183
 FISH (fluorescence in situ hybridization) 216
 Fish meal 207
 Flavobacterium meningosepticum 194
 flavonoid 187
 fluoroacetate 207
 Flutamide 210
 Follistatin 57, 173
 food 223
 food additive 231
 food additives 230
 food additives 231
 food allergy 27, 193
 food color 70
 food contact plastic 189
 food contact plastics 231
 Food Yellow No.5 222
 food-derived carcinogen 203
 formaldehyde 218
 Formulation 170
 Fragment MO method 198
 Franz type diffusion cell 181
 free form 201
 Freeze-drying 170
 fresh food 183
 fruit juices 223
 fruits 223
 FS-288 173
 FS-315 173
 fukuronori (*gloiopeltis furcata*) extract 199

full sized experiment 180
Fullerene 190
FUMI theory 179
function 233
fungal allergens 232
fungal CFU and distribution 196
fungal contamination 197
fungi 197, 232
funoran 199
fusion, 176

G

gamma irradiation 189
gamma irradiation; electron beam irradiation; bacteria 195
gardenia blue colour 206
gas chromatography/atomic emission
detection method (GC/AED) 189
gastric acidity 170
gastric tumor 212
gattural pouch mycosis 197
GC/MS 183, 220
gel 218
Gene expression analysis 205
gene therapy 174, 175, 228
gen'eral tests 228
genetic polymorphism 202, 234
genetically modified foods 230
genetically modified maize 185
genetically-modified (GM) foods 231
genetically-modofied food 27
genistein 211
Genome 197
genotoxicity test 234, 235
genotype 203
Gentianella alborosea 176
glucocorticoid receptor 174
glutathione reductase 221
glycopeptide mapping 173
Glycyrrhiza 187
Glycyrrhiza uralensis 225
glycyrrhizin 187
glycyrrhizinic acid 93
GM soybeans 193
GPC/ICP-AES 187
gpt 235
gpt delta 215
gpt delta transgenic mouse 235
Green tea polyphenol ; Tannic acid 223
ground beef 195
guidance 228
guideline 180, 217, 227, 234, 236
guttural pouch mycosis 197

H

H2S 196
HACCP 196
hair analysis 171
hamster 206, 208, 210, 212
health care products 230
heart morphogenesis 200
helicase 204
Helicobacter pylori 170
hemodialyzer 177
hemodynamics 194
hepatocarcinogenesis 206, 209
Hercampuri 176
heteroallelic recombination 204
heterologous expression 216
Hippocampus 202
Histotechnology 234
HN protein 176
hormaldehyde 180
horse bedding 197
horse environment 197
hospital food 220
household product 178
HPLC 74, 171, 178, 179, 181, 183, 185, 221, 222, 223
HPLC/HR-ICP-MS 186
HPLC-ICP-MS 181
HR-ICP-MS 187
human 202, 234
human CYP2A6 215
human CYP2E1 215
human material 217, 236
human monochromosome hybrid cell panel 216
hyaluronan 237
hyaluronate 218
hyaluronic acid 218
hydrocarbon method 186
hydrocortisone sodium phosphate 82
Hydrogen peroxide 192
hydroxyethyl acylate 218
hydroxyl radical 231
Hydroxylation 189
Hyosecyamine 218
hypersensitivity 27

I

ICH 235
identification 186
IgE 27, 192
IL-1 223
Ileal J-pouch 200
Immune System 193
immunohistochemistry 192
imported foods 232

inactivation 228
 incinerator 228
 India 180
 indicator method 218
 indium trichloride 204
 indoor air 180
 industrial usage 236
 Informatics 197
 Infrastructure 197
 integration 198
 intergenic spacer 226
 internalization 178
 International Programme on Chemical Safety 198
 internet 234
 intraspecific variation 226
 iodine deficiency 207
 Ipompea batatas 184
 irradiated chicken 186
 irradiated food detection 185
 irradiated meats 186
 Isoflavonoids 222
 isoquinoline alkaloid 52
 IWGTP 234, 235

J

jam 223
 Japanese Pharmacopeia X†W 228
 Japanese Pharmacopoeia 236, 237
 JCRB (Japanese Collection of Research Bioresources) 216
 JIS Z 2911 232
 JP Reference Standard 101, 104, 107
 JSFA†Z 230

K

Kanzo Yashiki 225
 knock out 203

L

lacI 215
lacI mutation 204
 latex 177
 latex allergy 229
 Laxatives 200
 LC/MS 65, 221
 LC/MS/MS 65
 LeDI-2 226
 letter 234
 light scattering 237
 lipid A 194
 lipoprotein lipase 219
 lipoproteins 237
 Lithospermum erythrorhizon 225, 226
 littorine 226

locomotor activity 173
 loss on drying 236
 low-angle laser light scattering photometer 237
 low-dose effects 232
 LPS 177, 194
 lung tumor 208, 210, 211
 lyophilized formulation 170

M

MacroModel 191
 malathion 221
 male fertility test 201
 malformation 204
 malto-oligosaccharide 187
 mass spectrometry 179
 Mast cell-deficient mice 193
 mast cells 193
 Mechanical allodynia 202
 medical devices 229
 medical polymer 229
 medical waste 228
 medium-term bioassay 213
 meiotic function 204
 MeIQx 213
 MesP1 200
 MesP2 200
 metabolic cooperation assay 177
 metabolism 174
 metallothionein 230
 Methacarn 205
 methionine 208
 methodology 231
 method-performance study 182
 MHC 214
 micro meteorology 196
 microbial limit test 228
 Microbiological contamination 232
 microglia 201, 202
 Micronucleus 204
 micronucleus assay 235
 migrant 231
 migration test 189
 mitochondria 215
 MNU 205, 212
 MOEngine 198
 moist heat sterilization 230
 mold resistant test 232
 Molecular genetics 199
 molecular genetics 232
 molecular mechanics calculation 190, 191, 192
 molecular mobility 170
 molecular weight 218, 237
 Monobutyl phthalate 224
 motor endplate 205
 Mouse lymphoma assay (MLA) 235

multifunctional column 185
multiresidue analysis 183
mutagenesis 236
mutation 214, 235
mutation assay 216
mutation spectra 214
mutation spectrum 215
MutaTMMouse 214
Mycoplasma 217
mycotoxins 232

N

NADPH oxidase 172
N-alkylnitrosamines 215
nasal carcinogenesis 209
natural food colorant 184
NBD-F 185
nerve-immune interaction 192
nested PCR 217
neuropathic pain 233
neurotransmitter release 233
neutrophils 172, 228
NF- κ B 195
NGF 209
nicarbazin 230
NIHS Reference Standard 93, 97, 220
Nishimoto-Mataga equation 198
nitric oxide 194
nitroarene 189, 190
nitrofurazone 210
Nitropyrene 192
Nitrosopyrene 192
NK cells 214
N-methylphenyl-N'-methylphenyl-p-phenylenediamine 47
NMR 219
N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine 207
NO 194
NOAELs of phthalate esters 217
nonylphenol 183, 188, 217
Nonylphenol; cell transformation; tumor promotion 196
Notch signaling 199, 200, 232
notified analytical method 182
nuclear magnetic resonance 187
nuclear receptor 232

O

o-aminoazotoluene 214
OBCAM 192
Ostreotide acetate 210
octylphenol 217
official inspection 70, 231
Oleic acid 197
oligopeptide 190, 191, 192
oltipraz on N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine 206

o-phenylphenol 202
Optical recording 202
optimal growth period 196
oral allergy syndrome 229
organ specificity 215
organotin compounds 182, 189, 198
origin 228
osteoblast 179
o-tyrosine method 185
ovarian tumor 210
ovariectomy 211
oxidation potential 184
oxidative DNA damage 216
oxytetracycline 218

P

P2X 233
P2X receptors 202, 234
p53 175, 214
p53 knockout CBA mouse 212
p53-deficient mouse 205, 212
p70 S6 kinase 228
PAF 193
pain 233, 234
pancreatic carcinogenesis 208, 210, 211
Papaver somniferum 52
paper 234
paper chromatography 74
Paraffin-embedded tissue 205
parkinsonism 174
particle size distribution 61
PC12 209
PCNA-LI 213
PCR 185
PCR-SSCP 226
peliosis 212
peptide synthesis 178
pesticide 221
pesticide residue 183
phagocyte activation 194
Pharmaceutical 227
pharmacogenetics 231, 234
pharmacokinetics 201
pharmacopoeia 228
Phase separation 170
phenobarbital 171
Phenol sulfotransferase 203, 234
phenol sulfotransferase assay 202
phenolic acids 223
phenolics 223
phenolphthalein 208
phenthoate 221
phenylhydroquinone 202
phenytoin 171
PhIP 209, 213, 215

phospholipase C 193
 phospholamban 194
 photosensitization 190
 phthalate 220
 phthalate esters 179
 phytochelatin 230
 pigment localization 225
 Pinaceae 176
 plant 230
 plasma concentration 207
 plastic eyeglass 229
 poly(DL-lactide) 179
 poly(L-lactide) 61, 179
 poly(vinyl chloride) 178
 polyhexamethylenebiguanide 177
 polyol pathway 219
 polypeptides 198
 polysaccharide 237
 polysorbate 188
 polyvinyl chloride 188, 189
 polyvinyl chloride glove 189
 polyvinyl chloride toy 188
 potassium iodide 210
 potentiometric titration 188
 potentiometric titration method 218
 Powdered fish meal 205
 powdered soup 188
 PPAR 232
p-phenylenediamine 179
 precision 179
 pre-column derivatization 185
 precursor-ion scan 65
 pregnancy failure 224
 preservation 201
 preventive measurement 232
 procaine hydrochloride 181
 processivity 216
 procyanidin 186
 production 70
 Propolis 213
 ProstaglandinE 200
 proteasome 174
 protein binding 201
 protein delivery 178
 protein interaction 177
 protein kinase C 172
 protein stability 170
 protocatechuic acid 211
 protocol 235
 pseudo-pregnancy 225
 public research resource bank 217, 236
 purity test 188
 pyrogenicity 177

Q

Qeq 198
 quality control 1, 65
 quality evaluation 101, 104, 107, 172
 Quality evaluation 220
 quality evaluation 57, 78, 82, 86, 89, 93, 97
 quantitative test 196
 Quercetin 222
 quinoline 214
 quinone 190

R

RAD52 204
 radiation sterilization 229
 radish sprout 195
 ras mutation 210
 rasH2 mouse 208, 209, 210, 211
 rat 205, 206, 207, 208, 209, 225
 rat basophilic leukemia cells 192
 rat hepatocarcinogenesis 213
 Rb 203
 RBL-2H3 cells 193
 rearranged lanostane 176
 receptor 233
 receptor mediacy 232
 receptor mediated toxicity 232
 Receptor-mediated toxicity 232
 recombinant DNA 185
 recombination repair 214
 RecQ-type DNA helicase 217
 Reference spectrum 171
 reference standard 78, 82, 86, 89, 110
 reflux extraction 183
 regenerates 226
 regulatory acceptance 233
 renal cancer 205
 renal carcinogenesis 207
 repeated dose toxicity study 201
 reproductive and developmental toxicity 225
 reproductive/developmental toxicity 217
 research usage 236
 revision 232
 revision principle 237
 risk assessment 180, 198, 218
 routine control 229
 rubber additive 229
 rubber antioxidant 47
 rubber product 229
 Rutin 222

S

safety assessment 229, 230

safety control 1
 salivary gland 210
Salmonella 196
Salmonella enteritidis; shell Egg ; Detection 195
 seed 195
 semiempirical molecular orbital calculation 190
 Sendai virus, 176
 sensory neurons 234
 SGS1 203, 204
 shaking extraction 183
 shikonin derivatives 226
 Shishitoh 188
 shoot culture 226
 shoot cultures 225
 sick house syndrom 180
 signal transduction 195
 signaling pathway 194
 single nucleotide polymorphism 231
 sister chromatid exchange 203
 skin permeation 181
 smooth muscle 201
 sodium nitrite 205, 207
 solid phase extraction 179
 solid-phase extraction 223
 somatic embryo 52
 Somitogenesis 199, 200
 somitogenesis 232
 soybean 207
 soybean paste 179
 Soybeans 222
 Species and age differences of testicular toxicity 217
 specification 188, 231
 sphingomyelin 219
 Spi- selection 235
 spices 185
 Stability 227
 standards and specifications 230
 sterility assurance 179, 229, 230
 sterilization protocol 229
 sterilization validation 229
 subsidiary color 74, 222
 sucralose 188
 sunset yellow FCF 74
 super critical fluid extraction (SFE) 221
 superoxide 172, 189, 190
 surface plasmon resonance immunoassay 57
 sweetener 187, 188
 Swertiamarin 220
 sympathomimetic amines 171
 Synthetic ACTH 212

T

t-4-Hydroxy-2-nonenal 206
 tableware 231
 tailor-made drug therapy 231

tar color 70
 targeting 174
 TDI of DEHP 217
 telomere 172
 teratogenicity 47
 testicular toxicity 207
 tetracycline 230
 tetraploid 188
 Thai-edible plants 213
 thawing process 236
 The Japanese Pharmacopeia 237
 The Japanese Pharmacopoeia 171
 thermal analysis 236
 thiopurine S-methyltransferase 234
 thyroid 207
 thyroid carcinogenesis 211
 Thyroid carcinogenesis 211
 Thyroid papillary carcinoma 201
 thyroid tumor 208, 210
 tissue/cell 236
 tissue-engineered products 176
 TNF- α 193, 194, 201
 Tocopherol nicotinate 220
 Toll-like receptor 4 195
 total diet 230
 total diet sample 183, 220
 total diet study 182
 toy 231
 Trans-4-hydroxy-2-nonenal 204
 Transcriptional down-regulation of EGFR 209
 transferrin 186
 transformation 52
 Transgenic animal 171
 transgenic animal 172
 transgenic animals 1
 transgenic mice 194
 transgenic mouse 235
 Translesion DNA synthesis 236
 translocation 178
 TRF1 172
 tributyltin 182
 Tributyltin 225
 tributyltin chloride 225
 triphenyltin 182
 Triphenyltin 224
 tris (nonylphenyl) phosphite 188
 TSE agent 228
 tumor-promotion 176
 two-stage carcinogenesis 213
 tyrosine *O*-sulfate 177, 178

U

U73122 193
 UDP-Glucuronosyltransferase; 4-MU; 4-NP 182
 Ulcerative colitis 200

Ultraviolet and visible absorption 171
 uncertainty and its components 198
 uncertainty factor 198
 undescended testes 224
 untargeted mutagenesis 216
 urethane 208
 use 230
 useful plants 237
 uterine tumor 205, 212
 UV 215
 UVB 214, 215, 235

V

validation 201, 209, 233
 validation study 229
 variation 179
 Vegetable 232
 vertical point of dwelling 196
 vesicular stomatitis virus 175
 viable and non-viable cells 232
 Vibrio bioserogroup 1875 177
 Vibrio fluvialis 177
 viscometer 237
 vitamin A 208
 vitamin D receptor 191
 vitamin D₃ 191
 VLDL 232
 voc 180
 volatiles 189
 volumetric analysis 218

W

water 197
 water sources 180
 wear debris 61
 wheat 221
 Wiley 230
 Wistar rat 47
 wrapping film 183

X

Xenotransplantation 171

Y

YG7108 216

Z

Zebrafish 200

α , α -disubstituted amino acid 190, 191, 192
 β -amiloid peptide 191
 β -naphthoflavone 206
 β -turn mimetics 191
 γ -ray irradiation 61
 データの組織化と解析手法の体系的研究 199
 リスク・コミュニケーションの専門能力 199
 リスクコミュニケーションの発展段階 199
 リスクの予測と未然防止 199
 遺伝子診断 201
 化学物質への不安 199
 科学への興味と信頼性 199
 科学的推測と価値判断 199
 回腸癌 201
 若年性ポリポーシス 201
 双方向の意見交換 199
 相分離、凍結濃縮、製剤 170
 統合的リスク評価 199
 評価プロセス・判断基準と決定根拠の明示 199
 不確実性の解析 199
 立場の違いの尊重と自主的な判断 199
 (Man)3GlcNAc 173
 1'-acetoxychavicol acetate 207
 2,5-di-tert-butyl-1,4-hydroquinone 196
 2,6-dimethylaniline 207
 2-amino-3,8-dimethylimidazo [4,5-f] quinoxaline 213
 4HAQO 212
 4-hydroquinone 196
 4-phenylbutyl isothiocyanate 212
 4-tert-octylphenol 225
 5-Fluorouracil 205
 6-thioguanine selection 235
 8-hydroxyguanine 216
 90-day toxicity study 199

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、誌上发表、単行本、行政報告、学会発表、レギュラトリーサイエンス関連会議報告などを収載する。
 - 特 論：国立医薬品食品衛生研究所も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、新見地を含むか、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。
 - 誌上发表：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（日本語；26字×24行、英語；55字×ダブルスペース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、刷り上がり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枚が刷り上がり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。
 - 誌上发表：一題目について要約部分が26字×20行以内。
4. 原稿の提出：原稿はワードプロセッサで作成する。特論、総説、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）などとしなない。
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」，「\」，「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84mm)か二段(幅175mm)かを考慮し，刷り上がり一段の場合には原図幅120mm，二段の場合には原図幅250mmに収まるようにする。図には通し番号を付ける (Fig.1., Fig.2.,...)。図番号，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84mm)か二段(幅175mm)かを考慮する。表には通し番号を付ける (Table 1., Table 2.,...)。表番号，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「.」をつけない。また，説明は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120mm，二段の場合には原表幅250mm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。表の中に構造型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. 誌上发表などの記載要領：誌上发表，単行本，行政報告，学会発表については，別に定める記載要領及び例示に従う。

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13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。
* 印は特定のものを指すときは漢字でよいもの。

分類	用語	使う字	使わない字	備考	分類	用語	使う字	使わない字	備考
ア	あかるい	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	落し
	あたためる	→加温する				おとし	各々	おのおの	おのおの
	あたる	当たる	当る			おのおの	おのずから	自ら	
	あたらしい	新しい	新 <small>□</small> しい			おのずから	帯びる	おもな	
	あてる	当てる	当る			おびる	主な	およそ	凡そ
	あつかう	扱う	扱 <small>□</small> かう			おもな	およそ	及び	
	あつめる	集める	集る			およそ	おび	終わる	終る
	あらかじめ	あらかじめ	予め			おわる	返す	返 <small>□</small> す	
あらたに	新たに	新 <small>□</small> たに		かえす	かえって	却て			
あらためる	改める			かえって	かかわらず	拘らず			
あらわす	表(現)す	表(現)わす	表→表面に出し示す, 著わす	かかわず	かける	欠ける	欠る		
			現→かくさずに示す	かさねる	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 <small>□</small> 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	よりは使わない			
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	(代理・代人など)	
	いずれ	いずれ	何れ		かわる	変わる	変る(うつりかわる, 変化)		
	いちじるしい	著しい	著 <small>□</small> しい		カ月	カ月	箇月		
	いっかねん	一カ年	1箇年, 一ケ年		10カ所	10カ所	10箇所		
	いっそう	一層	いっそう		キ	きしゃく	希釈		
	いったん	一端	いったん		きめる	決める	決る		
	いって	いって	行って		きりあげ	切り上げ	切りあげ		
	いる	いる	居る		きわめて	極めて	きわめて		
	いる	入る	入る		ク	くふう	工夫	くふう	
いれる	入れる	入る		くらい(助詞)	くらい	位			
いわゆる	いわゆる	所謂		くらべる	比べる	比る			
ウ	うしなう	失う			くりかえす	繰り返す	繰返 <small>□</small> す		
	うすい(物)	薄い	薄 <small>□</small> い		くみあわせ	組み合わせ(名詞)			
	うすい(色)	うすい			ケ	けんたく	懸濁	けんたく	
	うすめる	→希釈する			こえる	超える	越える		
	うちに	うちに	内に, 中に		こげる	焦げる	焦る		
	うながす	促す	促 <small>□</small> す		ここ	ここ	此処		
	うる	うる	得る(can or may)		こころみる	試みる	試る		
	うるおす	潤す	一える		こたえ	答え	答(表中)		
			潤 <small>□</small> す		こたえる	こたえる	応える		
					こと	こと	事*		
エ	えがく	描く	画く		こと	こと	毎		
	えらぶ	選ぶ			ことなる	異なる	異なる		
	える	得る	(get)→うる		ことに	殊に			
オ	おいて	おいて	於いて		この	この	此の		
	おおう	覆う	被う						
	おおきい	大きい	大い						
	おおむね	おおむね	概ね						
	おこなう	行う	行 <small>□</small> う						
	おこる	起こる	起る						

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 しゆうまつてん じゆうぶん しょうじる じようりゆう 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 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 じゆうぶん 生ずる 蒸溜 調る	テ	ていする できる	呈する できる	出来る
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	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 ^な う
セ	せん せんじよう	栓 洗淨	せん, セン 洗滌	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
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 其の他 夫々	ニ	にかわじよう 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
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 但し 直に	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
ハ	はやい	速い	
ヒ	ひとしい ひとつ ひとつづつ	等しい 一つ 一つずつ	
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
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
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 俚
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
ム	むしろ むずかしい むすぶ	むしろ 難しい 結ぶ	寧ろ 六ヶ数しい 結すぶ
メ	めづらしい	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

分類	用 語	使 う 字	使わない字 備考
ヨ	よい 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	よい 容易に 様子 ようだ(に) ようやく 一融解 よほど よる より	好い, 良い ようす 様だ(に) 漸く 熔融 余程 依る, 因る 比較するときに用いる. 例: ○○より△△が大きい
ラ	ら	ら	等
リ	りゆうぶん りんぱ	留分 リンパ	溜分 淋巴, りんぱ
ロ	ろう ろうと ろかする	ろう 漏斗 ろ過する	蠟(正名はロウ)
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

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(dec)	d
10^2	ヘクト(hecto)	h	10^{-2}	センチ(centi)	c
10^3	キロ(kilo)	k	10^{-3}	ミリ(milli)	m
10^6	メガ(mega)	M	10^{-6}	マイクロ(micro)	μ
10^9	ギガ(giga)	G	10^{-9}	ナノ(nano)	n
10^{12}	テラ(tera)	T	10^{-12}	ピコ(pico)	p
10^{15}	ペタ(peta)	P	10^{-15}	フェムト(femto)	f
10^{18}	エクサ(exa)	E	10^{-18}	アト(atto)	a

例えば、長さの単位mの 10^3 倍はkm、 10^{-2} 倍はcm、 10^{-3} 倍はmm、 10^{-6} 倍は μ m、 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 μ kg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	$^{\circ}\text{C}$
電位	ボルト	V	平面角	ラジアン	rad
静電容量	ファラド	F	立体角	ステラジアン	sr
照度	ルクス	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	$^{\circ}$

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.	マススペクトル	MS
pK値	pK	筋肉投与	i.m.		

平成12年度図書委員

長尾 拓 宮田直樹 *長谷川隆三 青柳伸男
*日向昌司 江崎勝司 五十嵐良明 *内野正
*村山三徳 佐藤恭子 福原 潔 斎藤嘉朗
*佐井君江 *宮原美知子 *林 讓 関田清司
*簾内桃子 *梅村隆志 増村健一 廣瀬明彦
中本庸司 *四方田千佳子 淵野裕之 *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119号

平成13年12月7日 印刷

平成13年12月14日 発行

発行所 国立医薬品食品医薬品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 野崎印刷紙器株式会社